



**MAHALLIY TOK (*VITIS VINIFERA* L.) NAVLARINI *IN VITRO*
SHAROITIDA O‘STIRISH HAMDA SUN‘IY OZUQA MUHITLARINI
MODIFIKATSIYA QILISH**

<https://doi.org/10.70728/qdpi.v08.i01.002>

*Abdullaev A.N., Eshmurzayev J.B.,
Abdullaev S.A., Yusupov X.N., Orifjonova U.A.,
Babadjanova F.I., Ubaydullaeva X.A.*
*O‘zR FA Genomika va bioinformatika markazi,
Qibray, O‘zbekiston*
Email: adhamnomozovich@gmail.com

Annotasiya. *In vitro* usulida ko‘paytirish genetik birxillikni saqlashning eng ishonchli usuli hisoblanadi. Ushbu ishda biz uchta modifikatsiyalangan ozuqa muhitlarining — Murashige va Skoog (MS), —Woody Plant Medium (WPM) va Driver-Kuniyuki Walnut (DKW) ning shoxlar soni va uzunligi bo‘yicha samaradorligini solishtirdik.

Kalit so‘zlar: *Vitis vinifera* L., *In vitro*, MS, WPM, DKW

Abstract. *In vitro* propagation is regarded as the most reliable method for preserving genetic uniformity. In this work, we evaluated the efficiency of three modified culture media — Murashige and Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM), and Driver-Kuniyuki Walnut (DKW) — by comparing their effects on shoot number and shoot length.

Key words: *Vitis vinifera* L., *In vitro*, MS, WPM, DKW

Аннотация. Метод *in vitro* считается наиболее надежным способом сохранения генетической однородности. В данной работе мы оценили эффективность трёх модифицированных питательных сред — **Murashige и Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM)** и **Driver-Kuniyuki Walnut (DKW)** — сравнив их влияние на количество и длину побегов.

Ключевые слова: *Vitis vinifera* L., *In vitro*, MS, WPM, DKW

Kirish. Tok (*Vitis vinifera* L.) o‘simligi butun dunyoda yetishtiriladigan ko‘p yillik o‘simlikdir. Shu bois o‘simliklarni *in vitro* ko‘paytirishga bo‘lgan talab ortmoqda. Tok o‘simligini *in vitro* sharoitida ko‘paytirish optimal ozuqa muhitlarini ishlab chiqishni talab qiladi. MS, Eriksson, Gamborg, Nitsch and Nitsch, Woody Plant Medium (WPM) kabi ozuqa muhitlarida tajribalar olib borilgan, natijada MS ozuqa muhitida kurtaklar o‘shidagi maksimal ko‘rsatkich – 90.0 % kuzatilgan [1]. Boshqa bir tadqiqotda modifikatsiya qilingan MS-1, MS and WPM ozuqa muhitlarida tajribalar olib borilgan. Natijada 1.0 mg l⁻¹ BAP tutgan MS-1 ozuqa muhitida kurtaklar o‘shishi tezligi sezilarli darajada oshgan va olti hafta ichida 4.75 dona yangi o‘shish kurtaklar hosil bo‘lishi kuzatilgan [2]. Bugungi kunda tokning yangi navlarini yaratish uchun genomika soxasida say-harakatlar amalga oshirilmoqda, xozirda genetik xilma-xillik, populyatsiya tuzilishi, fenotipik baholash kabi usullar bilan cheklanib qolmoqda.

Materiallar va usullar.

O‘simlik materiallari va sterilizatsiya. Eksplantlar dala tajriba maydonida yetishtirilgan tokning Oqdum-kishmish, Rizamat, Toyfi va Sug‘duyona kishmish navlarining terminal va lateral kurtaklarining meristema to‘qimalaridan ajratib olindi. Eksplantlar 1 minut davomida fungitsid (fundazol 0.02 %) eritmasida va 10 minut davomida oqar suvda saqlandi. Eksplant to‘qimalarini dezinfeksiya qilish uchun antibiotiklar bilan ishlov berildi. Tajriba navi meristema eksplantlari regeneratsiyasi va mikronovdalar hosil qilishi va rivojlanishi (rizogenez) uchun tanlab olingan har bir tajriba variantlari uchun sirt yuza sterilizatsiyasi bosqichidan omon qolgan eksplantlardan 50 tadan tanlab olindi.

Avtoklavlash. Asbob va uskunarlar 120 °C haroratda 15 daqiqa davomida yuqori bosim ostida nam bug‘ bilan ishlov berildi. Hamda Ozuqa muxitlari 1 litr xajmli kolbalarga taqsimlanib, 0.7 – 0.8 atmosfera bosim ostida 115 – 120 °C haroratda 20 – 30 minut davomida avtoklavlash amalga oshirildi.

Ozuqa muhitlarga ekilgan eksplantlar sharoiti. Modifikatsiya qilingan MS, WPM va DKW ozuqa muhitlariga ekilgan eksplantlar maxsus sharoit yaratilgan xonalarga qo‘yildi. Hona harorati 23 ± 1 °C ga teng bo‘lishi lozim, yorug‘lik 4500 ± 500 lx. bo‘lishi kerak. Bunda (16/8 yorug‘/qorong‘u) bo‘lishi talab qilinadi. Yorug‘lik va harorati mo‘tadil xonaning namlikgi 50 – 55 % ga teng bo‘lishi eksplantlarning normal sharoitda o‘shishini taminlaydi.

1-Jadval.

Kimyoviy tarkiblar va kultura muhitini tayyorlash uchun qurol reagentlar konsentratsiyasi

Komponentlar	MS1 (A1)	MS2 (A2)	WPM1 (B1)	WPM2 (B2)	DKW1 (C1)	DKW2 (C2)
	Doza mg l ⁻¹					

KNO ₃	1900	1900	-	-	-	-
K ₂ SO ₄	-	-	990	990	1559.00	1559.00
NH ₄ NO ₃	1650	1650	400	400	1416.00	1416.00
Ca(NO ₃) ₂	386	386	386	386	1367.47	1367.47
MgSO ₄	370	370	-	-	361.38	361.38
CaCl ₂ ·2H ₂ O	331	331	72.5	72.5	149.00	149.00
KH ₂ PO ₄	170	170	170	170	265.00	265.00
MnSO ₄ ·5H ₂ O	24.1	24.1	180.7	180.7	33.50	33.50
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	8.6	8.6	8.6	-	-
H ₃ BO ₃	6.2	6.2	6.2	6.2	4.80	4.80
Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	-	17.00	17.00
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	27.8	27.85	27.85	33.80	33.80
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37.3	37.3	37.3	37.3	45.40	45.40
KJ	0.83	0.83	-	-	-	-
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25	0.25	0.25	0.39	0.39
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025	-	-	-	-
Myo-inositol	-	-	100	100	100	100
Meso-inositol	75.0	75.0	-	-	-	-
Thiamine·HCl	-	-	1	1	2.00	2.00
Nicotinic acid	-	-	0.5	0.5	1.00	1.00
Pyridoxine·HCl	5.0	5.0	0.5	0.5	-	-
Glycine	10	10	2	2	2.00	2.00
Glutamine	50.0	50.0	-	-	-	-
Sucrose	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Agar-agar	700	700	700	700	700	700
6-Benzylaminopurine	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Kinetin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Meta-topolin	-	0.5	-	0.5	-	0.5

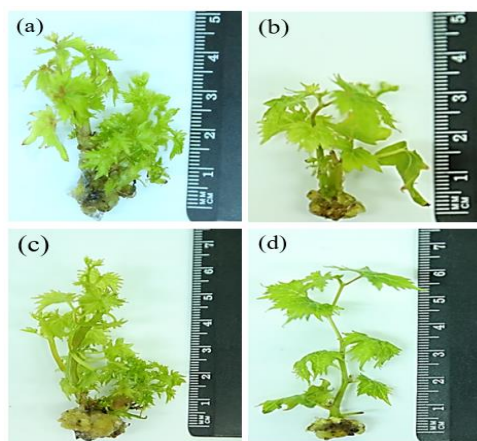
Tadqiqotimizda quyda keltirilgan MS, WPM va DKW sun'iy ozuqa muhitlaridan foydalanib, ularni modifikatsiya qilib, tok apekal meristema qismini ildizlatish, shoxlatish va ko'paytirishda qo'llanildi.

Statistik tahlil. Tajribalarda statistik tahlil ma'lumotlari ANOVA dasturi yordamida T-test kriteriyasi bo'yicha amalga oshirildi.

Natijalar va Muhokamalar

Tatqiqotimizda uch xil ozuqa muhitidan foydalanildi va o‘sinh regulyatorlari yordamida to‘rtta tok navlarining shohlanish soni va uzunligi o‘zaro solishtirildi (1-jadval). Alireza va boshqalar tadqiqotida MS ozuqa muhitida tokning viruslardan holi bo‘lgan meristemalari o‘stirilgan. Natijada 2.0 mg l⁻¹ BAP tutgan MS ozuqa muhitida tokning shohlanishi 20-25 mm ga uzaygani kuzatilgan[3]. Yana bir boshqa ishda, tokni *in vitro* ko‘paytirishda BAP o‘sinh regulyatori tutgan MS ozuqa muhitida kurtaklar soni ko‘paygani kuzatilgan. [4]. Xuddi shunday boshqa ishda ozuqa muhitining yangi konsentratsiyasi ishlab chiqilgan. Natijada tarkibida 4.4 mg l⁻¹ BAP va 0.1 mg l⁻¹ NAA tutgan IM ozuqa muhitida o‘stirilgan Riesling navining ildiz xosil bo‘lishida eng yuqori ko‘rsatkich 133 ± 1.6 mm ekanligi kuzatilgan [5]. Tarkibida 1.0 mg l⁻¹ BAP, 0.5 mg l⁻¹ Kin va 0.5 mg l⁻¹ mT tutgan MS ozuqa muhitida tajriba eksplantlarining barchasida kurtaklar hosil bo‘lishi kuzatildi va bu ozuqa muhiti optimal variant sifatida tanlab olindi (1-rasm). Xuddi shunga o‘hshash ishda, sterillangan eksplantlarni 0.5, 1.0 va 2.0 mg l⁻¹ BAP va 0.1 mg l⁻¹ naftalin sirka kislotasi (NAA) bilan boyitilgan MS ozuqa muhitida o‘stirilganda, 2.0 mg l⁻¹ BAP and 0.1 mg l⁻¹ NAA tutgan MS ozuqa muhitida kurtaklar uzunligi sezilarli darajada oshgan va optimal konsentratsiya ekanligi kuzatilgan [6].

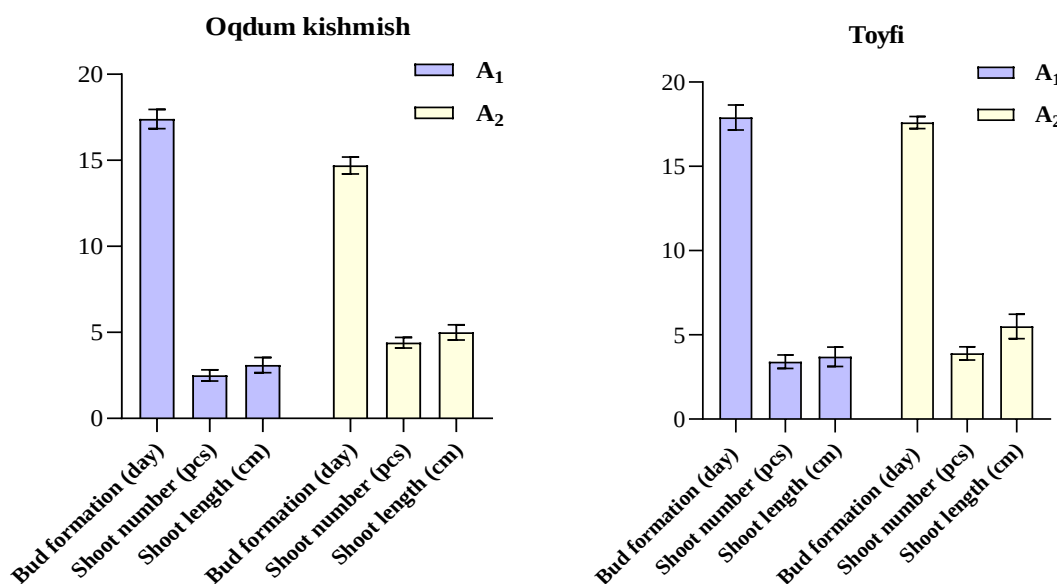
Nosteril sharoitdan olib kelingan eksplantlarni *in vitro* usuli orqali ko‘paytirishda, 2.0 mg l⁻¹ BAP va 1.0 mg l⁻¹ NAA tutgan MS ozuqa muhitida eksplantlarning o‘shishi ikki barobarga ortgani kuzatilgan. Natijada yiliga 85 000 dan 119 000 gacha bo‘lgan o‘simliklarni ko‘paytirish protokol ishlab chiqilgan [7]. Xuddi shunday boshqa bir tadqiqotda nosteril dala sharoitida yetishtirilgan tokning virusdan xoli meristemalari olingan va *in vitro* sharoitida o‘simliklarni o‘stirish va ko‘paytirish metodikasi ishlab chiqilgan [8]. Yana bir tadqiqotda, tok eksplantlari *in vitro* sharoitda BAP, Kin, glitsin, va gibberel kislotasi (GA₃) tutgan MS ozuqa muhitida o‘stirilgan. Buning natijasida maksimal kurtaklar uzunligi 2.75 sm, kurtaklar soni 5.33 tani tashkil qilgan [9]. Mhatre va boshqalar tadqiqotida uchta tok navi *in vitro* sharoitida ko‘paytirilgan. Kurtak eksplantlari BAP, NAA va IBA tutgan MS ozuqa muhitida o‘stirilgan. Natijada ikki va uch hafta oralig‘ida bir necha kurtaklar paydo bo‘lishi kuzatilgan [10]. Hakan va boshqalar tadqiqotida bir qancha ozuqa muhitlari va o‘sinh regulyatorlari tadqiq qilingan. Kurtaklash uchun eng yaxshi natija 1 mg l⁻¹ BAP tutgan ozuqa muhitida kuzatilgan[11]. Bizning tadqiqotimizda o‘sinh regulyatorlari va ozuqa muhiti optimalashtirildi. Tarkibida mT tutgan (MS₂) and tutmagan (MS₁) ozuqa muhitlarida Oqdum kishmish va Rizamat navlarining kurtaklari soni solishtirildi. MS₁ ozuqa muhitida (b va d) o‘sgan eksplantlarda 5, 6 sondagi kurtaklar paydo bo‘lishi kuzatilgan bo‘lsa, MS₂ ozuqa muhitida (a va c) o‘stirilgan namunalardagi eksplantlarda o‘rtacha kurtaklar soni 8, 10 donaga ko‘paygani kuzatildi (1-rasm).

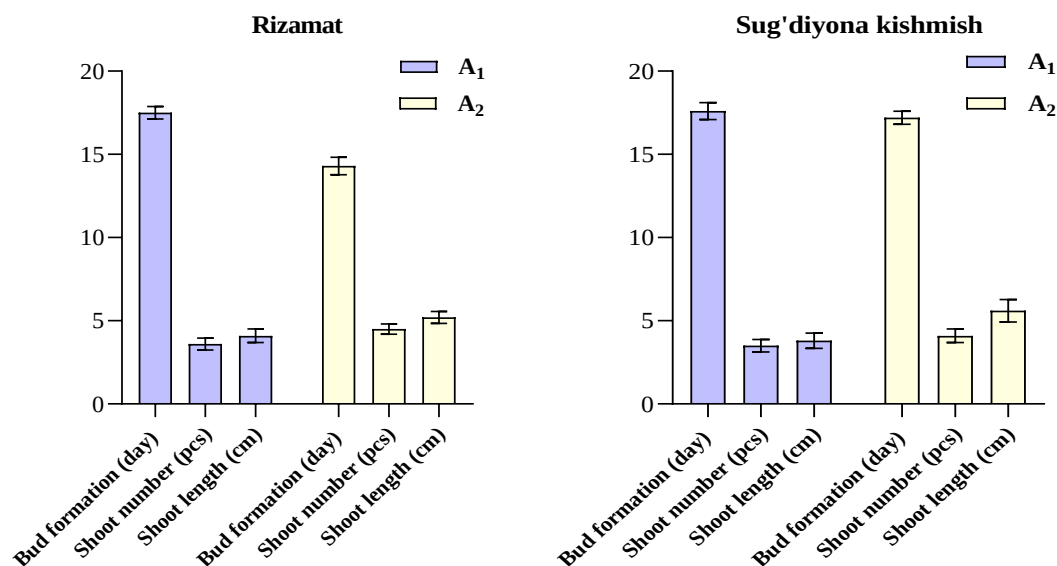


1-rasm. Rizamat va Oqdum kishmish navlarining eksplantlarini MS muhitida shoxlatish va o‘stirish.

a – MS₂ muhitida yetishtirilgan Rizamat eksplantlari – 1,0 mg L⁻¹ BAP, 0,5 mg L⁻¹ Kin va 0,5 mg L⁻¹ mT; **b** – MS₁ muhitida yetishtirilgan Rizamat eksplantlari – 1,0 mg L⁻¹ BAP va 0,5 mg L⁻¹ Kin; **c** – MS₂ da yetishtirilgan Oqdum kishmish eksplantlari – 1,0 mg L⁻¹ BAP, 0,5 mg L⁻¹ Kin va 0,5 mg L⁻¹ mT; **d** – MS₁ da yetishtirilgan Oqdum kishmish eksplantlari – 1,0 mg L⁻¹ BAP va 0,5 mg L⁻¹ Kin.

Bizning ishda *mT* tutmagan MS₁, WPM₁ and DKW₁ ozuqa muhitlari *mT* tutgan MS₂, WPM₂ va DKW₂ ozuqalar bilan o‘zaro solishtirildi. MS₂, WPM₂ va DKW₂ ozuqa muhitlarida shohlanish uzunligi va shohlar soni sezilarli darajada ortgani kuzatildi.





2-rasm MS ozuqa muhitlarida turli tok navlarining kurtak shakllanishi, kurtaklar soni va eksplantlarining uzunligi.

A₁ 1,0 mg L⁻¹ BAP va 0,5 mg L⁻¹ Kin qo‘shilgan MS₁ ozuqaviy muhitlariga tegishli.

A₂ 1,0 mg L⁻¹ BAP, 0,5 mg L⁻¹ Kin va 0,5 mg L⁻¹ mT qo‘shilgan MS₂ ozuqaviy muhitlariga tegishli.

MS₁ va MS₂ kultivatsiya muhitlarining kimyoviy tarkibi 1-jadvalda keltirilgan.

MS₁ (A₁) muhitiga solishtirilganda, MS₂ (A₂) ozuqa muhitida Oqdum kishmish va Rizamat navlarining shohlanish kunida qisqarish kuzatildi. Toyfi va Sug‘diyona kishmish navlarining shohlanish kunida esa sezilarli farq aniqlanmadi. Oqdum kishmish va Rizamat navlarining shohlanish soni va uzunligida ham, A₁ ga nisbatan A₂ namunada sezilarli farq kuzatildi. O‘xshash tarzda, Toyfi va Sug‘diyona kishmish navlarining kurtaklar sonida ham A₁ va A₂ namunalarda sezilarli farq kuzatilmadi. Farq faqatgina shohlanish uzunligidagina namoyon bo‘ldi (2-rasm). To‘rtta nav ichida Oqdum kishmish eng yaxshi ko‘rsatgichni namoyon qildi. Kurtaklar soni o‘rtacha 8-9 donani tashkil qildi va uzunligi 5-6 sm ga ortgani namoyon bo‘ldi (2-rasm). Tadqiqot natijalaridan ko‘rinadiki o‘simliklarni suniy ozuqa muhitlarida o‘stirish doim normal o‘sishini taminlay olmaydi, bu o‘simliklarning genotipiga bog‘liqdir.

Hujayra va to‘qimalar kulturasi sohasida erishilgan yutuqlar asosida o‘simliklarni vegetativ ko‘paytirishning usullaridan biri – *in vitro* sharoitida o‘simliklarni jinssiz ko‘payishi dastlabki nusxasi bilan genetik bir xil ko‘chatlar yetishtirish imkonini yaratadi. *In vitro* usuli bilan o‘simlik hujayrasidan maksimal foydalanish asosida ularning o‘zigagina xos bo‘lgan totipotentlik xususiyati yotadi, ya‘ni ekzogen omillar ta‘sirida o‘simlik organizmi paydo bo‘ladi. O‘simliklarni ko‘paytirishda bu usuldan foydalanishning bir qator afzalliklari mavjud: genetik bir xil materiallar olish, meristema kulturasidan foydalanish orqali o‘simliklarni virusdan holi qilish, ko‘paytirishning yuqori koeffitsenti (10⁵-10⁶ – o‘tli, gulli o‘simliklar uchun, 10⁴-10⁵ – butasimon daraxtlar uchun) [12a]. O‘simliklarni

o‘stirish fazalarining tezlashishi, butun yil mobaynida ish olib borish imkoniyati, ekish materiallari o‘stirish uchun maydonlarning tejamliligi va o‘stirish jarayonini avtomatlashtirish imkoniyati, ozuqa muhitlari tarkibida mavjud o‘sinh regulyatorlarning iqtisodiy samaradorligi va boshqalar [13b].

Xulosa. Ushbu ishda biz BAP, Kin va *mT* 1,0: 0,5: 0,5 mg L⁻¹ dozalari *Vitis vinifera* L. ning to‘rtta navining kurtaklari soni va uzunligini sezilarli darajada oshirganligini aniqladik. Biz o‘sinh regulyatorlari yordamida kurtaklar sonini va uzunligini oshirishga erishdik.

FOYDALANILGAN ADABIOTLAR.

1. Nookaraju A., Barreto S.M., Agrawal D.C. 2008. Rapid *in vitro* propagation of grapevine cv. Crimson Seedless-Influence of basal media and plant growth regulators. *Journal of Applied Horticulture* 10(1): 44–49.
2. Mukherjee P., Husain N., Misra S.C., Rao V.S. 2010. *In vitro* propagation of a grape rootstock, deGrasset (*Vitis champinii* Planch.): Effects of medium compositions and plant growth regulators, *Scientia Horticulturae* 13(19): 0304–4238.
3. Alireza S., Ali E., Zabihalah Z., Maryam G. 2005. Improvement in Apex Culture in an Iranian Grapevine (*Vitis vinifera* L. Bidaneh Sefid) through Fragmented Shoot Apices. *International Journal of Agriculture & Biology* 7(3): 333–336.
4. Tehrim S, Mirza MY, Sajid GM (2013). Comparative study of different growth regulators for efficient plant regeneration in grapes. *Pakistan J Agri Res* 26(4): 275–289.
5. Yerbolova LS, Ryabushkina NA, Oleichenko SN, Kampitova GA, Galiakparov N (2013). The Effect of Growth Regulators on *in vitro* Culture of Some (*Vitis vinifera* L.) Cultivars. *World Appl Sci J* 23(1): 76–80.
6. Abido AIA, Aly MAM, Hassanen SA, Rayan GA (2013). *In vitro* Propagation of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Muscat of Alexandria cv. for Conservation of Endangerment. *Middle East J Sci Res* 13(3): 328–337.
7. Singh SK, Khawale RN, Singh SP (2004). Technique for rapid *in vitro* multiplication of (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *J. Hortic Sci Biotechnol* 79: 267–272.
8. Lazo-Javalera MF, Troncoso-Rojas R, Tiznado-Hernández ME, Martínez-Tellez MA, Vargas-Arispuro I, Islas-Osuna MA, Rivera-Domínguez M (2016). Surface disinfection procedure and *in vitro* regeneration of grapevine (*Vitis vinifera* L.) axillary buds. *SpringerPlus* (5): 453.
9. Khan N, Ahmed M, Hafiz I, Abbasi N, Ejaz S, Anjum M (2015). Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *OENO One* 49(1): 37–45.
10. Mhatre M, Salunkhe CK, Rao PS (2000). Micropropagation of (*Vitis vinifera* L.) towards an improved protocol. *Sci Hortic* 84: 357–363.

11. Khan N, Ahmed M, Hafiz I, Abbasi N, Ejaz S, Anjum M (2015). Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *OENO One* 49(1): 37–45.

12. Ubaydullaeva KhA, Bolkiev AA, Abdullaev AN, Darmanov MM, Asrorov AM, Abdullaev SA, Eshmurzaev JB, Babadjanova FI, Buriev ZT (2023, a). Optimization of Development of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Varieties from Microclonal Propagation. *Asian J Plant Sci* 22: 344–356.

13. Ubaydullaeva KhA, Abdullaev AN, Bolkiev AA, Darmanov MM, Asrorov AM, Abdullaev SA, Eshmurzaev JB, Babadjanova FI, Buriev ZT (2023, b). Complex of Glycyrrhizic and Salicylic Acids: A New Root Length Growing Means for Grapes to Grow from the Apical Meristem. *Asian J Plant Sci* 22: 260–268.