

KARTOSHKA O‘SIMLIGINI “IN VITRO” LABORATORIYASI SHAROITIDA MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH

Parpiyev G‘afurjon Toxirovich

b.f.d., katta ilmiy xodim

Qishloq xo‘jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazi

ORCID: 0000-0001-9876-5535

Xushvaqto‘v Nurbek Jumayevich

q.x.f.d., katta ilmiy xodim

Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik ilmiy-tadqiqot instituti

ORCID: 0009-0008-2379-898X,

Ibadullayev Husniddin Ibadulla o‘g‘li

kichik ilmiy xodim

Safarov Ilg‘or Berdiyevich

O‘zbekiston-Vengriya kartoshkachilik ilmiy markazi

Annotatsiya. Ushbu maqolada kartoshkaning in vitro o‘simliklarini biotexnologiya laboratoriyasi ekip ko‘paytirish bo‘yicha olib borilgan ilmiy-tadqiqot natijalari keltirilgan. Maqolada kartoshkaning onalik materiallarini tozalash, kulturaga kiritish va ko‘paytirishdan olingan ma‘lumotlar bayon etilgan. Kartoshka tuganaklari 30 minut davomida oqib turgan suvning tagiga qo‘yildi. tuganaklar suvdan olib 96% li spirtida 30 sekund ushlab turildi, keyin tuganaklarni 800 ml suv hamda 200 ml 0,1 foizli natriy gipoxlorid sodasi aralashmasida 5-15 daqiqa magnitli meshalkada aylantirib qo‘yildi. Avtoklavda +1210C haroratda distillangan toza suvda 3-4 marotaba barcha sterilizatsiyalashda ishlatilgan kimyoviy moddalar qoldiqlarini ketkazish uchun yuvib tozalandi.

Kalit so‘zlar: kartoshka, in vitro, o‘simlik, laboratoriya, virus, onalik material, kulturalash, ko‘paytirish.

Аннотация. В данной статье представлены результаты научных исследований, проведенных в лаборатории биотехнологии по выращиванию и размножению растений картофеля in vitro. В статье описаны данные, полученные в ходе экспериментов по очистке, культивированию и размножению маточного материала картофеля. Клубни картофеля помещали под проточную воду на 30 минут. Клубни вынимали из воды и выдерживали в 96% спирте в течение 30 секунд. Затем клубни вращали на магнитной мешалке в течение 5-15 минут в смеси 800 мл воды и 200 мл 0,1% раствора гипохлорита натрия соды. Их промывали в автоклаве при температуре +1210C в дистиллированной чистой воде 3-4 раза для удаления всех остатков химических веществ, используемых при стерилизации.

Ключевые слова: картофель, in vitro, растение, лаборатория, вирус, материнский материал, культивирование, размножение.

Abstract. This article presents the results of scientific research conducted in the biotechnology laboratory on the cultivation and propagation of potato plants in vitro. The data obtained from the experiments on the purification, culture and propagation of potato mother materials are described in the article. Potato tubers were placed under running water for 30 minutes. The tubers were removed from the water and kept in 96% alcohol for 30 seconds. Then the tubers were rotated in a magnetic stirrer for 5-15 minutes in a mixture of 800 ml of water and 200 ml of 0.1% sodium hypochlorite soda. They were washed in an autoclave at a temperature of +121 0C in distilled clean water 3-4 times to remove all residues of chemicals used in sterilization.

Keywords: potato, in vitro, plant, laboratory, virus, maternal material, culturing, propagation.

Kirish. Biotexnologik jarayonlar qadim davrlardanoq insonning kundalik ehtiyojlaridan kelib chiqqan holda, bilib-bilmay ishlatilib kelingan bo‘lsa-da, biotexnologiya fundamental fan sifatida XX asrning ikkinchi yarmidan boshlab shakllanib bordi. Bugungi kunga kelib, biotexnologiya insoniyat oldida turgan eng dolzarb muammolar yechimiga bog‘liq barcha sohalarga yetakchilik qilmoqda.

Zamonaviy biotexnologiya mikrobiologiya, molekular biologiya, genetika, biokimyo, organik, anorganik, analitik kimyo, muhandislik yutuqlari asosida dunyoga kelgan. Shuning uchun ham u ko‘ptarmoqli ilmiy-amaliy yo‘nalish bo‘lib, uning asosini biologiya va muhandislik fanlari tashkil etadi.

Gen va hujayra muhandisligi zamonaviy biotexnologiyaning asosiy yo‘nalishlarini belgilaydi. Biotexnologiya an‘anaviy va zamonaviy biotexnologiyaga bo‘linadi. Zamonaviy biotexnologiya

(biomuhandislik) gen va hujayra muhandisligi usullari orqali genetik transformatsiya (modifikatsiya) qilingan o‘simlik, hayvon va mikroorganizmlardan ishlab chiqarishni jadallashtirish, turli xil maqsadlarga mo‘ljallangan mahsulotlarning yangi turlarini tayyorlash texnologiyalarini yaratish va ulardan foydalanishni o‘rganadi. An‘anaviy biotexnologiya oddiy, notransgen o‘simlik, hayvon va mikroorganizmlardan (tabiiy va seleksion yo‘l bilan olingan) foydalanib, tabiiy va sun‘iy sharoitlarda qishloq xo‘jalik va boshqa xil mahsulotlarni ishlab chiqarish, saqlash va qayta ishlash, ularni tashish usullari va texnologiyalarini o‘rganadi. Zamonaviy biotexnologiyaning yirik yutug‘i genetik transformatsiya, o‘simlik, hayvon va mikroorganizmlarning retsipient hujayralariga begona (tabiiy va sun‘iy yaratilgan) donor genlarni kiritib, yangi yoki kuchaytirilgan belgi va xususiyatlarga ega transgen organizmlar olish bilan bog‘liq. Mazkur yo‘nalish o‘z maqsad, mohiyati va

imkoniyatlariga ko'ra, kelajakdagi strategik yo'nalishlardan biri bo'lib hisoblanadi. Bu esa tashqi muhitning noqulay, stress omillariga chidamli, yuqori mahsuldor va sifatli o'simlik va mikroorganizmlarni yaratish, tabiat va ishlab chiqarishning barcha sohalaridagi ekologik vaziyatini sog'lomlashtirish borasidagi mutlaqo yangi muammolarni ijobiy hal etish imkonini yaratadi. Bunday maqsadlarga erishish ba'zi qiyinchiliklarni hal qilish bilan uzviy bog'liqdir. Bu eng avvalo, genlarni identifikatsiya qilish va klonlash, ularning bankini yaratish, biologik obyektlarning belgi va xususiyatlarini poligen determinatsiyasi mexanizmlarini mukammal o'rganish va genlar ekspressiyasining yuqori darajada chidamliligini ta'minlash kabi muammolarni bartaraf etishni talab etadi. Bugungi kunda dunyoning ko'plab mamlakatlarining ixtisoslashgan laboratoriyalarida mutlaqo yangi xildagi 4 transgen o'simlik, va mikroorganizm turlari yaratilgan va tijorat maqsadlarida qo'llanilib kelinmoqda.

Seleksioner olimlarning qishloq xo'jalik ekinlarini kompleks xususiyatga ega nav va gibridlarini yaratishda faqat an'anaviy seleksion usullarga asoslangan barcha urinishlari ham kutilgan natijalarni bermaydi. Uzoq turlarni gibridizatsiyasiga asoslangan transgressiv seleksiyadan foydalanish esa tashqi muhitning stress omillariga chidamli madaniy o'simliklar olishdagi ayrim muammolarni hal etish imkonini beradi.

O'zbekistonda biotexnologiya o'simliklar seleksiyasining asosiy usullari bilan birga zamonaviy usullar, gen muhandisligi, molekulyar xaritalash, xo'jalik ahamiyati qimmatli genlarni ajratib olish, hujayra va to'qimalar kulturasida kabi sohalar asosida rivojlanmoqda. Biotexnologiyaga oid ilmiy-tadqiqotlarda o'simliklarning urug'murtak va hujayralar kulturasidan foydalanib, in vitro sharoitida yangi serhosil, meva sifati xaridorgir, kasallik va zararkunandalarga nisbatan chidamli, hosildorligi yuqori bolgan nav va duragaylarni yaratish bugungi kunning talabi hisoblanadi.

Kartoshkani in vitro (vegetativ) ko'paytirishda aseptik meristem kulturalaridan foydalanildi.

Ajratib olingan onalik o'simliklarni kurtaklar soni o'lchandi. Sterillangan onalik o'simliklardan kesilgan apikal merislari ajratib olindi.

Dastlabki o'simliklarni ko'paytirish uchun oldindan tayyorlab qo'yilgan MS (Murashige va Skoog) muhitiga o'simliklar ekildi.

Ko'paytirish xonasida havo harorati 22-24°C havoning nisbiy namligi 55-60 % muntazam saqlab qolindi.

Materiallar va uslublar. Tadqiqotlar Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik ilmiy-tadqiqot institutining Biotexnologiya laboratoriyasida hamda O'zbekiston-Vengriya kartoshkachilik ilmiy markazida olib borildi. Tadqiqotlar laboratoriya sharoitida apikal meristema to'qimalar va hujayralarning sun'iy ozuqa muhitida (Probirka va maxsus laboratoriya bonkalar)da o'stirildi.

Laboratoriya sharoitida kartoshkaning mahalliy va xorijiy nav namunalarning o'simliklari in vitro ekib o'rganildi. Eng yuqori ko'rsatkichga ega bo'lgan nav namunalarning in vitro o'simliklari subkulturlanib ko'paytirish xonasiga parvarishlandi va issiqxona sharoitida mikro- va mini-tuganaklar tayyorlandi. Urug'lik kartoshkaning birlamchi boshlang'ich avlod materialini yetishtirish uchun kartoshka o'simligidan biotexnologik amaliyot usulida apikal meristema ajratib olish sog'lom material manbaasi hisoblanadi. Laboratoriya sharoitida kartoshkaning in vitro o'simliklarini yetishtirishda Miedzianka, J.; Peksa, A.; Nem's, A.; Drzymala, K.; Zambrowicz, A.; Kowalczewski, P. larning uslublari asosida olib borildi.

Natijalar va munozara. Ushbu 1-jadvalda "in-vitro" usulining tavsifi keltirilgan bo'lib unda laboratoriyada amalga oshiriladigan tadbirlar nomi keltirilgan.

"In-vitro" ko'chatlarini yetishtirishda birinchi navbatda sog'lom onalik materiallar tanlanadi. Tanlab olingan navning xususiyatlari o'rganilib, shundan so'ng onalik material sifatida undiriladi va keyingi bosqichda subkulturlaniladi.

Laboratoriyada in vitro o'simliklarni yetishtirish jarayoni biotexnologiyaning eng muhim va samarali usullaridan biri bo'lib, o'simliklarning yuqori sifatli urug'liklarini va yangi avlodlarini olishda keng qo'llaniladi.

Apikal meristemadan olingan "in vitro" o'simlik materiallari keyingi bosqichda mikroko'paytirish usullari orqali ko'paytiriladi. Bu usul orqali o'simliklardan zamburug', bakterial va virusli infeksiyalardan xoli bo'lgan urug'lik material olish imkonini beradi.

1-jadval

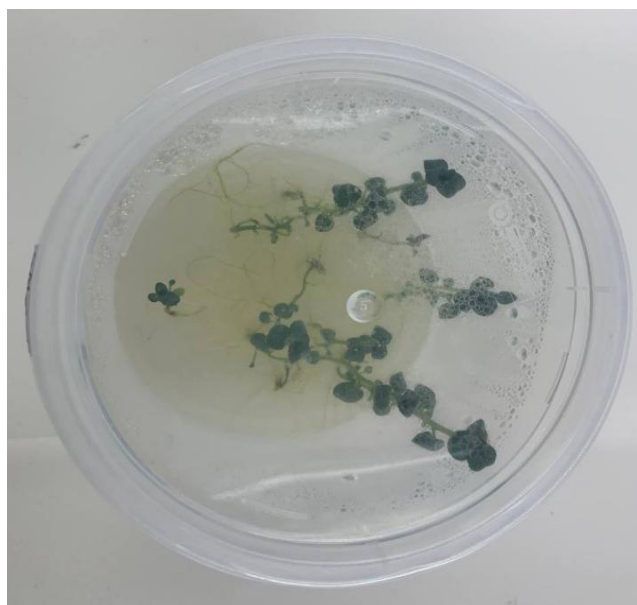
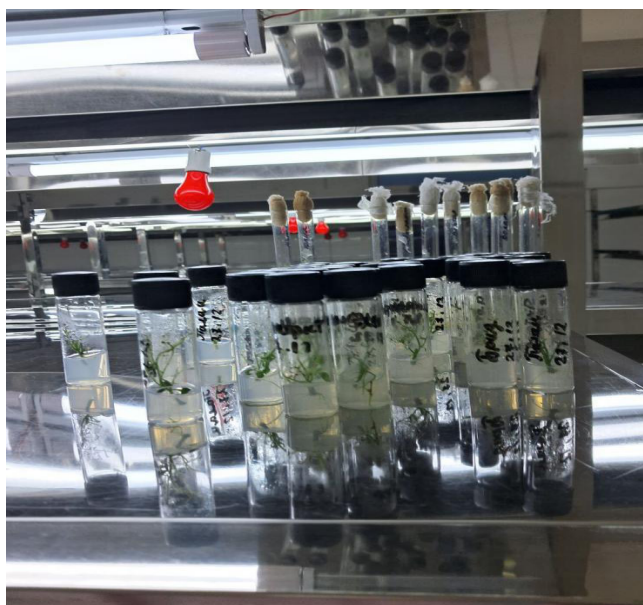
Laboratoriya sharoitida in vitro usulining tavsifi

T/R	Bajarilayotgan tadbir nomi	Mazmuni	Asosiy afzalliklari	Kamchiliklari
1	O'simlik hujayralarini ajratish	Ona o'simlikdan to'qimalar olish	Sog'lom material olish	Texnik talab yuqori
2	Kallus hosil qilish	To'qimalarni ozuqa muhitida ko'paytirish	Ko'payish jarayoni tezlashadi	Infeksiya xavfi bor
3	Organogenez	Barg va ildiz organlarini hosil qilish	To'liq o'simlik yetishtirish	Optimal sharoit zarur
4	Ko'paytirish	O'simliklarni ko'paytirish va saqlash	Yuqori hosildorlik	Xarajat yuqori

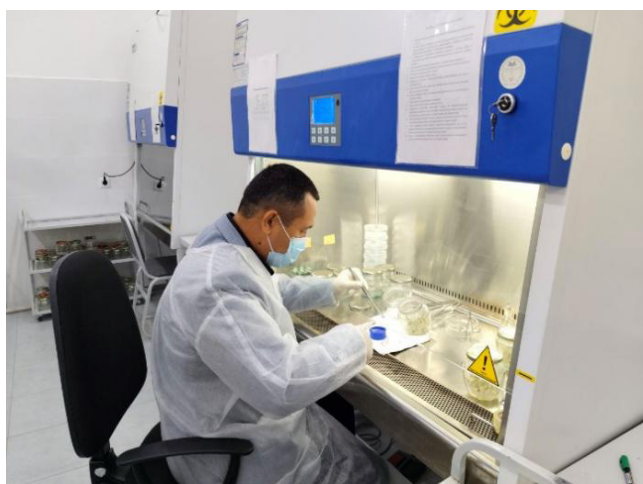
2-jadval

Laboratoriya bosqichlari

T/R	Bosqich	Amalga oshiriladigan ishlar	Foydalaniladigan uskunalar
1	Ona o'simlikdan material olish	Sog'lom ko'zchalari ajratiladi	Steril skalpel, mikroskop
2	To'qimalar hosil qilish	Ajratilgan hujayralarni maxsus muhitga joylash	Avtoklav, Petri idishlari
3	Ko'paytirish muhitida o'stirish	Ozuqa muhitiga vitamin va gormonlar qo'shish	Termostat, lampalar
4	Tayyorlangan o'simliklarni ko'chirib o'tkazish	Ko'chatlarni steril sharoitdan tuproqqa o'tkazish	Steril idishlar, tuproq



1-rasm. Apikal meristema ekilgan ko'chatlarning rivojlanishi



2-rasm. Kartoshkaning in-vitro o'simliklarini kesish jarayoni

Kartoshka o'simliklarini viruslardan xoli bo'lgan urug'liklarini innovatsion texnologiyalar asosida mikroklonal ko'paytirishga bo'lgan ehtiyoj urug'chilik xo'jaliklarida yildan-yilga tobora ortib bormoqda.

Kartoshka tuganaklari 30 minut davomida oqib turgan suvning tagiga qo'yildi. Tuganaklarni suvdan olib 96% li spirtida 30 sekund ushlab turildi. Keyin tuganaklarni 800 ml suv hamda 200 ml 0,1 foizli natriy gipoxlorid sodasi aralashmasida 5-15 daqiqa magnitli mishyalkada aylantirib qo'yildi. Avtoklavda +121°C haroratda distillangan toza suvda 3-4 marotaba barcha sterilizatsiyalashda

ishlatilgan kimyoviy moddalar qoldiqlarini ketkazish uchun yuvib tashlandi.

Murashige va Skoog kartoshka o'simliklari mikroklonal ko'paytirish uchun dastlab sterillashga alohida e'tibor berish kerak. Bizning tadqiqotlarimizda eksplantini sterillash uchun natriy gipoxloridning 0,1% eritmasidan foydalanildi.

Kartoshka o'simliklari natriy gipoxloridning 0,1% eritmasida 15 daqiqa sterillanganida kulturaga kiritilgan kurtaklar 30 dona, zararlangan kurtaklar 28% va yashab qogan kurtaklar 72 foizni tashkil qildi.

3-jadval

Laboratoriya sharoitida kartoshka namunalarni sterillash

Yuza sterillash vositasi va konsentratsiyasi	Sterillash muddati, daqiqa	Kulturaga kiritilgan kurtaklar soni, dona	Zararlangan kurtaklar, %	Yashab qolgan kurtaklar, %
NaOCl – 0,1%	15	30	28	72
	10	30	48	52
	7	30	31	69
	5	30	45	55

Kartoshka o‘simliklaring MS ozuqa muhitida kulturaga kirish natijalari

O‘stiruvchi moddalarning konsentratsiyasi, mg/l		Shoxlangan eksplantlar, %	Kulturaga kirgan eksplantlar soni, dona	Eksplantlar uzunligi, sm	Barglar soni, dona
GA3	KINETIN				
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	0,01	44,7	1,0	1,0	2,50
0,7	0,01	53,4	1,50	1,18	2,75
1,0 (nazorat)	0,01	58,3	1,75	1,85	3,0
1,5	0,01	65,7	2,0	2,28	3,50
2,0	0,01	70,6	2,75	2,43	4,25
3,0	0,01	76,2	3,25	2,65	5,0
3,5	0,01	67,6	2,50	2,30	3,75
3,7	0,01	49,7	1,0	1,73	2,25
4,0	0,01	37,3	0,75	1,20	1,75

O‘simliklari 7 daqiqa sterillanganda kulturaga kiritilgan kurtaklar 30 dona, zararlangan kurtaklar 31% va yashab qogan kurtaklar 69 foizni tashkil qilishi aniqlandi (3-jadval).

In vitro o‘simliklarni yetishtirish bu o‘simlik hujayralarini laboratoriya sharoitida maxsus ozuqa muhitida ko‘paytirish va o‘sishini ta‘minlash usulidir. Bu usul o‘simliklarni genetik jihatdan sog‘lom va yuqori hosil beradigan holatda yetishtirishga yordam beradi.

Biotexnologiya laboratoriyasida kartoshka, qulupnay va shirin kartoshkaning (batat) in-vitro usulida sog‘lom o‘simliklarini yetishtirishda quyidagi bosqichlar amalga oshirildi.

Apikal meristemadan olingan “in vitro” o‘simlik materiallari keyingi bosqichda mikroko‘paytirish usullari orqali ko‘paytiriladi. Bu usul orqali o‘simliklardan zamburug‘, bakterial va virusli infeksiyalardan xoli bo‘lgan urug‘lik material olish imkonini beradi.

O‘simliklariga o‘stiruvchi moddalar GA3 – 3 mg/l va KINETIN – 0,01 mg/l ta‘sirida kurtaklangan eksplantlar 76,2%, kulturaga

kirgan eksplant 3,25 dona, eksplant uzunligi 2,65 sm va barglar soni 5,0 donani tashkil qilib, eng yuqori ko‘rsatkichni tashkil qildi (4-jadval).

O‘simliklarni shoxlantirishda o‘stiruvchi moddalar KINETIN - 0,02 mg/l + GA3 - 1,0 mg/l shoxlar soni 4 donani va shoxlar uzunligi 4,15 sm ni tashkil qilib, nazorat variantiga nisbatan shoxlar soni 3 donaga ko‘p va shoxlar uzunligi 3,15 sm ga uzun ekanligi aniqlandi.

Xulosa va tavsiyalar. Kartoshkaning in vitro o‘simliklarini yetishtirishda laboratoriya kerakli jihozlar bilan ta‘minlangan bo‘lishi lozim. Kartoshkani onalik materiallari 30 minut davomida oqib turgan suvning tagiga qo‘yilib tuganaklarni suvdan olib 96% li spirtida 30 sekund ushlab turiladi. Keyin tuganaklarni 800 ml suv hamda 200 ml 0,1 foizli natriy gipoxlorid sodasi aralashmasida 5-15 daqiqa magnitli meshalkada aylantirib qo‘yiladi. Ushbu tadbirlarni bajarishda laboratoriya xodimlari steril holda bo‘lishlari talab etiladi.

REFERENCES:

1. R.Artikova, S.Muradova. Qishloq xo‘jaligi Biotexnologiyasi. O‘quv qo‘llanmasi. Toshkent. 2009 y.
2. Gutaker, R.M.; Weiß, C.L.; Ellis, D.; Anglin, N.L.; Knapp, S.; Luis Fernández-Alonso, J.; Prat, S.; Burbano, H.A. The Origins and Adaptation of European Potatoes Reconstructed from Historical Genomes. Nat. Ecol. Evol. 2019, 3, 1093–1101.
3. Camire, M.E.; Kubow, S.; Donnelly, D.J. Potatoes and Human Health. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2009, 49, 823–840.
4. Ceci, A.T.; Franceschi, P.; Serni, E.; Perenzoni, D.; Oberhuber, M.; Robatscher, P.; Mattivi, F. Metabolomic Characterization of Pigmented and Non-Pigmented Potato Cultivars Using a Joint and Individual Variation Explained (JIVE). Foods 2022, 11, 1708.
5. Gustavsen, G.W. Sustainability and Potato Consumption. Potato Res. 2021, 64, 571–586.
6. Miedzianka, J.; Pęksa, A.; Nemś, A.; Drzymała, K.; Zambrowicz, A.; Kowalczewski, P. Trypsin Inhibitor, Antioxidant and Antimicrobial Activities as Well as Chemical Composition of Potato Sprouts Originating from Yellow- and Colored-Fleshed Varieties. J. Environ. Sci. Health B 2020, 55, 42–51.