«ФИТОГОРМОНЛАР КОМБИНАЦИЯСИ (6-BENZYLAMINOPURINE, GIBBERELLIC ACID, INDOLE-3-BUTYRIC ACID, A-NAPHTHALENEACETIC ACID) ТАЪСИРИДА ДОРИВОР АНОР (*PUNICA GRANATUM L.*) МИКРОКЎЧАТЛАРИНИНГ ШОХЛАНИШИ ВА РИЗОГЕНЕЗ ЖАРАЁНЛАРИНИ ОПТИМАЛЛАШТИРИШ ҲАМДА АПИКАЛ ВА ЛАТЕРАЛ КУРТАКЛАР АСОСИДА IN VITRO МИКРОКЛОНЛИ КЎПАЙТИРИШ ТЕХНОЛОГИЯСИНИ РИВОЖЛАНТИРИШ»

Ахмедов Бехзод Хабибулла ўғли

Самарқанд давлат тиббиёт университети

Аннотация. Ушбу тадқиқот доривор анор (*Punica granatum L.*) навларини **in vitro** шароитида микроклонли кўпайтириш технологиясини такомиллаштиришга қаратилган. Тадқиқотда апикал ва латерал куртаклар эксплант сифатида танланиб, Murashige & Skoog (MS) ва Woody Plant Medium (WPM) сунъий озуқа муҳитларида стандарт культура шароитида ўстирилди. Озуқа муҳитлари таркибига турли концентрациядаги фитогормонлар (BAP, GA_3, IBA ва NAA) қўшилиб, уларнинг микроновдалар ҳосил бўлиши, шохланиш ва ризогенез жараёнларига таъсири баҳоланди. Натижаларга кўра, BAP (1,0 мг/л) ва GA_3 (0,5 мг/л) комбинацияси шохланишни жадаллаштириб, микроновдалар сони ва узунлигини оширди. Илдиз ҳосил бўлишида MS муҳитида IBA (1,0 мг/л) ва NAA (0,1 мг/л) энг юқори самарадорликни кўрсатди. Навлар орасида морфогенетик жавоб фарқлари аниқланиб, бу ҳолат генотип хусусиятлари билан боғлиқ эканлиги қайд этилди. Олинган натижалар доривор анорни тез ва сифатли кўпайтириш учун илмий ва амалий аҳамиятга эга.

Калит сўзлар: ин vitro микроклонал кўпайтириш, доривор анор, Пуниса гранатум Л, фитогормонлар комбинацияси, 6-бензиламинопурин (БАП), гиббереллис кислота ($ГА_3$), indol-3-бутирик кислота (ИБА), α-нафталинуксус кислота (НАА), микрокўчатлар, шохланиш жараёни, ризогенез

Аннотация. Данное исследование направлено на совершенствование технологии микроклонального размножения лекарственного граната (*Punica granatum L.*) в условиях **in vitro**. В качестве эксплантов использовали апикальные и латеральные почки, которые культивировали на питательных средах Murashige & Skoog (MS) и Woody Plant Medium (WPM) при стандартных условиях выращивания. В состав питательных сред вводили различные концентрации фитогормонов (BAP, GA_3, IBA и NAA) с целью оценки их влияния на процессы побегообразования, ветвления и ризогенеза. Установлено, что комбинация BAP (1,0 мг/л) и GA_3 (0,5 мг/л) значительно усиливает формирование микропобегов, увеличивая их количество и длину. Наиболее эффективное корнеобразование отмечено на среде MS с добавлением IBA (1,0 мг/л) и NAA (0,1 мг/л). Выявлены сортоспецифические различия морфогенетического ответа, обусловленные генотипическими

ISSN 3030-3907

особенностями. Полученные результаты имеют важное значение для биотехнологического размножения и сохранения ценных лекарственных сортов граната.

Ключевые слова: микроклональное размножение in vitro, гранат лекарственный, Punica granatum L, комбинация фитогормонов, 6-бензиламинопурин (BAP), гиббереллиновая кислота (GA_3), индол-3-масляная кислота (IBA), α-нафталиноксусная кислота (NAA), микросхемы, процесс ветвления, ризогенез

Abstract. This study aimed to improve the **in vitro** microclonal propagation technology of medicinal pomegranate (*Punica granatum L.*). Apical and lateral buds were used as explants and cultured on Murashige & Skoog (MS) and Woody Plant Medium (WPM) under standard growth conditions. Different concentrations of plant growth regulators (BAP, GA_3, IBA, and NAA) were applied to evaluate their effects on shoot induction, branching, and rhizogenesis. The results demonstrated that the combination of BAP (1.0 mg/L) and GA_3 (0.5 mg/L) significantly enhanced shoot proliferation by increasing the number and length of microshoots. The highest rooting efficiency was observed on MS medium supplemented with IBA (1.0 mg/L) and NAA (0.1 mg/L). Genotype-dependent differences in morphogenetic response were identified among the studied cultivars. The obtained results are of scientific and practical importance for the rapid propagation and conservation of valuable medicinal pomegranate genotypes.

Keywords: in vitro microclonal augmentation, medicinal pomegranate, Punica granatum L, phytohormone combination, 6-benzylaminopurine (BAP), gibberellic acid (GA_3), indole-3-butyric acid (IBA), α-naphthalinoxus acid (NAA), microcircuits, branching process, rhizogenesis

Кириш.

Тадқиқотда доривор анор ўсимлигини *in vitro* шароитида микроклонли купайтириш учун ўсимликнинг апикал ва латерал куртаклари танлаб олинди. Ўсимлик эксплантларини 500 млли шиша идишларга 50±5 мл дан тақсимланган МС озуқа мухитига жойлаштирилди ва культура стандарт шароитда (+20...+25°C харорат, сутка давомида 16 соатлик ёритилиш ва 8 соат коронгу шароитда 6 хафта давомида) инкубацияга кўйилди. Озуқали мухит таркибига BAP нинг киритилиши апикал ва латерал куртакларда микроновдалар хосил бўлишини тезлаштирди. Озуқа мухати таркибига BAP 1.0 мг/л микдорда хамда GA3 0.5 мг/л микдорда киритилганда барча навларда 2-6 та куртакка эга булган новдаларнинг пайдо бўлиши кузатилди. Ўтказилган тажрибаларда хар иккала озуқа мухити (МС ва WPM) га BAP ва GA3 дан қўшилганда куртак ва поянинг ривожланишида ижобий кўрсаткичлар кузатилди. GA3 микдорининг ортиши эксплантларда бўғим оралиғи нисбатан кенг бўлган микроновдаларни ривожланишини тезлаштирди. Илдиз ҳосил бўлиши (ризогенез) жараёнида MS озуқа

ISSN 3030-3907

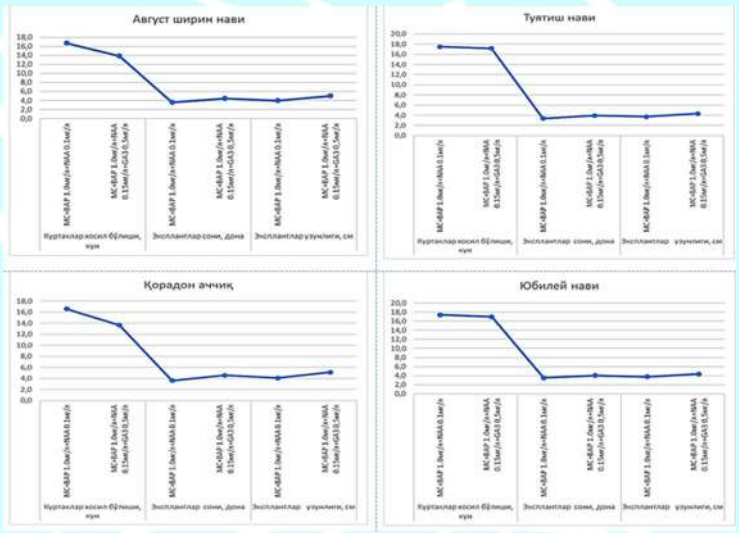
муҳитида 1,0 мг/л IBA ва 0,1 мг/л NAA комбинацияси энг самарали деб топилди. Ушбу вариантда барча навларда илдиз ҳосил бўлиши 100% ни ташкил этди, илдизлар сони ва узунлиги юқори кўрсаткичларга эришди. WPM муҳитида ҳам ризогенез кузатилган бўлса-да, морфологик ва статистик жиҳатдан MS муҳити устун эканлиги аниқланди. Умуман олганда, анорни in vitro шароитида микроклонли кўпайтириш самарадорлиги озуқа муҳити таркиби, фитогормонлар тури ва концентрацияси ҳамда нав генотипига бевосита боғлиқ эканлиги исботланди. Олинган натижалар доривор анор навларини тез ва сифатли кўпайтириш, соф генотипли кўчатлар олиш ва амалиётга жорий этиш учун муҳим илмий ва амалий аҳамиятга эга.

ТАДКИКОТ ОБЪЕКТИ ВА ПРЕДМЕТИ. Геномика ва биоинформатика маркази ҳузуридаги Трансгеномика ва тўқималар культураси лабораториясининг дала тажриба майдонида парвариш қилинаётган анорнинг маҳаллий навлари (Қозоқи, Туятиш, Қайин анори ва Дашнабод) танлаб олинди. **In vitro** шароитида етиштириш жараёнларини ўз ичига олиб, унда маҳаллий анор генотипларига мос сунъий озуқа муҳитлари таркибини аниқлаш, эксплантларнинг регенерация (пролиферация) қобилиятини баҳолаш ҳамда ҳосил бўлган микроновдаларда илдиз ҳосил бўлиши ва ривожланишини (ризогенез) таъминлайдиган ўсишни бошқарувчи моддалар (фиторегуляторлар)нинг тури ва оптимал концентрацияларини ишлаб чиқишга қаратилди.

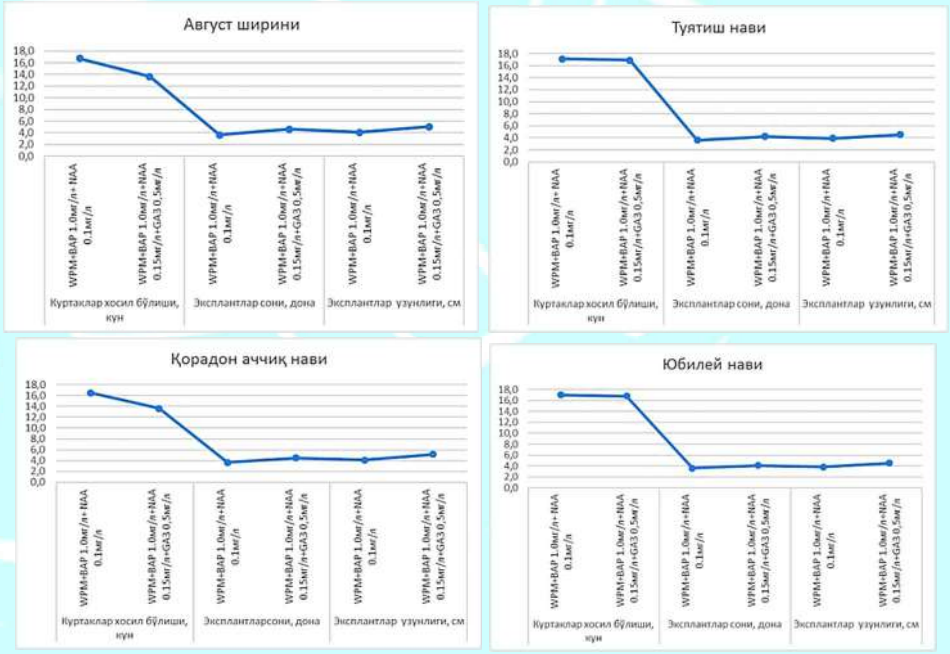
ТАДҚИҚОТ НАТИЖАЛАРИ ВА МУҲОКАМАСИ.

Тажрибамизнинг 1-вариант биринчи токрори МС сунъий озуқа муҳитида ўстирувчи моддалар – 1.0 мг/л (BAP) ва 0.1 мг/л (NAA) таъсирида тажриба навлари эксплантлариниг барчасида микроновдалар хосил бўлиши нисбатан суст эканлиги кузатилди. Тажрибанинг иккинчи такрори МС озуқа муҳити таркибига 1.0 мг/л (BAP) ва 0.1 мг/л (NAA) ва 0,5 мг/л (GA3) нинг киритилиши тажриба навларининг барчасида новдалар хосил бўлиш куни, сони ва узунлиги биринчи вариантга нисбатан мос равишда 2-3 кунга қисқариши, микроновдаларнинг 2-3 тага кўплиги ва 1-2.5 см га узунлиги билан фарқ қилди. Август ширини ва Қорадон аччиқ навларида шохланиш жараёни Туятиш ва Юбилей навларига нисбатан куннинг қисқалиги (2.0-4.0), куртаклар сонининг нисбатан кўплиги (2.0-2.5), ва эксплант узунлиги (1.5-2.0 см) га фарқ қилди (1- Расм).

ISSN 3030-3907



1-Расм. МС озуқа мухитида тажриба навлари эксплантларининг фиторегуляторлар таьсирида ривожланиши. * t-Test: (P<0,001).

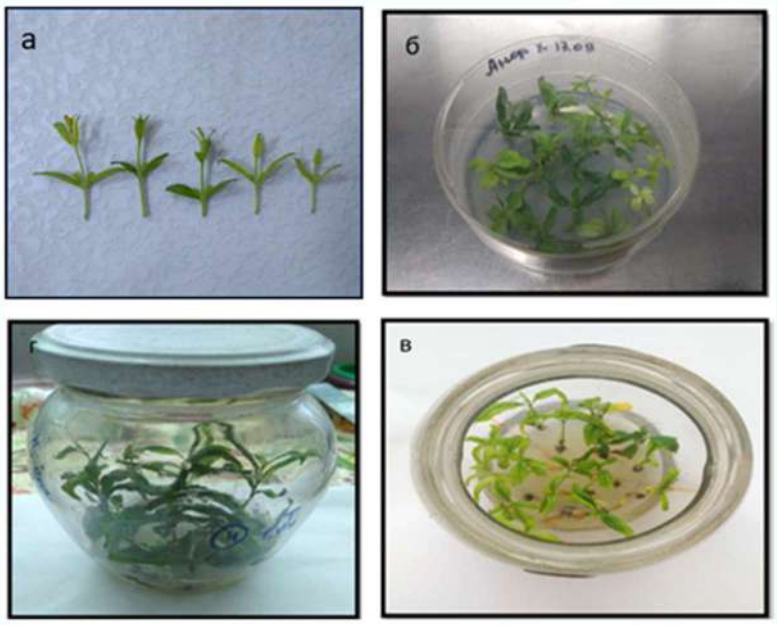


2-Расм. WPM озуқа мухитида тажриба навлари эксплантларининг фиторегуляторлар таьсирида ривожланиши. * t-Test: (P<0,001).).

Тажрибамизнинг 2-вариант биринчи такрори WPM озуқа муҳити таркибига 1.0 мг/л (BAP) ва 0.1 мг/л (NAA) киритилиши натижасида эксплантларда микроновдалар хосил бўлиши, худди шундай таркиб ва концентрациядаги ўстирувчи моддалар киритилган МС озуқа муҳитида эксплантларга нисбатан Август ширини ва Қорадон аччиқ навларида юқори, Туятиш ва Юбилей навларида эса пастроқ эканлиги кузатилди. Аммо иккинчи токрор 1.0 мг/л (BAP) ва 0.1 мг/л (NAA) ва 0,5 мг/л (GA3) таъсирида, Август ширини ва Қорадон аччиқ навларида куртак хосил бўлиши бир кунга олдинроқ, эксплантлар сони 1.0-2.0 тага кўп ва узунлиги 1.0-1.5 см гача юқори эканлиги кузатилди (2-Расм).

ISSN 3030-3907

Туятиш ва Юбилей навлари WPM сунъий озуқа муҳитида ривожланиши суст эканлиги тажриба учун танлаб олинган ўстирувчи модда (цитокинин) ни ўзгартириш ёки озуқа таркибига қўшимчалар киритишни талаб қилади.



3-Расм. Тажриба навлари шохлатиш жараёнига цитокининлар (BAP, NAA ва GA3) таъсири. а) апикал ва латерал куртаклар б) микроўсимликларни янги озуқага кўчириб ўтказиш в,г) микроўсимликларни шохлатиб кўпайтириш

Олиб борилган кузатишларимиз натижасида озуқа таркибида цитокинин концентрациясининг ортиши ва камайиши микроўсимликларнинг шохланиш вақти оралиғининг қисқаришига, новдачаларнинг сон жихатдан миқдорининг ва узунлигининг ортишига салбий таъсир кўрсатади. Шунинг учун олиб борилган тадқиқотларда цитокининлар тури, миқдор ва концентрациясини тоғри танлаб олиш энг мухим кўрсаткич эканлиги исботланди (3-Расм).

Тадқиқот оъбекти сифатида танлаб олинган анорнинг Август ширини, Қорадон аччиқ, Туятиш ва Юбилей навлариниг хар биридан 30 тадан эксплант олиниб, MS ва WPM сунъий озуқалари таркибига илдиз ривожланиш (ризогенез) кўрсаткичларини текшириш мақсадида ўстишни бошқарувчи моддаларнинг (0.5-1.0 мг/л IBA, 0.1 мг/л NAA) турли концентрацияси қўшилиб тажрибалар ўтказилди.

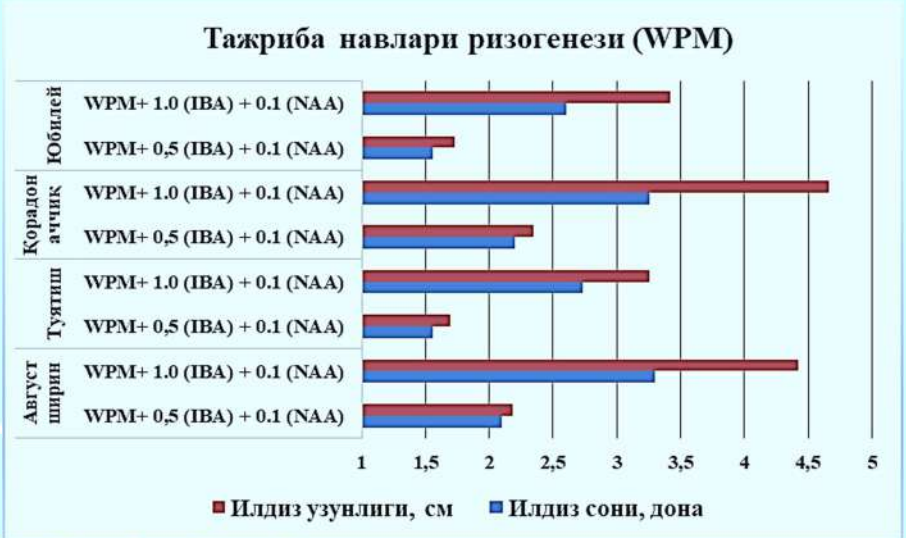
ISSN 3030-3907



4-Расм. МС озуқа муҳитида фиторегуляторлар таьсирида тажриба навларида илдиз хосил бўлиши ва ривожланиши (ризогенез).

Тажрибамизнинг 1-вариант биринчи такрорида MS сунъий озуқа муҳитида 0.5 мг/л IBA + 0.1 мг/л NAA концентрацияси таъсирида ризогенез жараёни жадаллашди танлаб олинган барча навларда илдиз хосил бўлиши Август ширини ва Қорадон аччиқ навларида 100 % ни, илдиз сони 2-3 тагача, илдиз узунлиги 2-2.5 см гача ортганлиги кузатилди. Анорнинг Туятиш ва Юбилей навларида эксплантларнинг 6.66 % да илдиз хосил бўлиши бир хафтага кечикди ва ривожланиши суст эканлиги кузатилди.

Тажрибининг 1-вариант иккинчи такрорида (1.0 мг/л IBA + 0.1 мг/л NAA) экспланларнинг барчасида илдиз хосил бўлиши 100%, илдизнинг сон жихатдан (2,0-4,0) ортишига олиб келди. Илдиз узунлиги 2,0-6,0 см, эксплант хажмига нисбатан аъло даражада ривожланганлиги кузатилди. Туятиш ва Юбилей навларида бу кўрсаткичлар нисбатан паст, аммо ривожланиши қониқарли деб бахоланди (4-Расм).



5-Расм. WPM озуқа муҳитида фиторегуляторлар таьсирида тажриба навларида илдиз хосил бўлиши ва ривожланиши (ризогенез).

ISSN 3030-3907

Тажрибамизнинг 2-вариант биринчи токрорида (1.0 мг/л IBA, 0.1 мг/л NAA) таъсирида тажриба навларининг барчасида ризогенез жараёни, MS сунъий озуқа муҳитида шундай таркиб ва концентрациядаги препарат қўлланилгандаги кўрсаткичлар билан деярли бир хил эканлиги аниқланди аммо иккинчи такрор натижалари Шунда таркиб ва концентрациядаги МС озуқа мухитида етиштирилган микроновдалар ризогенезига нисбатан морфологик (статистик) жихатдан нисбатан юқори эканлиги кузатилди (5-Расм). Тажрибалар натижасига кўра, хар иккала вариантда хам Туятиш ва Юбилей навларида ривожланиш нисбатан суст эканлиги қайд этилди.



6-Расм. Тажриба навлари ризогенезига ауксинлар таъсири (IBA, NAA).
а, б) 0.5 мг/л IBA + 0.1 мг/л NAA. **в, г)** 1.0 мг/л IBA, 0.1 мг/л NAA

Олиб борилган кузатишлар ва адабиёт тахлилларига асосланиб, навларнинг башқа озуқа ёки ауксинга эхтиёжи борлиги тахмин қилинди. Лекин анорни in vitro шароитида кўпайтиришда олиб борилган илмий ишлар билан солиштириш асосида тахлил қилинганда навларнинг ўсиш ва ривожланиши паст даражада эмаслиги аниқланди ва бу ўсимлик генотипи билан боғлиқ бўлиши мумкин (6-Расм).

ХУЛОСА

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида доривор анор (Punica granatum L.) навларини in vitro шароитида микроклонли кўпайтириш учун апикал ва латерал куртаклар юқори регенерацион қобилиятга эга эканлиги аниқланди. Эксплантларни стандарт шароитда (20–25°C, 16 соат ёритилиш) MS ва WPM сунъий озуқа муҳитларида инкубация қилиш микроновдалар ҳосил бўлиши учун қулай муҳит яратди. Озуқа муҳити таркибига цитокинин (BAP) киритилиши микроновдалар ҳосил бўлишини жадаллаштириши исботланди. Айниқса, BAP 1,0 мг/л ва GA_3 0,5 мг/л комбинацияси барча тадқиқ этилган навларда куртаклар сони, новдалар узунлиги ва шохланиш даражасини

ISSN 3030-3907

сезиларли оширди. GA_3 концентрациясининг ортиши бўғим оралиқлари кенг бўлган микроновдалар ривожланишини тезлаштириши аниқланди. MS озуқа муҳитида BAP ва NAA комбинациясига GA_3 қўшилиши новдалар ҳосил бўлиш муддатини 2–3 кунга қисқартириб, микроновдалар сони ва узунлигини оширди. Август ширини ва Қорадон аччиқ навлари микроклонли кўпайтиришга энг юқори жавоб реакциясини намоён этди, Туятиш ва Юбилей навларида эса ривожланиш нисбатан суст бўлиб, бу ҳолат генотип хусусиятлари билан боғлиқ эканлиги кузатилди. WPM озуқа муҳитида ҳам фитогормонлар таъсири ижобий натижа берган бўлса-да, айрим навлар учун бу муҳитнинг самарадорлиги пастроқ эканлиги аниқланди. Бу эса келгусида цитокинин тури ва концентрациясини ўзгартириш ёки озуқа муҳити таркибини оптималлаштириш зарурлигини кўрсатади.

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР.

1. Розанов Б.С. Повышение морозостойкости граната. Бюллетень научнотехнич. информации Тадж. НИИСВ и СК, вып. 1, 1957, с. 55-59.
2. Розанов Б.С. Отбор урожайных клонов граната. Бюллетень научно-технич. информации Тадж. НИИСВ и СК, вып. 2, 1958, с. 19-24.
3. Кузнецов В.В. Плодовые культуры Ферганской долины. Ташкент, 1971.-54 с.
4. Кульков О.П. Культура граната в Узбекистане. Ташкент, 1983. - С. 14-26.
5. Сайдалиев У. Кувинский гранат. //Ж.Сельское хозяйство Узбекистана. - 1969.
6. Середкин С.А. О росте плода граната в период его созревания // Материалы научн.-мет.совещания по культуре граната. Ташкент, 1977. - С. 81-82.
7. Соколов А.К. О разнокачественности побегов у граната. //Тр. ин-та садоводства дикорастущая облепиха в Кыргызстане.
8. Lansky EP y Newman RA. 2007. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 109: 177–206.
9. Lee CJ, Chen LG, Liang WL y Wanga CC. 2010. Anti-inflammatory effects of Punica granatum Linne in vitro and in vivo. Food Chem 118: 315–322.
10. Seeram NP, Henning SM, Zhang Y, Suchard M, Li S y Heber D. 2006. Pomegranate Juice Ellagitannin Metabolites Are Present in Human Plasma and Some Persist in Urine for Up to 48 Hours. J Nutr 136: 2481-2485.
11. Syed DN, Afaq F y Mukhtar H. 2007. Pomegranate derived productsfor cancer chemoprevention. Sem Cancer Biol 17: 377–385.
12. Ozgen M., Durgaç C., Serçe S. and Kaya C., 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. In: Food Chemistry, 111, p. 703-706.

ISSN 3030-3907

13. Mena P, Garcia-Viguera C, Navarro-Rico J, Moreno D, Bartual J, Saura D, Marti N (2011). Phytochemical characterization for industrial use of pomegranate (Punica granatum L.) cultivars grown in Spain. J Sci Food Agric 91: 1893-1906.

ISSN 3030-3907