

**BUXORO DAVLAT UNIVERSITETI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR
BERUVCHI PhD.03/30.12.2019.B.72.02
RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**SAMARQAND DAVLAT VETERINARIYA MEDITSINASI,
CHORVACHILIK VA BIOTEXNOLOGIYALAR UNIVERSITETI**

SULTONOVA KUMUSH RUZIMUROD QIZI

***LAGOCHILUS INEBRIANS BUNGE* O‘SIMLIGINI *IN VITRO*
SHAROITDA MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH, SAQLASH VA
PATOGENSIZ KO‘CHATLARINI OLISH**

03.00.12 – Biotexnologiya

**Biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
AVTOREFERATI**

Buxoro – 2023

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarejasi

Оглавления автореферата диссертации доктора философии (Phd)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Sultonova Kumush Ruzimurod qizi

Lagochilus inebrians Bunge o‘simligini *in vitro* sharoitda mikroklonal ko‘paytirish, saqlash va patogensiz ko‘chatlarini olish 3

Sultonova Kumush Ruzimurod qizi

Микроклональное размножение *Lagochilus inebrians* Bunge в условиях *in vitro*, хранение и получение безпатогенных саженцев 21

Sultonova Kumush Ruzimurod qizi

Micropropagation of *Lagochilus inebrians* Bunge under *in vitro* conditions, storage and production of pathogen-free seedlings 39

E‘lon qilingan ishlar ro‘uxati

Список опубликованных работ

List of published works 42

**BUXORO DAVLAT UNIVERSITETI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR
BERUVCHI PhD.03/30.12.2019.B.72.02
RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**SAMARQAND DAVLAT VETERINARIYA MEDITSINASI,
CHORVACHILIK VA BIOTEXNOLOGIYALAR UNIVERSITETI**

SULTONOVA KUMUSH RUZIMUROD QIZI

***LAGOCHILUS INEBRIANS BUNGE* O‘SIMLIGINI *IN VITRO*
SHAROITDA MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH, SAQLASH VA
PATOGENSIZ KO‘CHATLARINI OLISH**

03.00.12 – Biotexnologiya

**Biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
AVTOREFERATI**

Buxoro – 2023

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B 2022.2.PhD/B767 raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya ishi Samarqand davlat veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universitetida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume). Ilmiy kengashning veb-sahifasida (www.buxdu.uz) va «ZiyoNet» Axborot-ta'lim portalida (www.ziyounet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbarlar:

Qo'shiyev Habibjon Hojiboboyevich
biologiya fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

Murodova Sayyora Sobirovna
biologiya fanlari doktori, professor

Toxirov Baxtiyor Baxshilloevich
biologiya fanlari nomzodi, dotsent

Yetakchi tashkilot:

Qarshi davlat universiteti

Dissertatsiya himoyasi Buxoro davlat universiteti huzuridagi PhD.28.06.2018.B.72.02 raqamli Ilmiy kengashning 2023-yil «20» may soat 10⁰⁰ dagi majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 200117, Buxoro shahri, M.Iqbol ko'chasi, 11-uy. Tel.: (+99865) 212-29-12; faks: (+99865) 212-29-12; e-mail: bsu_info@edu.uz).

Dissertatsiya bilan Buxoro davlat universitetining Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (1449 raqami bilan ro'yxatga olingan). Manzil: 200117, Buxoro shahri, M.Iqbol ko'chasi, 11-uy. Tel.: (+99865) 212-29-12; faks: (+99865) 212-29-12.

Dissertatsiya avtoreferati 2023-yil «5» may kuni tarqatildi.

(2023-yil «5» may dagi № 9 raqamli reyestr bayonnomasi).


E.Kolliyev
Ilmiy daraja beruvchi ilmiy kengash raisi,
biologiya fanlari doktori, professor
N.F.Rashidov
Ilmiy daraja beruvchi ilmiy kengash ilmiy
kotibi, biologiya fanlari nomzodi, dotsent
X.Artikova
Ilmiy daraja beruvchi ilmiy kengash
qoshidagi ilmiy seminar raisi, biologiya
fanlari doktori, professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyati. Dunyoda yuksak o‘simliklarning 500 mingga yaqin turi ma‘lum bo‘lib, ularning 5% da dorivorlik xususiyatlar aniqlangan. Bugungi kunda dorivor o‘simliklardan farmakologik preparatlarning 60 foizi olinadi. Lekin dorivor o‘simliklarning xom ashyo bazasi yetarli emas yoki ularning rejasiz holda tabiatdan yig‘ib olinishi tufayli soni keskin kamayib ketishiga sabab bo‘lmoqda. Oxirgi vaqtda biotexnologik usullar asosida dorivor o‘simliklarni ham ko‘paytirish, saqlash va ulardan foydalanish istiqbolli yo‘nalishlar sifatida e‘tibor berilib, tegishli natijalar olinganligini qayd etish mumkin. Shunga ko‘ra, farmasevtika sanoatini dorivor o‘simliklar xom ashyosi bilan ta‘minlash uchun, ularni yetishtirish yo‘llarini ishlab chiqish muhim ilmiy-amaliy ahamiyatga ega.

Dunyoda istiqbolli dorivor o‘simliklarning biologik xususiyatlarini o‘rganish, ularning tibbiyotdagi ahamiyatli jihatlarini aniqlash, madaniylashtirish va ko‘paytirish hamda farmakologiya sanoatini tabiiy manbalarga asoslangan xom ashyo bazasini yaratish bo‘yicha izlanishlar olib borilmoqda. Bu o‘rinda kamyob va istiqbolli dorivor o‘simliklarni introduksiya (*in situ*) qilish, tanlangan tuproq-iqlim sharoitlariga morfologik va ekologik jihatdan moslashuvchanligi aniqlash va mikroklonal (*in vitro*) ko‘paytirish hamda patogensiz ko‘chatlarini olish asosida plantatsiyalarini yaratish bo‘yicha biotexnologik ilmiy tadqiqotlarga alohida e‘tibor berilmoqda.

Mamlakatimizda dorivor o‘simliklarning genetik resurslarini saqlash rivojlantirish asosida farmakologiya sanoati uchun tabiiy xom-ashyo bazasini yaratilishiga alohida e‘tibor berilgan. Shunga ko‘ra dorivor o‘simliklarning istiqbolli turlarini inventarizatsiyadan o‘tkazish, resurslarini baholash va istiqbolli turlarini biotexnologik usullar asosida mikroklonal ko‘paytirish tadqiqotlar yo‘lga qo‘yilgan. O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasida¹ «... farmasevtika sanoatini yanada rivojlantirish, aholini va tibbiyot muassasalarini arzon, sifatli dori vositalari bilan ta‘minlash» bo‘yicha muhim vazifalar belgilab berilgan. Ushbu vazifalardan kelib chiqqan holda dorivor o‘simliklarni, jumladan, *Lagochilus inebrians Bunge* turini ko‘paytirish va ishlab chiqarishga tavsiyalar berish muhim ilmiy-amaliy ahamiyat kasb etadi.

O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 3 maydagi “«Nukus-farm», «Zomin-farm», «Kosonsoy-farm», «Sirdaryo-farm», «Boysun-farm», «Bo‘stonliq-farm» va «Parkent-farm» Erkin iqtisodiy zonalarini tashkil etish to‘g‘risida”gi PF-5032-son, 2017 yil 7 noyabrdagi «Farmasevtika tarmog‘ini boshqarish tizimini tubdan takomillashtirish chora-tadbirlari to‘g‘risida»gi PF-5229-son Farmoni, 2017 yil 20 apreldagi PQ-2911-son «Respublika farmasevtika sanoatini jadal rivojlantirish uchun qulay shart-sharoitlar yaratish chora-tadbirlari to‘g‘risida»gi, «Dorivor o‘simliklarni yetishtirish, qayta ishlash, urug‘chiligini yo‘lga qo‘yishni rivojlantirish bo‘yicha ilmiy tadqiqotlar ko‘lamini kengaytirishga oid chora-tadbirlar to‘g‘risida»gi 2020 yil 26 noyabrdagi PQ-4901-son, 2022 yil 20 maydagi

¹ O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son “O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida”gi Farmoni.

«Dorivor o‘simliklarni madaniy holda yetishtirish va qayta ishlash hamda davolashda keng foydalanishni tashkil etish chora-tadbirlari to‘g‘risidagi PQ-251-son qarorlari hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa huquqiy-me‘yoriy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining asosiy ustuvor yo‘nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining V. «Qishloq xo‘jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi» ustuvor yo‘nalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o‘rganilganlik darajasi. *Lagochilus inebrians Bungeni* kimyoviy tarkibi, ishlatilishi to‘g‘risidagi ma‘lumotlarni D.P.Popa (1976), T.I.Sukervanik (1985), L.Yu.Izotova va b. (1997, 2004), M.M.Abramov (1958), W.Sun (1998), J.Harborne, H.Baxter, (1999), M.Shibano (2007), B. Ba-bu (2010) kabi xorijlik olimlar tadqiqotlarida ko‘rish mumkin. MDH mamlakatlarida o‘simliklarning bioekologik xususiyatlari va kimyoviy tarkibini o‘rganishga qaratilgan tadqiqotlar V. A. Kurkin (2010), Z.Ye. Svetkova (2014), L.P. Ribashlikova (2014), N.X. Raxmonzoda (2016), A.S. Chubarova (2017) lar tomonidan olib borilgan. Respublikamiz miqyosida *Lagochilus inebrians Bungeni* ko‘paytirish, bioekologik xususiyatlari va kimyoviy tarkibiga oid ishlarni Ziyayev Sh.T., Islomov A.X. (2008), U.N.Zaynutdinov, D.N Dalimov, A.D. Matchanov va boshqalar (2011), A.Ibragimov, D.Dalimov, L.Yu.Izotova, S.A.Talipov, B.T.Ibragimov (2000, 2004), U.N.Zaynutdinov, S.A.Maulyanov, A.X.Islomov (2019), D.N.Dalimov, A.X. Islomov, M.B.Gafurov, N.L.Vipova A.D.Matchanov (2019) va boshqalarning ilmiy tadqiqotlarida ko‘rish mumkin.

Ilmiy manbalarning tahlili shuni ko‘rsatadiki, respublikamiz sharoitida *Lagochilus inebrians Bungeni* keng miqyosda yetishtirishga tavsiya berish imkonini bermaydi. Shu boisdan, *Lagochilus inebrians Bungeni in vitro* sharoitda biotexnologik metodlar yordamida patogensiz ko‘chatlarini olish va respublikada tuproq-iqlim sharoitida yetishtirish usullarini ishlab chiqish ilmiy va amaliy ahamiyat kasb etadi.

Tadqiqotning dissertatsiya bajarilgan oliy ta‘lim muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog‘liqligi. Dissertatsiya tadqiqoti Samarqand davlat veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti ilmiy tadqiqot rejasining “Istiqbolli va noyob o‘simliklarni *in vitro* sharoitida biotexnologik usullar asosida ko‘paytirish texnologiyasini yo‘lga qo‘yish” mavzusidagi tadqiqot doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi istiqbolli dorivor o‘simlik - *Lagochilus inebrians Bungeni in vitro* sharoitida mikroklonal ko‘paytirish biotexnologiyasini ishlab chiqishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

Lagochilus inebrians Bungeni vegetativ organlari va to‘qimalari morfogenetik potentsiali hamda *in vitro* sharoitidagi regeneratsion xususiyatlarini aniqlash;

Lagochilus inebrians Bungening *in vitro* sharoitida mikroklonlash va rizogenez-organogenez jarayonlari intensivligida ozuqa muhiti tarkibining optimal kombinatsiyasini ishlab chiqish;

Lagochilus inebrians Bungening regenerantlarida ildiz tizimining hosil bo'lishi va *ex vitro* sharoitiga moslashish xususiyatlarini baholash;

Lagochilus inebrians Bungeni *in vitro* sharoitida mikroklonal ko'paytirish, saqlash va patogensiz ko'chatlarini olish biotexnologiyasini ishlab chiqish va iqtisodiy samaradorligini baholash.

Tadqiqotning obyekti sifatida dorivor o'simliklardan *Lagochilus* turkumining *Lagochilus inebrians* Bunge turi olingan.

Tadqiqotning predmetini *Lagochilus inebrians* Bungening *in vitro* sharoitda mikroklonal ko'paytirish va patogensiz ko'chatlarini olish hamda yaratilgan patogensiz ko'chatlarini tuproq-iqlim sharoitga moslashtirish asosida amaliyotga tadbiq etish mexanizmini ishlab chiqish tashkil etgan.

Tadqiqotning usullari. Tadqiqotlarda mikroklonlash, sterillash, transpiratsiya, spektrofotometriya, YuSSX (yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi), o'simliklar fiziologiyasi va biokimyosi usullari hamda olingan natijalarni matematik-statistik qayta ishlashda SPSS-17 dastur paketidan hamda *Lagochilus inebrians* Bungening tarkibidagi mikro va makroelementlarni aniqlashda AVIO 200 (ISP-OES, AQSh) optic-emission spektrometrik usullaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

Ilk marta har-xil sharoitda (tabiiy, issiqxona va laboratoriya) o'sishga moslashgan *Lagochilus inebrians* Bungeni biotexnologik (*in vitro*) ko'paytirishning optimal sharoiti ishlab chiqilgan hamda ozuqa muhitidagi fitogormonlarning maksimal stimulyatsion konsentratsiyasini optimal nisbatlari aniqlangan;

*L. Inebrians*ni *in vitro* sharoitda mikroklonlash va rizogenez-organogenez jarayonlari intensivligini oshirish uchun Murasiga-Skuga ozuqa muhiti tarkibining optimal kombinatsiyasi ishlab chiqilgan;

in vitro sharoitida mikroklonlash uslubi yordamida olingan va tuproqqa ko'chirib o'tqazilgan *L. Inebrians*da transpiratsiya jarayoni hamda fotosintetik pigmentlar miqdori o'zgarishiga ko'ra adaptatsiya dinamikasi aniqlangan;

Lagochilus inebrians Bungening biotexnologik usullar asosida yaratilgan patogensiz ko'chatlari tuproqqa ko'chirib o'tqazish asosida optimal sharoit tanlangan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

Lagochilus inebrians Bungeni *in vitro* sharoitida mikroklonlash usulida patogensiz ko'chatlari olingan;

Lagochilus inebrians Bungeni *in vitro* sharoitida mikroklonlash usulida olingan patogensiz ko'chatlarini tuproqqa ko'chirib o'tqazish asosida, dastlabki ko'chatzori tashkil etilgan va tavsiyalar ishlab chiqilgan.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi ularning zamonaviy biotexnologik tajriba usullarini qo'llash orqali olingan natijalar nazariy ma'lumotlarga mos kelishi bilan tasdiqlanadi. Olingan natijalarning isboti, ularning respublika va

xalqaro anjumanlardagi muhokamasi, natijalarning resenziyalangan ilmiy nashrlarda chop etilishi bilan izohlanadi. Natijalarni qayta ishlashda ishonchlik interval qiymatlari (Student kriteriyasi) hisobga olingan hamda ma'lumotlar Origin Pro 7.5 kompyuter dasturi asosida statistik tahlil qilingan.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati *Lagochilus inebrians* Bungening *in vitro* sharoitida farmakologik (antioksidant, spazmolitik) faolligi va mikroklonlashda ozuqa muhiti tarkibining optimal kombinatsiyalarini tanlash asosida o'simlikning morfogenetik rivojlanishi va regeneratsiyasi jarayonlarini aniqlash, mikroko'paytirish nazariyalarini ishlab chiqish uchun hamda o'simliklarning rivojlanish biologiyasi fundamental tadqiqotlari uchun ham muhim ahamiyatga egaligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati Respublikamiz tuproq-iqlim sharoitlariga mos chidamli *Lagochilus inebrians* Bunge namunalari biotexnologik usullardan foydalangan holda mikroklonal ko'paytirish hamda olingan patogensiz ko'chatlari asosida plantatsiyasini yaratish va farmakologiya sanoatida foydalanish uchun tabiiy xomashyo bazasini yetishtirish bo'yicha amaliy tavsiyalar ishlab chiqishga xizmat qiladi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi.

Lagochilus inebrians Bungening farmakologik xususiyatlari va mikroklonlash hamda olingan patogensiz ko'chatlarini mahalliy tuproq-iqlim sharoitiga moslashtirish bo'yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

in vitro sharoitida yetishtirilgan *Lagochilus inebrians* Bungening patogensiz ko'chatlaridan Samarqand viloyatining Kattaqo'rg'on tumani "Uyshun tong zamini" fermer xo'jaligining bo'z tuproqli dalalariga ekilgan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligining 2022 yil 12 oktyabrdagi 07/27-04/7427-son ma'lumotnomasi). Natijada, fermer xo'jaligining ekin maydonlarida *Lagochilus inebrians* Bunge dorivor o'simligining ko'chatzorlarini tashkil qilish imkonini bergan;

*L. Inebrians*ning *in vitro* sharoitida olingan patogensiz ko'chatlari Samarqand viloyati Jomboy tumanidagi "Bog'bon" *in vitro* laboratoriyasi asosida amaliyotiga joriy qilingan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligining 2022 yil 12 oktabrdagi №07/27-04/7427-raqamli ma'lumotnomasi). Natijada "Bog'bon" agrokompleksi issiqxonasida *Lagochilus inebrians* Bunge dorivor o'simligining ko'chatzori tashkil etish va rentabellik darajasi 25% oshirish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Tadqiqot natijalari 3 ta xalqaro va 4 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 12 ta ilmiy ish nashr etilgan, shulardan O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining doktorlik dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 4 ta maqola, jumladan, 2 tasi respublika va 2 tasi xorijiy jurnallarda nashr etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya tarkibi kirish, beshta bob, yakuniy qism, xulosalar va foydalanilgan adabiyotlar ro'yxatidan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 110 betni tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Kirish qismida o‘tkazilgan tadqiqotlarning dolzarbligi, zarurati asoslangan, tadqiqotning maqsadi, vazifalari, obyekt va predmetlari tavsiflangan, respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi, tadqiqotning ilmiy yangiligi, amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning ilmiy-amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilish, nashr etilgan ishlar hamda dissertatsiya tuzilishi bo‘yicha ma‘lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «***In vitro* usullari asosida bioxilma-xillikni saqlash va rivojlantirishning nazariy asoslari, rivojlanish tendensiyalari va muammolar holati**» deb nomlangan birinchi bobida bioxilma-xillikni saqlash va rivojlantirish bilan bog‘liq holda o‘simliklarni *in vitro* sharoitida mikroklonal ko‘paytirish, patogensiz ko‘chatlarini olish to‘g‘risida ma‘lumot berilgan hamda yetishtirish bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar natijalari tahlil qilingan. Adabiyotlar ma‘lumotlari tahlilida xorijiy mamlakatlar va mahalliy sharoitda biotexnologik usullar asosida o‘simliklarni yetishtirishda ilmiy natijalarning qiyosiy tahlili bayon qilingan.

Dissertatsiyaning «***Lagochilus inebrians* Bungeni *in vitro* sharoitda mikroklonal ko‘paytirish**» deb nomlangan ikkinchi bobi tadqiqot obyekti, tadqiqot usullari to‘g‘risidagi ma‘lumotlar bayoniga bag‘ishlangan. Tadqiqot obyekti sifatida *Lagochilus* turkumining *Lagochilus inebrians* Bunge turini dala, laboratoriya va issiqxonada yetishtirgan namunalardan foydalanilgan.

Tadqiqotlar Guliston davlat universitetining «Eksperimental biologiya» laboratoriyasi, Samarqand davlat veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti hamda “Bog‘bon” *in vitro* laboratoriyasida olib borilgan.

Dissertatsiyaning «***Lagochilus inebrians* vegetativ organlari va to‘qimalarining morfogenetik potentsiali va *in vitro* sharoitdagi regeneratsion xususiyatlari**» deb nomlangan uchinchi bobi ozuqa elementlarining *L.inebrians*ning vegetatsiya davridagi ta‘sir natijalarini o‘rganishga bag‘ishlangan.

O‘simliklarni mikroklonal ko‘paytirishning muhim jihati birlamchi eksplantni tanlashdir. Bunday holda, morfogenetik potentsialni ham, eksplantning tanlangan manbasining mavjudligi ham hisobga olinadi. *L.inebrians*ning aseptik kulturalarini olish uchun apikal meristimatik yoki ildiz to‘qimalari ishlatildi va bu ularning yuqori regenerativ faolligi bilan izohlanadi. Bunda o‘simlik poyalari kulturalarida morfogenetik javob reaksiyalari eng xarakterli xususiyat ildiz tizimining hosil bo‘lishi bilan bog‘liq organogenez jarayoni hisoblanadi.

Kurtaklar to‘qimasini *in vitro*da birlamchi eksplantlar sifatida kulturaga kiritish bo‘yicha tadqiqotlar issiqxona izolyatsiyasi sharoitida o‘sadigan *L.inebrians* ustida o‘tkazildi. Yer osti organlarining yuqori darajada ifloslanishi qattiq sterilizatsiya rejimlarini qo‘llash zarurligiga olib keldi. Ish jarayonida 70% etanol (30 sek), 0,1% simob (II) xlorid va Tween 80 (30 min) qo‘shilgan eritmadan foydalanish, keyin steril suv bilan yuvish yuqori foizni ta‘minlashi ma‘lum bo‘ldi. Shunday qilib, infeksiyalanmagan eksplantlarning hosildorligi 87-96% oralig‘ida o‘zgardi.

Issiqxonada izolyatsiyalangan sharoitda o'sgan *L.Inebrians* 15-17 kundan keyin, dala sharoitida 51-56 kun ichida kurtaklar yuzasida birinchi o'zgarishlar yani eksplant to'qimalarning bir oz o'sishi qayd etilgan. Ozuqa muhitida emlashdan bir kun o'tgach eksplant yuzasida o'simtaning paydo bo'lishidan boshlab birlamchi vegetativ organlarning shakllanishigacha bo'lgan tasodifiy kurtaklarning yangilanishi o'rtacha 12-17 kun davom etdi.

In vitro kulturalarning boshlang'ich bosqichida kallus to'qimalarining rivojlanishi sodir bo'lmadi, *L.Inebrians* kurtaklari regeneratsiyasi bevosita organogenez yo'li bo'ylab davom etdi. Kurtaklarning o'sishi to'qimalarning ozuqaviy muhit yuzasidan yuqorida eksplant qirqib olingan qismida qayd etildi (1-rasm).



1-rasm. 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA bilan to'ldirilgan BDS muhitida birlamchi eksplant yuzasida *L.Inebrians* kurtaklarining regeneratsiyasi, 47 kunlik yetishtirish.

BDS va B₅ ozuqali muhiti *L.Inebrians* mikroo'simliklarining hosil bo'lish tezligining o'xshashligi bilan tavsiflandi. Bunda MS muhitida rivojlanishida pasayish qayd etildi. Shuni hisobga olib, keyingi ishlar BDS va B₅ mineral asoslari yordamida amalga oshirildi. Nazorat gormoni bo'lmagan BDS muhitida (regeneratsiya - 42,7%, kurtaklar soni - 4,1±0,2 dona/eksp.) uzoq kultivatsiya davrida (ikki yil) kurtaklar o'sishi va rivojlanishining yuqori sur'atlari kuzatildi. Buni *in vitro*da kulturalashning boshlang'ich bosqichida qo'llaniladigan kurtaklarda o'sish regulyatorlarining to'planishi bilan izohlash mumkin.

BDS ozuqa muhitiga o'sish regulyatorlari 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA qo'shilishi kultivatsiyaning 12-15-kunida qo'shimcha kurtaklar hosil bo'lishiga olib kelgan, gormonsiz BDS ozuqaviy muhitida esa bu muddat 22-25 kunni tashkil etgan. O'sish regulyatorlarining bu kombinatsiyasi faol surgun regeneratsiyasini ta'minladi va uni maqbul deb hisoblash mumkin: har bir eksplantda o'rtacha kurtaklar soni 4,6 ± 0,4, regeneratsiya chastotasi 56,3% ni tashkil qiladi. O'sish va rivojlanishning yuqori sur'atlari 10,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA bilan to'ldirilgan BDS ozuqa muhitida ham kuzatildi: regeneratsiya darajasi 66,2% ga yetdi, shu bilan birga har bir eksplantda 4,0 ± 0,8 tasodifiy kurtaklar hosil bo'ldi.

BAP, kinetin va TDZ ning past konsentratsiyasidan (0,1 va 0,5 mkM) foydalanish muhitning mineral tarkibidan qat'iy nazar, sariq, morfogen kallus hosil bo'lishiga olib keldi. Shu bilan birga, morfogen kallus hosil bo'lish chastotasi

38,0% dan oshmadi. Kallus yuzasida kurtaklar hosil bo'lishi faqat 5 haftalik o'stirishdan keyin kuzatildi, bu sitokininlar va auksinlar bilan to'ldirilgan muhitga qaraganda ancha kechroq kuzatildi. Keyinchalik, bundan 28,0% mikrokuratklar paydo bo'ldi, ya'ni bilvosita organogenez davom etdi. Mikrokuratklarning hosil bo'lishi 0,5 mkM TDZ qo'shilgan BDS ozuqa muhitida yaqqol namoyon bo'ldi.

Garchi dispersiya tahlili atrof-muhit omillarining paydo bo'lgan mikrokuratklar soniga sezilarli ta'sirini aniqlamagan bo'lsada, BDS ozuqaviy muhitiga 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA qo'shilishi faqat sitokininlar qo'shilgan nazorat va muhitga nisbatan regeneratsiyani deyarli ikki baravar tezlashtirishi kuzatildi.

Tadqiqot davomida ozuqaviy muhitning mineral tarkibini (B₅ va BDS) *L.Inebrians* kurtaklarining regeneratsiya faolligiga ta'siri aniqlandi. Shu bilan birga, o'sish regulyatorlarining hosil bo'lgan kurtaklar soniga ta'siri tahlil qilindi. (2-rasm).



2-rasm. *L.Inebrians*ning tasodifiy kurtaklari:

A – morfogen kallus yuzasida kurtaklar regeneratsiyasi, 0,5 mkM BAP bilan to'ldirilgan BDS muhiti, 31 kunlik yetishtirish; B - o'sib chiqqan eksplant to'qimalarida hosil bo'lgan kurtaklar, B₅ muhiti 0,1 mkM BAP bilan to'ldirilgan, 23-kun

BAP va TDZ ning past konsentratsiyasi (0,1 va 0,5 mkM) samaraliroq bo'ldi. B₅ resepti bo'yicha muhitga 0,1 mkM BAP qo'shilishi eksplant to'qimalarning o'sishiga va uning yuzasida 56,5% chastotali eng ko'p miqdordagi qo'shimcha to'qimalarning ($5,0 \pm 1,5$ dona/eksp.) shakllanishiga olib keldi. Bu bizga ushbu muhitni optimal deb hisoblash imkonini berdi.

Ushbu ozuqaviy muhitda, shuningdek, *L.Inebrians* o'stirishda sariq-yashil morfogen kallus (37%) shakllanishi qayd etilgan, uning uzoq rivojlanishi (40 kundan ortiq) tasodifiy mikrokuratklarning shakllanishiga olib keldi. Biroq, morfogen kallus yuzasida kurtaklar regeneratsiyasining chastotasi 32% dan oshmadi. Shu sababli, ushbu vositada ham to'g'ridan-to'g'ri, ham bilvosita regeneratsiya qayd etildi.

Auksinning NAA dan IAA ga va mineral asosning almashtirilishi va B₅ dan BDS gacha kurtaklar paydo bo'lish chastotasining 57,9% gacha oshishiga va

bilvosita gemogenezning faollashishiga va har bir eksplantada o'rtacha $2,8 \pm 0,9$ to'qima hosil bo'lishiga olib keldi(1-jadval).

1-jadval

Oziqa muhitining mineral tarkibi va o'sish regulyatorlarining *in vitro* sharoitida *L.Inebrians* kurtaklari regeneratsiyasiga ta'siri

O'sish regulyatorlari, mkM	Mineral asos			
	BDS		B5	
	Regeneratsiya chastotasi,%	Tasodifiy kurtaklar, dona./eksp.	Regeneratsiya chastotasi,%	Tasodifiy kurtaklar, dona./eksp
Nazorat(garmonsiz muhit)	33,3	$2,5 \pm 0,3$	52,9	$1,6 \pm 0,3$
BAP 0,1	-		25,7	$1,8 \pm 0,3$
BAP 0,5	-		67,0	$1,8 \pm 0,3$
BAP 5,0	45,8	$2,1 \pm 0,3$	37,5	$2,0 \pm 0,9$
BAP 5,0+NSK 2,0	57,9	$2,3 \pm 0,5$	36,6	$2,4 \pm 0,6$
BAP 5,0+NSK 5,0	-		16,1	$2,1 \pm 0,3$
TDZ 0,1	-		38,5	$1,5 \pm 0,3$
TDZ 0,5	18,2	$1,8 \pm 0,5$	29,0	$2,3 \pm 0,3$
TDZ 5,0	-		8,0	$1,7 \pm 0,4$
TDZ 5,0+NSK 2,0	-		78,6	$2,0 \pm 0,6$
Kinetin 0,5	21,4	$1,6 \pm 0,5$	-	
BAP 5,0+ISK 5,0	57,9	$2,8 \pm 0,9$	-	
BAP 0,4+NSK 3,2+ISK 2,3	-		80,0	$2,1 \pm 0,5$
Namunalar				
Mineral asos		<i>F</i>	<i>r</i>	ishonchsiz
O'sish regulyatorlari, mkM		0,3348	0,5636	ishonchsiz
Mineral asos va o'sish regulyatorlari, mkM		0,7427	0,5282	ishonchli
		3,0124	0,0320	ishonchli

Shu bilan birga, ozuqa muhitining barcha variantlarini solishtirganda, B₅ ning mineral asosida kurtaklar to'qimalarining yangilanish chastotasi yuqori ekanligi, auksinlar bilan birga sitokininlarni o'z ichiga olgan muhitlardan foydalanish samaraliroq ekanligi aniqlandi bu esa mineral asos va o'sish regulyatorlarining *de novo* shakllangan kurtaklar soniga kompleks ta'sirini ham tasdiqladi. Regeneratsiya chastotasi 80%, tasodifiy kurtaklar soni $2,1 \pm 0,5$ dona/eks.bo'lgan mikroklonlarni yetishtirish 3,2 mkM NAA va 2,3 mkM IAA hamda 0,4 μ M BAP bilan to'ldirilgan B5 ozuqa muhitida optimal bo'ldi.

Ta'kidlanganidek, dala sharoitida o'sayotgan *L.Inebrians* kulturasida kurtaklar ko'payishiga olib keladigan sitokininlarning faqat past konsentratsiyasi (0,1 va 0,5 mkM) dan foydalanish o'simliklarda kurtaklar shakllanishi faolligini pasaytirdi.

Rivojlangan vegetativ qismlarga ega poyalarning ko'zga tashlanishi faqat 3-4 oylik yetishtirishdan keyin kuzatildi. Shu bilan birga, gormonlarsiz muhitda

keyingi rivojlanish uchun tasodifiy kurtaklarining transplantatsiyasi to'qimalarning nekroziga olib keldi. Regeneratsiya oxiriga kelib, mikroo'simliklar 1-2 assimilyatsiya qiluvchi barglarga ega bo'lib, rivojlangan barg plastinkasi rivojlanishning 2-yilidagi voyaga yetmagan o'simliklarga to'g'ri keladi (3-rasm).



3-rasm. 0,4 mkM BAP + 3,2 mkM NAA + 2,3 mkM IAA bilan to'ldirilgan BDS ozuqa muhitida rivojlangan assimilyatsiya qiluvchi barglari bo'lgan *L.Inebrians* to'qimalari, 33 kunlik yetishtirish.

Shunday qilib, 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA bilan to'ldirilgan ozuqa muhitida, *L.Inebrians*da eksplant yuzasida birinchi ko'rinadigan o'zgarishlar yetishtirishning 25-31 kunida kuzatildi. Eksplant to'qimalarda regeneratsiya jarayonlarining lokalizatsiyasi shikastlanish joylarida, shuningdek, to'qimalarning shikastlanmagan qismida qayd etildi. Ozuqa muhitida 2,5-5 hafta o'tgach, eksplantlarda hosil bo'lgan o'rganilayotgan o'simlik mikrookurtaklarida 2-3 barg shakllana boshlandi (4-rasm).

Barg rivojlanishi bilan u to'qimalarga aylanib, yumaloqroq shaklga ega bo'lib, mikrookurtaklar hosil qildi. Mikroo'simliklarning keyingi o'sishi uchun to'qimalarning yashil rangga bo'yalishi xarakterlidir.



4-rasm. *L.Inebrians*ning to'g'ridan-to'g'ri gemogenezi kurtaklar to'qimalari yuzasida, 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA qo'shilgan B₅ ozuqa muhitida barg hosil bo'lish holati

In vitro organogenez jarayonlarining o'xshashligidan kelib chiqqan holda, ushbu turning namunaviy obyekti sifatida *L.Inebrians* mikroo'simliklarida kurtaklar morfogenezi batafsil o'rganildi.

Dissertatsiyaning **“Regenerant *L.Inebrians* namunalari da ildiz tizimining hosil bo'lishi va *ex vitro* sharoitga moslashishi”**, deb nomlangan to'rtinchi bobida yaratilgan patogensiz ko'chatlarni *ex vitro* sharoitga moslashtirish bo'yicha olib borilgan tadqiqot natijalarining tahliliy bayoni keltirilgan.

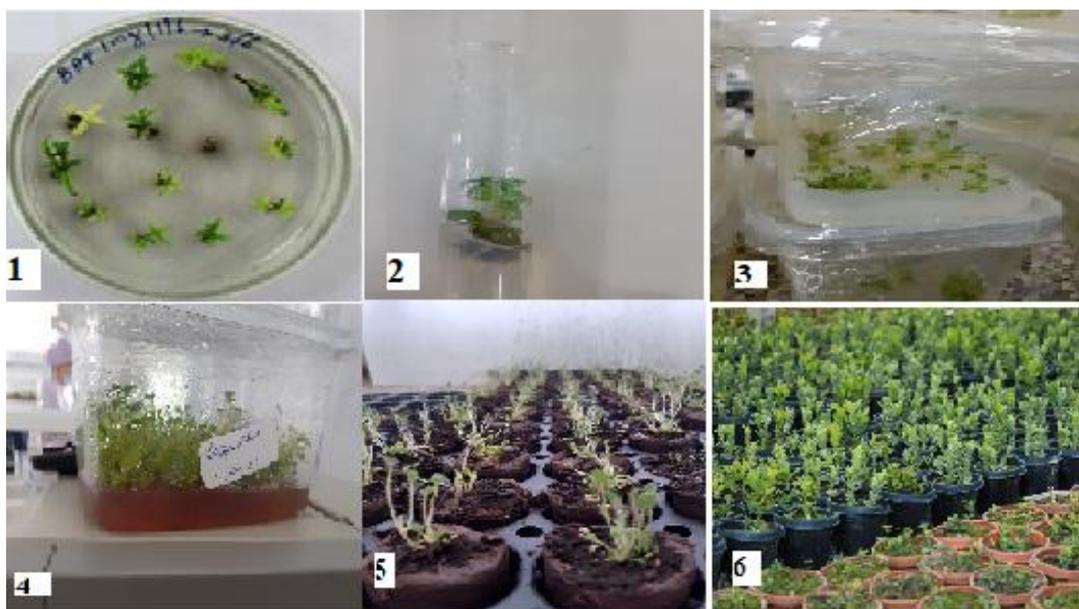
In vitro muhitda kulturada o'simlikni o'stirishda ozuqa muhiti tarkibiga 6-BAP - 1-3 mg/l; GK - 0,5-2,0 mg/l; NSK - 0,1-0,3 mg/l yoki IMK - 0,1-0,3 mg/l va vitaminlar kompleksi qo'shildi. Kultura muhitida rizogenez jarayonini stimulyatsiyalash uchun makroelementlar va saxaroza konsentratsiyasi kamaytirildi. Bunda induktor sifatida IMK foydalanildi. Ozuqa muhiti tarkibiga auksin 0,2-2 mg/l konsentratsiyada qo'shildi yoki eksplant IMK eritmasida (50 mg/l) 18 soat davomida inkubatsiyalandi va navbatdagi bosqichda tarkibiga fitogormon qo'shilmagan ozuqa muhitiga ekildi (pH=5,5-5,7).

Tajribalarda stimulyator sifatida tidiazuron (N-fenil-N-(1,2,3-tiadiazol-5-il) mochevina); TDZ, zeatin (1,65-5 mg/l), 2,4-D, ISK (0,1-0,5 mg/l) turli xil kombinatsiyalarda sinovdan o'tkazildi. Foydalanilgan fitogormonlar va vitamin komplekslari «Serva» firmasida (Germaniya) ishlab chiqarilgan. Kulturani o'stirish laboratoriyada sutka davomida 16 soat 3000 lyuks yorug'lik rejimida t=24-26°C harorat, 60% namlik saqlangan sharoitida amalga oshirildi.

Tajribalarda MS ozuqa muhiti tarkibida BAP (5 mg/l)+NAA (0,04 mg/l) kombinatsiyadan foydalanilgan sharoitda barg qo'ltig'i kurtagidan *in vitro* sharoitida kallus to'qimaning hosil bo'lish intensivligi yuqori bo'lishi, BAP (2 mg/l)+NAA (0,1 mg/l)+GA₃ (30,5 mg/l) kombinatsiyada kulturada o'simtalar maksimal sonda va uzunlikda hosil bo'lishi, shuningdek, inkubatsiya muhiti tarkibiga IBA (3 mg/l) qo'shilgan holatda ildiz hosil bo'lish jarayoni intensivligi yuqori bo'lishi aniqlangan. Ozuqa muhiti tarkibiga 6-BAP qo'shilgan holatda kurtaklar proliferatsiyasi intensivligi yuqori bo'lishi qayd qilindi.

In vitro sharoitida kallus to'qima hosil qilish uchun fitogormonlardan foydalaniladi. Bu bosqichda ozuqa muhiti tarkibida fitogormon tiplari va kombinatsiyalarini to'g'ri tanlash jarayoni optimalligini ta'minlash muhim ahamiyatga ega. Tadqiqotlarimizda o'simlikni yuqorida keltirilgan turli xil boshlang'ich eksplantlarida kallus to'qima induksiyasi uchun MS ozuqa muhiti tarkibida BAP (1-5 mg/l)+NAA (0,4 mg/l) va MS +2,4-D (1-5 mg/l) kombinatsiyalar sinovdan o'tkazildi. Tajribalarda o'simlik eksplantalari 25 ml MS ozuqa muhitiga qo'yilgan shisha idishlarga (275 ml) joylashtirildi, kultura standart sharoitda (+20...+25°C harorat, sutka davomida 16 soatlik yoritilish va 8 soat qorong'u sharoitda 4 hafta davomida) inkubatsiyalandi.

Tadqiqotlarda MS ozuqa muhitida BAP (0,5-2 mg/l)+NAA (0,25-1,5 mg/l) kombinatsiyada kallus to'qima rivojlanishi va proliferatsiyasi intensivligi nisbatan yuqori darajada amalga oshishi aniqlandi (5-rasm).



5-rasm. *Lagochilus inebrians*ni in vitro sharoitda mikroklonal ko'paytirish va tuproq sharoitiga moslashtirish

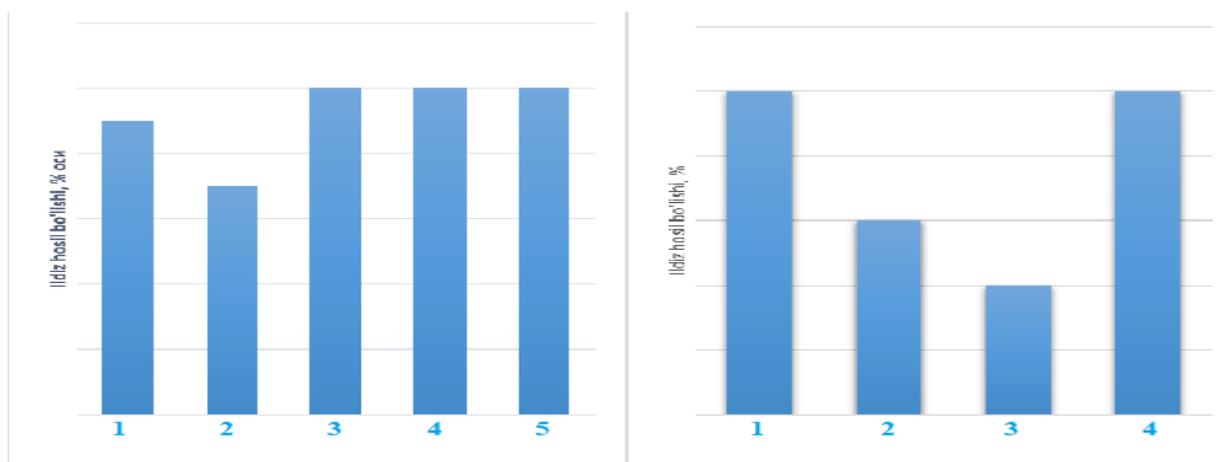
1-2 –eksplantndan hosil bo'lgan kallus, 3 – poyaning shakllanishi; 4 – ildizlatish jarayoni; 5 – iqlimlashtirish; 6–tayyor ko'chat

Tadqiqotlarda $\frac{1}{2}$ MS ozuqa muhitida NAA (0,5-3 mg/l)+ IBA (0,5-3 mg/l), shuningdek NAA (0,5-3 mg/l)+ IBA (0,5-3 mg/l)+aktivlashtirilgan ko'mir (3 g/l) kombinatsiyada ildiz hosil bo'lishi intensivligi nisbatan yuqori bo'lishi qayd qilindi.

In vitro sharoitda olingan ko'chatlar bosqichma-bosqich tuproqqa o'tqazildi. Buning uchun *in vitro* dan olingan o'simlik issiqxonadagi substratga ekildi. Substrat ikki qatlam qum va yog'och qipig'idan iborat. Substratning yuqorisi oddiy substrat, yuza qatlamiga yog'och qipig'i solindi.

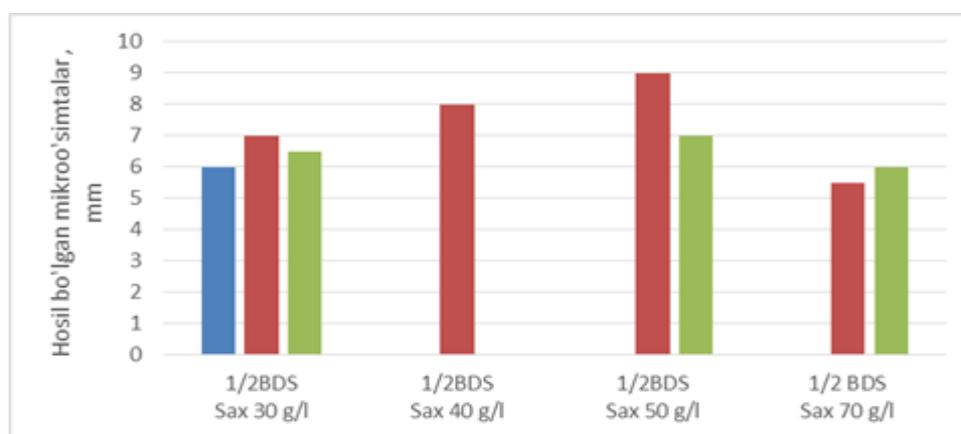
In vitro sharoitida *L.Inebrians* kallus to'qima proliferatsiyasi MS ozuqa muhiti tarkibida BAP (1 mg/l)+NAA (1 mg/l) kombinatsiyada optimal darajada amalga oshishi aniqlandi. BAP (2 mg/l)+NAA (0,1 mg/l)+GA₃ (0,5 mg/l) kombinatsiya variantida ildiz hosil bo'lishi intensivligi nisbatan yuqori bo'lishi qayd qilindi. Tarkibida kinetin (2,3-18,4 mkM)+1-naftalin asetik kislota (0,54 mkM) kombinatsiyasi mavjud sharoitda WPM ozuqa muhiti sharoitida MS ozuqa muhitiga nisbatan regeneratsiya intensivligi yuqori bo'lishi qayd qilindi. *L.Inebrians* o'simligini introduksiya qilish uchun *in vitro* usulidan foydalanib o'simlikni ko'paytirish usullari yaratildi.

Shuni ta'kidlash kerakki, o'rganilgan namunalardagi o'simliklar gormonal va gormonal bo'lmagan muhitda osongina ildiz otadi. Barcha sinovdan o'tgan namunalarda o'rtacha ildiz otish chastotasi 81,3% ni tashkil etdi (6-rasm). *L.Inebrians* mikroo'simliklarida 100% ildiz otish faqat $\frac{1}{2}$ BDS va $\frac{1}{2}$ MS mineral asoslarida 5,0 mkM konsentratsiyada - NAA, IAA, IBAda auksinlar mavjudligida olingan. *L.Inebrians*da rizogenezni qo'zg'atish uchun eng samarali vosita 5,0 mkM NAA bilan to'ldirilgan $\frac{1}{2}$ B₅ edi (7-rasm).



6-rasm. Laboratoriya sharoitida steril muhitda o‘stirilgan (a: 1-1/2BDS; 2-1/2BDS+NSK1,5; 3-1/2BDS+NSK1,5; 4-1/2MS+IMK5; 1/2MS-ISK5) va issiqxona sharoitida o‘stirilgan (b; 1-1/2BDS; 2-1/2BDS+NSK5; 3-1/2BDS+NSK1,5; 4-1/2MS+IMK5) namunalar, (c) tabiiy sharoitda o‘sgan o‘simlik namunalari

Amaldagi auksinlarning turi rizogenez faolligiga ta’sir qilmadi. Faqat shuni ko‘rsatish mumkinki, ozuqaviy muhitda 5,0 mkM NAA, IAA yoki IMC mavjudligi gormonlarsiz muhit va NAA (1,5 mkM) miqdori past bo‘lgan muhitga nisbatan ildiz shakllanishini kuzatildi.



7-rasm. Laboratoriyada (1), issiqxonada (2), tabiiy (3) sharoitlarda o‘sgan *L.inebrians* o‘simligi rivojlanishiga saxaroza konsentratsiyasining ta’siri

O‘rganilayotgan namunalarning regenerantlarini laboratoriya va issiqxona sharoitida $+23\pm 2^{\circ}\text{C}$ haroratda va fotoperiodda tokchalarga moslashtirish yangi barglarning rivojlanishi bilan birga amalga oshmadi va o‘shishning sekinlashishiga olib keldi.

Dissertatsiyaning “*Lagochilus inebrians* o‘simligini ko‘paytirishda biotexnologik metodlardan amaliy faoliyatda foydalanish”, deb nomlangan beshinchi bobida biotexnologik usullar asosida olingan patogensiz ko‘chatlardan ishlab chiqarishda foydalanish istiqbollari bo‘yicha tadqiqot natijalari bayon qilingan.

Aseptik kulturalarni olish uchun o'simlik namunalarining segmentlari qo'llanildi, shu bilan birga samarali sirt sterilizatsiyasi 70% etanol (30 sek) + 0,1% HgCl₂ Tween 80 (30 min) qo'shilishi usuli qo'llanildi. Birlamchi eksplantlarning sterilligi 81-88% ga yetdi.

O'rganilayotgan o'simliklarning steril bo'laklari (5 × 5 mm) auksin va sitokinin o'sish regulyatorlari bilan to'ldirilgan B₅ va BDS agar ozuqa muhitiga joylashtirildi. Birlamchi eksplantlarni induksion muhitda o'stirishda to'qimalarning ozgina o'sishi va kamdan-kam hollarda kallus shakllanishi qayd etilgan. Birlamchi eksplant yuzasida birinchi o'simalarning paydo bo'lishi ozuqaviy muhitga inokulyatsiya qilinganidan keyin 15-17-kunida qayd etilgan, yana 2,5-3 haftadan so'ng yaxshi shakllangan mikrokesmalar (3,5 mm gacha) kuzatilgan (2-jadval).

2-jadval

L.Inebrians namunalarida qo'shimcha to'qimalarning yangilanishiga ozuqa muhit komponentlarining ta'siri

Ozuqaviy muhit	Laboratoriyada o'sishga moslashgan <i>L.Inebrians</i>		Issiqxonada o'sishga moslashgan <i>L.Inebrians</i>		Dalada o'sishga moslashgan <i>L.Inebrians</i>	
	Regeneratsiya chastotasi,%	Tasodifiy kurtaklar, dona.,eksp.	Regeneratsiya chastotasi,%	Tasodifiy kurtaklar, dona.,eksp.	Regeneratsiya chastotasi,%	Tasodifiy kurtaklar, dona.,eksp.
B ₅ +BAP 5,0+NSK 2,0	51,2	2,5±0,5	-		65,4	2,1±0,7
B ₅ +BAP 0,4+NSK 3,2+ISK 2,3	48,4	2,8±0,7	39,3	1,7±0,8	42,1	1,9±0,9

Eslatma: "-" - ma'lumot yo'q

In vitro kulturalashda tasodifiy mikrokesimlarning hosil bo'lish intensivligida farqlar aniqlandi. Birlamchi eksplantlarning to'qimalaridan *de novo* hosil bo'lgan kurtaklarning minimal soni issiqxona sharoitida o'sishga moslashgan *L.Inebrians* uchun xosdir (1,7±0,8 dona/eksp.).

L.Inebrians kultivatsiyasida hosil bo'lgan mikroo'simtalar soniga ozuqa muhiti komponentlarining sezilarli ta'siri kuzatilmadi. Barcha o'rganilgan namunalarning har bir eksplantida o'rtacha 2,5 ta kurtaklar hosil bo'ldi. 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA o'z ichiga olgan BDS ozuqaviy muhitda kurtaklar shakllanishining biroz pasayishi kuzatildi.

Regeneratsiya chastotasining muhit tarkibiy qismlariga bog'liqligini tahlil qilganda, B₅ mineral bazasidan foydalanish to'qimalarning faolroq tiklanishiga olib kelganligi aniqlandi. Tasodifiy kurtaklar shakllanishining maksimal chastotasi (63,6%) 0,1 mkM BAP bilan to'ldirilgan B₅ muhitida qayd etilgan. Ozuqa muhitining bu varianti tabiiy sharoitda o'sadigan *L.Inebrians*ni mikroko'paytirish uchun optimal ko'rsatkich ekanligi qayd etildi. (3-jadval).

3-jadval

Oziqa muhit komponentlarining *L.Inebrians* adventiv mikrokurtaqlarining qayta tiklanishiga ta'siri

Ozuqa muhiti	Regeneratsiya chastotasi, %	Tasodifiy kurtaqlar soni, dona\eksp.
BDS (nazorat)	30,9	2,7±0,6
BDS +0,1 mkM BAP	28,8	2,4±0,3
BDS +5,0 mkM BAP+2,0 mkM NSK	30,0	1,9±0,3
B ₅ (nazorat)	21,0	2,5±0,5
B ₅ +0,1 mkM BAP	63,6	2,6±0,6
B ₅ +0,4 mkM BAP + 3,2 mkM NSK+2,3 mkM ISK	43,4	2,6±0,5
B ₅ + 3,2 mkM NSK+2,3 mkM ISK	53,5	2,6±0,4

Haqiqiy ko'payish bosqichida *L.Inebrians*ning qayta tiklanishi bevosita gemmogenez yo'li bo'ylab davom etdi. Rivojlanayotgan qo'shimcha to'qimalar ko'payish muhitida o'z-o'zidan ildiz otishi bilan karakterlanadi, ildiz tuklari bilan 3-4 ta ildiz hosil bo'ladi

L.Inebrians namunalarini ko'paytirish bosqichida issiqxona sharoitida o'sishga moslashgan *L.Inebrians* mikroko'paytirish jarayonida eng yuqori regeneratsiya potentsiali kuzatilgan muhitlardan foydalanilgan (4-jadval). Tabiiy sharoitda o'sadigan *L.Inebrians* uchun mikrokesimlarning faolroq qayta tiklanishi xos ekanligi qayd etildi. *L.Inebrians* mikroo'simliklari bu bosqichda to'qimalarning differentsiatsiyasi va o'z-o'zidan rizogenezga uchramaganligi kuzatildi.

4-jadval

L.Inebrians qo'shimcha to'qimalarning yangilanishiga ozuqa komponentlarining ta'siri

Namunalar	Tasodifiy kurtaqlar soni, dona\eksp	
	BDS +5,0 mkM BAP+ 2,0 mkM NSK	B ₅ +0,4 mkM BAP+3,2 mkM NSK+2,3 mkM ISK
Issiqxona sharoitida o'sishga moslashgan <i>L.Inebrians</i>	1,9±0,6	-
Dala sharoitida o'sishga moslashgan <i>L.Inebrians</i>	2,7±0,9	2,8±0,6

Eslatma: "-" - ma'lumot yo'q

L.Inebrians mikroo'simliklarini ko'paytirishda turli xil mineral asoslardan foydalanish samaradorligini solishtirganda, BDS retsepti bo'yicha ozuqaviy muhitda faolroq gemmogenez qayd etilgan. TDZni auksinlar bilan birgalikda ham, ularsiz ham qo'llash BAPga qaraganda samaraliroq bo'ldi. Shu bilan birga, maksimal regeneratsiya tezligi (100%) 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA bilan to'ldirilgan B₅ ozuqaviy muhitda olingan; o'sish regulyatorlarining bu birikmasi har bir eksplantda 2,9±1,1 mikrokesim hosil bo'lishini ta'minladi. O'sish regulyatorlarining bu kombinatsiyasi tabiiy sharoitda o'sadigan *L.Inebrians* o'simliklarini mikroko'paytirish uchun samarali ekanligini isbotladi. Shu bilan

birga, boshqa o'rganilgan namunalardan farqli o'laroq, sitokinlarning yuqori konsentratsiyasidan (5,0 va 10,0 mkM) foydalanish samaraliroq bo'ldi.

Ushbu ish natijasida biz *L.Inebrians*ning hayotiy mikroo'simtlarini oldik. Eksplantlar sifatida vegetativ o'simlik segmentlaridan foydalanish 12 oylik yetishtirishdan keyin bitta donor o'simlikdan *L.Inebrians*ni olish imkonini berdi.

XULOSALAR

“*Lagochilus inebrians* Bunge o'simligini *in vitro* sharoitida mikroklonal ko'paytirish, saqlash va patogensiz ko'chatlarini olish” mavzusidagi dissertatsiya ishi bo'yicha olib borilgan tadqiqot natijalari asosida quyidagi xulosalar taqdim etildi:

1. Birinchi marta *Lagochilus inebrians* morfogenezi ozuqa muhitining mineral tarkibini o'sish regulyatorlarining bir xil kombinatsiyasi yordamida ko'rsatildi, bunda B5 tarkibli ozuqa muhitda gemogenez, BDS da esa gemmorizogenez jarayoni kuzatildi.

2. *Lagochilus inebrians* Bungeni *in vitro* sharoitda mikroklonlash va rizogenez/organogenez jarayonlari intensivligini oshirish uchun Murasige-Skug ozuqa muhiti tarkibining optimal kombinatsiyasi ishlab chiqildi.

3. *In vitro* sharoitda tabiiy sharoitga nisbatan laboratoriya va issiqxona sharoitida o'sishga moslashgan *Lagochilus inebrians* ontogenetik rivojlanishining tezlashishi aniqlangan.

4. Ilk marta har xil sharoitda (tabiiy, issiqxona va laboratoriya) o'sishga moslashgan *Lagochilus inebrians* Bungeni biotexnologik (*in vitro*) ko'paytirishning optimal sharoiti ishlab chiqildi hamda ozuqa muhitidagi fitogormonlarning maksimal stimulyatsion konsentratsiyasini optimal nisbatlari aniqlandi.

5. *In vitro* sharoitda o'sgan *Lagochilus inebrians* Bungeni tuproqqa ko'chirib o'tqazishda transpiratsiya jarayoni va fotosintetik pigmentlar miqdorining o'zgarishida adaptatsiya dinamikasi ko'rsatildi.

6. *Lagochilus inebrians*ni *in vitro* sharoitda mikroklonal ko'paytirishning optimal muhiti tanlandi, bunda B5 resepti bo'yicha ozuqaviy muhitga 0,1 mkM BAP qo'shish samarali bo'lib, laboratoriya sharoitiga o'sishga moslashtirilgan namunalarini BDS muhitida 5,0 mkM BAP va 2,0 mkM NAA, issiqxona sharoitida moslashtirilgan namunalar uchun - 0,4 mkM BAP, 3,2 mkM NAA va 2,3 mkM IAA qo'shilganda yuqori natijalar olindi.

7. *Lagochilus inebrians* eksplantlarini past haroratda (+7°C) kulturaga kiritish ildiz hosil bo'lish bosqichida rizogenez va o'simlikni o'sish-rivojlanish intensivligini oshirish bilan birga *ex vitro* sharoitga tarkibi kokos qipig'i va qum (3:1) aralashmali substratga o'tqazilganda yuqori darajada moslashish (80-85%) darajasini oshirishi aniqlandi.

8. *Lagochilus inebrians*ni mikroklonal ko'paytirish, saqlash va rivojlantirish bilan bog'liq sxematik tizimni ishlab chiqildi. Sxema birlamchi eksplantni tanlash, ko'paytirish va to'qimalarni *in vitro*da saqlash, ildiz otish, tuproq iqlim sharoitiga

va probirkali o'simliklarni keyingi *ex vitro* sharoitlariga moslashtirishni o'z ichiga oladi.

Lagochilus inebrians Bungeni mikroklonlash uslubi yordamida ko'paytirish biotexnologiyasi yo'lga qo'yildi va amaliyotga tadbiiq etish mexanizmi asosida ishlab chiqarishda foydalanishga tavsiyalar ishlab chiqildi.

ISHLAB CHIQRISHGA TAVSIYA

Maskur tadqiqot natijalariga ko'ra quyidagilarni amaliyotga qo'llash tavsiya etiladi:

Lagochilus inebrians Bungeni mikroklonlashda morfogenetik rivojlanishi va regeneratsiyasi jarayonlarini taminlash uchun MS ozuqa muhiti tarkibida BAP (5 mg/l)+NAA (0,04 mg/l) kombinatsiyadan foydalanish, ya'ni BAP (2 mg/l)+NAA (0,1 mg/l)+GA₃ (30,5 mg/l) kombinatsiyasidan, ildiz hosil bo'lish jarayoni intensivligi yuqori bo'lishi uchun inkubatsiya muhiti tarkibiga IBA (3 mg/l) qo'shilgan holatda qo'llash maqsadga muvofiq.

Lagochilus inebrians Bunge namunalaridan tuproq-iqlim sharoitlariga mos chidamli patogensiz ko'chatlarini olish hamda plantatsiyalarini yaratish asosida farmakologiya sanoatida foydalanish uchun tabiiy xomashyo bazasini yaratishda biotexnologik usullardan foydalangan holda mikroklonal ko'paytirishda MS ozuqa muhiti tarkibida BAP (5 mg/l)+NAA (0,04 mg/l) kombinatsiyadan foydalanish, kulturada o'simtalarni maksimal sonda va uzunlikda hosil qilish uchun: BAP (2 mg/l)+NAA (0,1 mg/l)+GA₃ (30,5 mg/l) kombinatsiyasidan foydalanish, shuningdek, ildiz hosil bo'lish jarayoni intensivligi yuqori bo'lishi uchun inkubatsiya muhiti tarkibiga IBA (3 mg/l) qo'shilgan holatda qo'llash maqsadga muvofiq. Bunda, kurtaklar proliferatsiyasi intensivligi yuqori bo'lishi uchun ozuqa muhiti tarkibiga 6-BAP qo'shilgan holatda foydalanish; kallus to'qima rivojlanishi va proliferatsiyasi intensivligi nisbatan yuqori darajada amalga oshishida MS ozuqa muhitida BAP (0,5-2 mg/l)+NAA (0,25-1,5 mg/l) kombinatsiyadan foydalanish tavsiya etiladi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD. 03/30.12.2019.В.72.02 ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ БУХАРСКОМ
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ**

**САМАРКАНДСКИМ ГОСУДАРСТВЕННЫМ
УНИВЕРСИТЕТОМ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ,
ЖИВОТНОВОДСТВА И БИОТЕХНОЛОГИИ**

СУЛТОНОВА КУМУШ РУЗИМУРОД КИЗИ

**МИКРОКЛОНАЛЬНАЯ РАЗМНОЖЕНИЯ, СОХРАНЕНИЯ И
ПОЛУЧЕНИЕ БЕЗПАТОГЕННЫХ САЖЕНЦЕВ *LAGOCHILUS*
INEBRIANS BUNGE В УСЛОВИЯХ *IN VITRO***

03.00.12 – Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ
ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Бухара – 2023

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером B2022.2.PhD/B767

Диссертационная работа выполнена в Самаркандском государственном университете
ной медицины, животноводства и биотехнологии.

Аннотация диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме))
на веб-странице Научного совета (www.buxdu.uz) и в информационно-образовательном
ZiyoNet» (www.ziyouet.uz).

Научный руководитель:

Кушнев Хабибжон Хожибобоевич
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Муродова Сайёра Собировна
доктор биологических наук, профессор

Тохиров Бахтиёр Бахшиллоевич
кандидат биологических наук, доцент

Ведущая организация:

Каршинский государственный университет

Защита диссертации состоится «20» мая 2023 года в 10.00 часов на заседании
Научного совета PhD.03/30.12.2019.B.72.02 при Бухарском государственном университете. (Адрес:
200117, Бухарская область, г. Бухара, ул. М.Икбол, 11. Тел.: (+99865) 212-29-12; факс: (+99865)
212-29-12; e-mail: bsu_info@edu.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Бухарского
государственного университета (зарегистрировано за № 1449). Адрес: 200117, Бухарская область,
г. Бухара, улица М.Икбола, 11. Тел.: (+99865) 212-29-12.

Автореферат диссертации разослан "5" мая 2023 года.

(реестр протокола рассылки № 9 от «5» мая 2023 года)

Продседатель Научного совета по
присуждению учёных степеней, доктор
биологических наук, профессор

Учёный секретарь Научного совета по
присуждению учёных степеней, кандидат
биологических наук, доцент

Продседатель научного семинара при
научном совете по присуждению учёных
степеней, доктор биологических наук,
профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и необходимость темы диссертации. В мире известно около 500 тыс. видов высших растений, 5% из которых обладают выраженными лекарственными свойствами. На сегодняшний день из лекарственных растений получают 60% фармакологических препаратов, но сырьевая база большинства видов растений недостаточна или приводит к резкому сокращению из-за незапланированного сбора многих видов с природы. Соответственно, важное научно-практическое значение имеет разработка путей выращивания лекарственных растений для обеспечения фармацевтической промышленности фармакологически значимым лекарственным растительным сырьем.

В мире проводятся исследования по изучению биологических свойств перспективных лекарственных растений, выявление их значимости в медицине, их культивирование и размножение, создание сырьевой базы для фармакологической промышленности на основе природных источников. Особое внимание здесь уделяется биотехнологическим научным исследованиям, интродукции (*in situ*) редких и перспективных лекарственных растений, определению морфологической и экологической приспособленности к выбранным почвенно-климатическим условиям, созданию плантаций на основе микроклонального (*in vitro*) размножения и получению саженцев, свободных от патогенов.

В нашей стране особое внимание уделяется созданию природно-сырьевой базы фармацевтической промышленности на основе сохранения и развития генетических ресурсов лекарственных растений. В связи с этим начата инвентаризация полезных видов лекарственных растений, ресурсная оценка и микроклональное размножение перспективных видов на основе биотехнологических методов. В стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены задачи «дальнейшего развития фармацевтической промышленности, обеспечения населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами»¹. Исходя из этих задач, задача рекомендаций по размножению и производству вида *L. Inebrians*, приобретают важное научно-практическое значение.

Указы Президента Республики Узбекистан УП-5032 от 3 мая 2017 года «О создании свободных экономических зон: «Нукус-фарм», «Заамин-фарм», «Касонсой-фарм», «Сырдарья-фарм», «Бойсун-фарм», «Бустонлик-Фарм» и «Паркент-фарм», УП-25229 от 7 ноября 2017 года «О мерах по коренному совершенствованию системы управления фармацевтической отраслью» и Постановлении Президента ПП-2911 от 20 апреля 2017 года «О мерах по созданию благоприятных условий для ускоренного развития

¹ Указ Президента Республики Узбекистана УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года.

фармацевтической промышленности Республики», ПП-4901 от 26 ноября 2020 года «О мерах по расширению масштабов научных исследований по выращиванию, переработке и развитию семеноводства лекарственных растений» и ПП-251 от 20 мая 2022 года «О мерах по организации широкого использования лекарственных растений в выращивании культурном виде, переработке и лечении» и других нормативно-правовых актах, касающихся данной деятельности, в определенной степени будет способствовать проведению данного диссертационного исследования.

Соответствие исследования основным приоритетным направлениям развития науки и техники Республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики «сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. Информацию о химическом составе *L.Inebrians* можно увидеть в исследованиях зарубежных ученых, таких как П.Попа (1976), Н.И.Суперваник (1985), Л.Ю. Изотова и др. (1997, 2004), М.М.Абрамов (1958), W.Sun (1998), J.Harborne, Н.Вахтер, (1999), М.Шибано (2007), В. Ва-бу (2010). Исследования, направленные на изучение биоэкологических свойств и химического состава растений в странах СНГ были произведены под руководством В.А.Куркин (2010), З.Э.Светкова (2014), Л.П. Рибашликова (2014), Н.Х. Рахмонзода (2016), А.С. Чубаровой (2017). В масштабах нашей республики работы по размножению, биоэкологическим свойствам и химическому составу *L.Inebrians* можно увидеть в научных трудах в Зияева Ш.Т., Исламова А.Х. (2008), У.Н.Зайнутдинова, Д.Н.Далимова (2011), А.Д.Матчанова и других (2011), А.Ибрагимова, Д.Далимова, Л.Ю.Изотова, С.А.Талипова, Б.Т.Ибрагимова (2000, 2004), У.Н.Зайнутдинова, С.А.Мавлянова, А.Х.Исламова (2019), Д.Н.Далимова, А.Х. Исламова, М.Б.Гафурова, Н.Л.Виповой, А.Д.Матчанова (2019). Н.У.Мирзаева, С.Д.Гусакова обнаружили флавоноиды и липиды на растениях лебеды, а К.С.Джаунбаева и Р.К.Рахманбердиевы (2017) полисахариды на поверхности Земли.

Однако эти данные в литературе не позволяют рекомендовать широкомасштабное выращивание *L.Inebrians* в условиях нашей республики. Поэтому разработка методов получения беспатогенных саженцев *L.Inebrians* в условиях *in vitro* с использованием биотехнологических методов и выращивания их в почвенно-климатических условиях республики имеет актуальное научное и практическое значение.

Связь исследования с планами научно-исследовательской работы высшего учебного заведения, в котором выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана НИР Самаркандского государственного университета ветеринарии, животноводства и биотехнологии по теме «Разработка технологии

размножения перспективных и редких лекарственных растений *in vitro* на основе биотехнологических методов».

Целью исследования разработка биотехнологии микрклонального размножения перспективного лекарственного растения - *Lagochilus inebrians Bunge in vitro*.

Задачи исследования:

Определение морфогенетического потенциала вегетативных органов и тканей *Lagochilus inebrians Bunge* и регенеративных свойств *in vitro*;

Разработка оптимального сочетания состава питательных сред в условиях *in vitro Lagochilus inebrians Bunge* в процессах микрклонирования и ризогенеза-органогенеза;

Оценка формирования корневой системы и адаптации к условиям *ex vitro* у регенерантов *Lagochilus inebrians Bunge*;

Разработка биотехнологии и оценка экономической эффективности микрклонального размножения *in vitro*, сохранения и обезвреживания проростков *Lagochilus inebrians Bunge*.

Объектом исследований Из лекарственных растений в качестве был выбран вид *Lagochilus inebrians Bunge* из рода *Lagochilus*.

Предметом исследования является разработка механизма микрклонального размножения и получения безпатогенных семян *Lagochilus inebrians Bunge* в условиях *in vitro*, а также внедрение в практику созданных безпатогенных семян на основе адаптации к почвенно-климатическим условиям.

Методы исследования. В исследованиях используются методы микрклонализации, стерилизации, транспирации, спектрофотометрии, ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография), физиологии и биохимии растений и при обработки полученных результатов использован программный пакет SPSS-17. Микро– и макроэлементы, содержащиеся в листьях и корнях картофеля, были определены методом оптической эмиссионной спектрометрии AVIO 200 (ИСП–ОЭС, США).

Научная новизна исследования заключается в следующем:

Впервые разработаны оптимальные условия биотехнологического (*in vitro*) размножения *Lagochilus inebrians Bunge*, адаптированных к росту в различных условиях (природных, тепличных и лабораторных), и определены оптимальные соотношения максимальных стимулирующих концентраций фитогормонов в питательных веществах;

Разработана оптимальная комбинация содержания питательной среды Murasuga-Skuga для повышения интенсивности процессов микрклонирования и ризогенеза в условиях *in vitro*;

Определена динамика адаптации безпатогенных саженцев *L. inebrians*, полученных в условиях *in vitro* методом микрклонирования и пересаженных в почву, в зависимости от процесса пересадки и изменения количества фотосинтетических пигментов;

Выбраны оптимальные условия переноса безпатогенных саженцев *Lagochilus inebrians Bunge* на почву, созданные на основе биотехнологических методов.

Практическими результатами исследования являются:

Были получены безпатогенные саженцы *Lagochilus inebrians Bunge* методом микроклонирования в условиях *in vitro*;

На основе пересадки в почву безпатогенных сеянцев *Lagochilus inebrians Bunge*, полученных методом микроклонирования в условиях *in vitro* была создана первая плантация.

Достоверность результатов исследований. Доказательством полученных результатов является их обсуждение на республиканских и международных конференциях, публикация результатов в рецензируемых научных изданиях. При обработке результатов были учтены интервальные значения достоверности (критерий студента) и проведен статистический анализ данных на основе компьютерной программы Origin Pro 7.5.

Научно-практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследований заключается в выявлении процессов морфогенетического развития и регенерации растения на основе фармакологической (антиоксидантной, спазмолитической) активности *Lagochilus inebrians Bunge in vitro* и подборе оптимальных сочетаний состава питательной среды, а также имеет большое значение в фундаментальных исследованиях в биологии развития растений.

Практическая значимость результатов исследований позволяет разработать рекомендации по микроклональному размножению образцов *Lagochilus inebrians Bunge*, устойчивых к почвенно-климатическим условиям нашей Республики, с использованием биотехнологических методов и созданию плантаций на основе полученных безпатогенных сеянцев и созданию природной сырьевой базы для использования в фармацевтической промышленности.

Введение результатов исследования. На основании научных результатов изучения фармакологических свойств *Lagochilus inebrians Bunge* и микроклонирования и адаптации полученных свободных от патогенов сеянцев к местным почвенно-климатическим условиям:

Свободные от патогенов сеянцы *Lagochilus inebrians Bunge*, выращенные *in vitro*, были высажены и испытаны на сероземных полях фермерского хозяйства «Уйшун тонг замини» Каттакурганского района Самаркандской области (исх. № 07/27-04/7427 от Министерство сельского хозяйства Республики Узбекистан от 12 октября 2022 года). В результате удалось создать питомники лекарственного растения *Lagochilus inebrians Bunge* на сельскохозяйственных полях фермы.

Свободные от патогенов проростки *Lagochilus inebrians Bunge*, полученные *in vitro*, были внедрены в практику на базе лаборатории *in vitro* «Богбон» в Жомбойском районе Самаркандской области (справка № 07/27-

04/7427 Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан от 12 октября 2022 года). В результате всего на выращивание 1000 саженцев лекарственного растения *Lagochilus inebrians* в теплице агрокомплэкса «Vog‘bon» затрачено 2,4 млн сумов, с возможностью получения 3 млн сумов и чистой прибыли 600 тыс. сум, а рентабельность составила 25%.

Полученные результаты по разработке оптимальной технологии размножения *Lagochilus inebrians Bunge in vitro* с использованием биотехнологического метода использованы в лаборатории «САГ Агро» (подготовлено 22 сентября 2022 года совместно с сотрудниками Самаркандской государственной ветеринарной медицины, Университет животноводства и биотехнологии лаборатории «САГ Агро» Самаркандской области 02 - номер документа). В результате удалось увеличить сырьевую базу на основе создания плантации свободных от патогенов саженцев лекарственного растения *Lagochilus inebrians Bunge*.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования обсуждались на 3 международных и 5 республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 5 научных статей, из них 5 статей в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, в том числе 3 в республиканских и 2 в зарубежных журналах.

Структура и объем диссертации. Содержание диссертации состоит из введения, пяти глав, заключительной части, выводов и списка использованной литературы. Объем диссертации-110 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность, необходимость проведенного исследования, описаны цели, задачи, объекты и предметы исследования, изложены приоритеты развития науки и технологий Республики, научная новизна исследования, практические результаты, раскрыта научно-практическая значимость полученных результатов, приведены сведения по внедрению результатов исследования в практику, информация о структуре опубликованных работ и диссертации.

В первой главе диссертации **“Теоретические основы, направления развития и проблемное состояние сохранения и развития биоразнообразия на основе методов *in vitro*”** представлена информация о микрклональном размножении, получении непатогенных саженцев растений в условиях *in vitro* в связи с сохранением и развитием биоразнообразия, а также проанализированы результаты проведенных исследований по выращиванию. На основе анализа данных литературы дан сравнительный анализ научных результатов по выращиванию растений на

основе биотехнологических методов в зарубежных и отечественных условиях.

Вторая глава диссертации под названием **“Микроклональное размножение *Lagochilus inebrians* Bunge in vitro в условиях in vitro”** посвящена изложению данных об объекте исследования, методах исследования. В качестве объекта исследования были использованы образцы, выращенные в полевых, лабораторных и тепличных условиях вида *Lagochilus inebrians* Bunge из семейства Lagochilus.

Исследования проводились в лаборатории «Экспериментальной биологии» Гулистанского государственного университета, Самаркандском государственном университете ветеринарии, животноводства и биотехнологий, а также в лаборатории *in vitro* “Vog‘bon”.

Третья глава диссертации, озаглавленная **“Морфогенетический потенциал и регенеративные свойства вегетативных органов и тканей *Lagochilus inebrians* Bunge в условиях in vitro”**, посвящена изучению результатов влияния питательных элементов на вегетативный период *Lagochilus inebrians*.

Важным аспектом микроклонального размножения растений является выбор первичного экспланта. При этом учитывается как морфогенетический потенциал, так и наличие выбранного источника экспланта. Для получения асептических культур *L. Inebrians* использовались апикальные меристиматические или корневые ткани, что объясняется их высокой регенеративной активностью. При этом в стеблевых культурах растений наиболее характерным является процесс органогенеза, связанный с образованием корневой системы.

Исследования по введению тканей побегов *in vitro* в культуру в качестве первичных эксплантатов проводились с *L. Inebrians*, выращенными в теплице в изолированных условиях. Высокий уровень загрязнения подземных органов привел к необходимости применения жестких режимов стерилизации. В процессе работы был использован раствор с добавлением 70% этанола (30 сек), 0,1% Hg₂Cl и Tween 80 (30 мин) и промыт стерильной водой. При этом показатель неинфицированных эксплантов колебался в пределах 87-96%.

При выращивании в теплице в утепленных условиях *L. Inebrians* первые изменения поверхности побегов и незначительное разрастание отрастающих тканей отмечаются через 15-17 дней, в полевых условиях-через 51-56 дней. В питательной среде возобновление бутонов продолжалось в среднем 12-17 дней, начиная с появления ростка на поверхности через сутки после пересадки и заканчивая формированием первичных вегетативных органов.

На начальном этапе культур *in vitro* развитие каллусной ткани *L. Inebrians* не происходило. Рост почек фиксировали на участке отслоения тканей над поверхностью питательной среды (рис.1).

Питательная среда БДС и Б5 микрозаростков *L. Inebrians* характеризуется сходством скорости образования микросистем инбридинга. При этом в среде

МС отмечается значительное снижение. В среде БДС без контрольного гормона (регенерация-42,7%, количество побегов $4,1 \pm 0,2$ шт./экв.) в течение длительного периода выращивания (два года) наблюдались высокие темпы роста и развития побегов. Это можно объяснить накоплением регуляторов роста, применяемых на начальной стадии развития *in vitro*.



Рис.1. Регенерация почек *Lagochilus inebrians* на поверхности первичного экспланта в среде БДС, заполненной 5,0 мкм БАП и 2,0 мкм НАА, созревание 47 дней.

Добавление в питательную среду БДС регуляторов роста 5,0 мкм ВАР и 2,0 мкм НАА привело к образованию дополнительных побегов на 12-15-й день выращивания, в то время как в питательной среде БДС без гормонов этот период составлял 22-25 дней. Такое сочетание регуляторов роста обеспечивало активную регенерацию: среднее число побегов в каждом экспланте составляло $4,6 \pm 0,4$, частота регенерации-56,3%. Высокие показатели роста и развития также наблюдались в питательных средах БДС с добавлением 10,0 мкм ВАР и 2,0 мкм НАА. При этом степень регенерации составила 66,2%, а на каждом экспланте образовалось $4,0 \pm 0,8$ побега.

Применение низких концентраций ВАР, кинетина и TDZ (0,1 и 0,5 мкм) приводило к образованию желтого, морфогенного каллуса независимо от минерального состава среды. При этом частота образования морфогенной мозоли не превышала 38,0%. Образование побегов на поверхности каллуса наблюдалось только после 5 недель выращивания, что наблюдалось значительно позже, чем в среде с добавлением цитокининов и ауксинов. В дальнейшем из этого вышло 28,0% микро-побегов, т. е. продолжился непрямой органогенез. Образование микротрубочек хорошо проявилось в питательной среде БДС с добавлением 0,5 мкм ТДЗ.

Хотя дисперсионный анализ не выявил значительного влияния факторов окружающей среды на количество образующихся микроядер, было обнаружено, что добавление 5,0 мкм ВАР и 2,0 мкм НАА в питательную среду БДС ускоряет регенерацию почти вдвое по сравнению с контролем и средой, в которую добавляются только цитокинины.

При исследовании минерального состава питательной среды (Б5 и БДС) *L. Inebrians* установлено влияние почек инбридинга на регенерационную активность (табл.1). Одновременно анализировалось влияние регуляторов

роста на количество формирующихся побегов. Более эффективными оказались более низкие концентрации ВАР и ТДЗ (0,1 и 0,5 мкм). Добавление 0,1 мкм БАП в среду по рецепту В5 приводит к разрастанию отслаивающейся ткани и образованию на ее поверхности наибольшего количества отслаивающихся тканей с частотой 56,5% ($5,0 \pm 1,5$ шт/экз.). Это позволило считать среду оптимальной (рис.2).



Рис.2. Случайные почки *Lagochilus inebrians*: а-регенерация побегов на поверхности морфогенного каллуса, среда БДС, заполненная ВАР 0,5 мкм, 31 дневное созревание; б - побеги, образующиеся в разросшихся отростковых тканях, среда В5, заполненная ВАР 0,1 мкм, созревание 23 день

При культивировании *Lagochilus inebrians* в этой питательной среде отмечается образование желто-зеленого морфогенного каллуса (37%), длительное развитие которого (более 40 дней) привело к образованию микротрубочек. Однако частота регенерации побегов на поверхности морфогенного каллуса не превышала 32%. Поэтому в этом средстве была отмечена как прямая, так и косвенная регенерация.

Замещение ауксина с NAA на IAA и минерального основания и с В5 на БДС привело к увеличению частоты образования побегов до 57,9% и активации непрямого гемогенеза и образованию в среднем $2,8 \pm 0,9$ ткани на экспланте (см. табл.1).

При этом при сравнении всех вариантов питательной среды установлено, что частота обновления тканей побегов на минеральной основе В5 выше, более эффективно использование сред, содержащих цитокинины, наряду с ауксинами. Также подтвердило комплексное влияние минеральной основы и регуляторов роста на количество формирующихся побегов *de novo* (см. табл.1). Частота регенерации 80%, количество побегов $2,1 \pm 0,5$ шт./экз. оптимальным было выращивание микроклонов на питательной среде В5 с добавлением 3,2 мкм NAA и 2,3 мкм IAA и 0,4 мкм ВАР.

Как отмечалось, в полевых условиях выращивания *L. inebrians* использование только низких концентраций (0,1 и 0,5 мкм) цитокининов, вызывающих рост побегов в культуре, снизило активность образования побегов у растений.

Таблица 1

Влияние минерального состава питательной среды и регуляторов роста на регенерацию почек *Lagochilus Inebrians* в условиях *in vitro*

Регуляторы роста, мкМ	Минеральная основа			
	БДС		Б5	
	Частота регенерации, %	Случайные почки, штук./эксп.	Частота регенерации, %	Случайные почки, штук./эксп.
Контроль (безгормональная среда)	33,3	2,5±0,3	52,9	1,6±0,3
БАП 0,1		-	25,7	1,8±0,3
БАП 0,5		-	67,0	1,8±0,3
БАП 5,0	45,8	2,1±0,3	37,5	2,0±0,9
БАП 5,0+НУК 2,0	57,9	2,3±0,5	36,6	2,4±0,6
БАП 5,0+НУК 5,0		-	16,1	2,1±0,3
ТДЗ 0,1		-	38,5	1,5±0,3
ТДЗ 0,5	18,2	1,8±0,5	29,0	2,3±0,3
ТДЗ 5,0		-	8,0	1,7±0,4
ТДЗ 5,0+НУК 2,0		-	78,6	2,0±0,6
Кинетин 0,5	21,4	1,6±0,5		-
БАП 5,0+ИУК 5,0	57,9	2,8±0,9		-
БАП 0,4+НУК 3,2+ИУК 2,3		-	80,0	2,1±0,5
Вариант		<i>Ф</i>		<i>p</i>
Минеральная основа		0,3348	0,5636	неверный
Регуляторы роста, мкМ		0,7427	0,5282	неверный
Минеральная основа и регуляторы роста, мкМ		3,0124	0,0320	надежный

Увядание стеблей с развитыми вегетативными частями наблюдалось только через 3-4 месяца созревания. В то же время пересадка его почек для дальнейшего развития в среде без гормонов привела к некрозу тканей. К концу регенерации микрорастения имеют 1-2 ассимилирующих листика, а развитая листовая пластина соответствует ювенильным растениям 2-го года развития (рис.3).



Рис.3. БДС с добавлением 0,4 мкМ БАП + 3,2 мкМ NAA + 2,3 мкМ IAA представляет собой ткань *Lagochilus Inebrians* с развитыми всасывающими листьями в питательной среде, созревание 33 дня.

Таким образом, в питательной среде с добавлением 5,0 мкМ ВАР и 2,0

мкм NAA, первые видимые изменения на поверхности отростка *L. Inebrians* наблюдались на 25-31 день. Локализация процессов регенерации в отслоившихся тканях отмечалась в местах повреждения, а также на неповрежденных участках тканей. Через 2,5-5 недель на питательной среде в микротрубочках исследуемого растения начали формироваться 2-3 листа, которые формировались на отростках (рис.4).



Рис.4. Прямой гомогенез *Lagochilus Inebrians* на поверхности тканей побегов, состояние листообразования на питательной среде Б5 с добавлением 5,0 мкм БАП и 2,0 мкм NAA

По мере развития лист превращался в ткань, приобретая более округлую форму, образуя микротрубочки. Для дальнейшего роста микрорастений характерно зеленоватое окрашивание тканей.

Исходя из сходства процессов органогенеза *in vitro*, *L. Inebrians* как объекта образца данного вида подробно изучен морфогенез побегов в микроклиматах инбридинга.

В четвертой главе диссертации, озаглавленной “Формирование корневой системы и адаптация к условиям *ex vitro* на образцах регенерант *Lagochilus Inebrians*”, приводится аналитическое изложение результатов исследований по адаптации созданных непатогенных саженцев к условиям *ex vitro*.

При выращивании растения в культуре *in vitro* в состав питательной среды добавляли 6-ВАР - 1-3 мг/л; ГК - 0,5-2,0 мг/л; NSK - 0,1-0,3 мг/л или ИМК - 0,1-0,3 мг/л и комплэкс витаминов. Для стимуляции процесса ризогенеза в окружающей среде концентрация макроэлементов и сахарозы была снижена. В качестве индуктора при этом использовался ИМК. Ауксин добавляли в кормовую среду в концентрации 0,2-2 мг/л или инкубировали в растворе экспланта ИМК (50 мг/л) в течение 18 ч и на следующем этапе высевали в кормовую среду без добавления фитогормона (рН=5,5-5,7).

В экспериментах в качестве стимуляторов были испытаны тидиазурон (N-фенил-N'-(1,2,3-тиадиазол-5-Ил) мочевина (ТДЗ), зеатин (1,65-5 мг/л), 2,4-D, ISC (0,1-0,5 мг/л) в различных комбинациях. Использованные фитогормоны и витаминные комплэкссы производства фирмы «Serva» (Германия). Выращивание культуры осуществлялось в лаборатории в течение 16 ч в световом режиме 3000 ЛК в течение суток при температуре t=24-26°С, влажности 60%.

В опытах показано, что в условиях применения комбинации ВАР (5

мг/л)+NAA (0,04 мг/л) в составе питательной среды МС в условиях *in vitro* интенсивность образования каллусной ткани из листовой пазухи выше, чем в условиях ВАР (2 мг/л)+NAA (0,1 мг/л)+GA3 (30,5 мг/л) и было установлено, что в комбинации в культуре образуются наросты в максимальном количестве и длине, а также интенсивность процесса корнеобразования выше в случае добавления в состав инкубационной среды ИВА (3 мг/л). Отмечено, что интенсивность пролиферации побегов выше в том случае, когда в состав питательной среды добавлен элемент б.

В условиях *in vitro* фитогормоны использовались для формирования каллусной ткани. Правильный выбор типов фитогормонов и их сочетаний в составе питательной среды на данном этапе имеет важное значение для обеспечения оптимальности процесса. В наших исследованиях были проверены комбинации ВАР (1-5 мг/л)+NAA (0,4 мг/л) и МС +2,4-D (1-5 мг/л) в питательной среде МС для индукции ткани каллуса в различных исходных эксплантатах, перечисленных выше. В экспериментах растительные экспланты помещали в стеклянные бутылки (275 мл), помещенные в питательную среду объемом 25 мл.+20 - +25 инкубировали в течение 4 недель при температуре 16°С, круглосуточном освещении и 8 ч в темноты).

В исследованиях установлено, что интенсивность развития и пролиферации каллусной ткани в сочетании ВАР (0,5-2 мг/л)+NAA (0,25-1,5 мг/л) в условиях низкой питательной среды осуществляется на относительно высоком уровне (рис.5).

В исследованиях отмечается высокая интенсивность корнеобразования в сочетании NAA (0,5-3 мг/л)+ ИВА (0,5-3 мг/л), а также NAA (0,5-3 мг/л)+ ИВА (0,5-3 мг/л)+активированный уголь (3 г/л) в питательной среде по ½ МС.

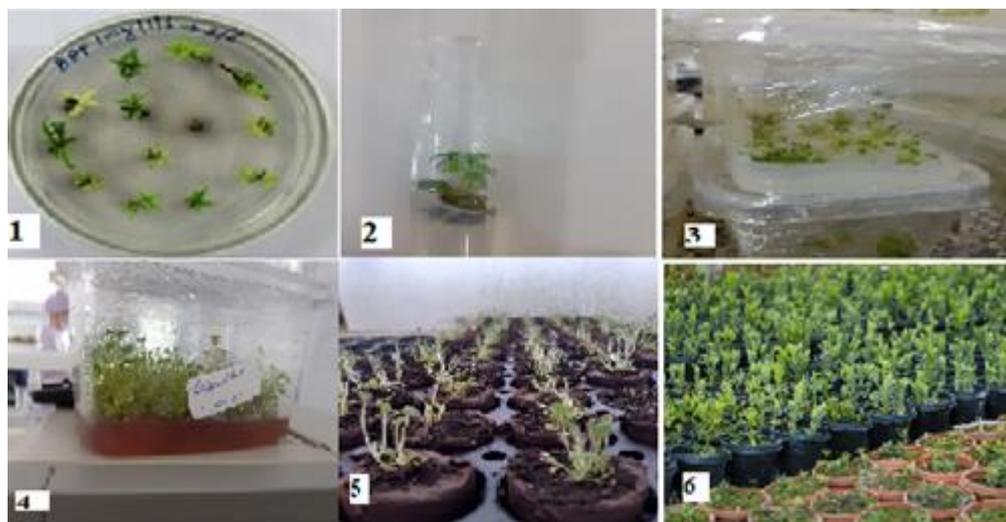


Рис.5. Микрклональное размножение *Lagochilus inebrians in vitro* и адаптация к почвенным условиям

1-2 – каллус, образовавшийся из эксплантата, 3 – стеблевые образования; 4 - укореняющийся отросток; 5 – кондиционер; 6-готовая рассада

Рассаду, полученную в условиях *in vitro*, поэтапно переносили в почву. Для этого растение, полученное *in vitro*, высаживают в субстрат в теплице. Субстрат состоит из двух слоев песка и древесных опилок. Верх субстрата-

обычный субстрат, в поверхностный слой укладывают древесные опилки.

В условиях *in vitro* установлено, что пролиферация каллусной ткани *L.Inebrians* оптимально осуществляется в составе питательной среды МС в комбинации ВАР (1 мг/л)+NAA (1 мг/л) . В варианте сочетания ВАР (2 мг/л)+NAA (0,1 мг/л)+GA3 (0,5 мг/л) отмечается относительно высокая интенсивность корнеобразования. Было отмечено, что в условиях питательной среды WPM при наличии комбинации кинетина (2,3-18,4 мкм)+1-нафталина уксусной кислоты (0,54 мкм) интенсивность регенерации выше, чем в питательной среде МС. Для интродукции *L.Inebrians* были созданы способы размножения методом *in vitro*.

Следует отметить, что растения в изученных экземплярах легко приживаются в среде с добавленным гормоном и на безгормональной среде. Средняя частота укоренения у всех протестированных образцов составила 81,3% (рис.6). 100% - ное укоренение в микрорастениях *L.inebrians* получали только в присутствии ауксинов в концентрации 5,0 мкм в минеральных основах МС ½ БДС и ½ , IAA, IBA. Наиболее эффективным средством для стимуляции ризогенеза у *L.inebrians* было ½ Б5, заполненное 5,0 мкм NAA (рис.7).

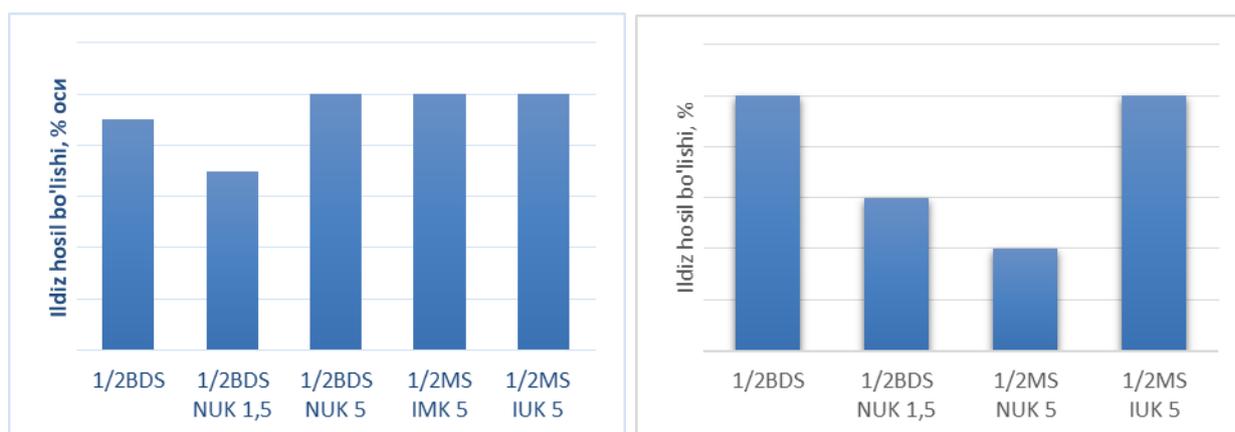


Рис. 6. Образцы, выращенные в лабораторных условиях в стерильной среде (1) и выращенные в тепличных условиях (2)

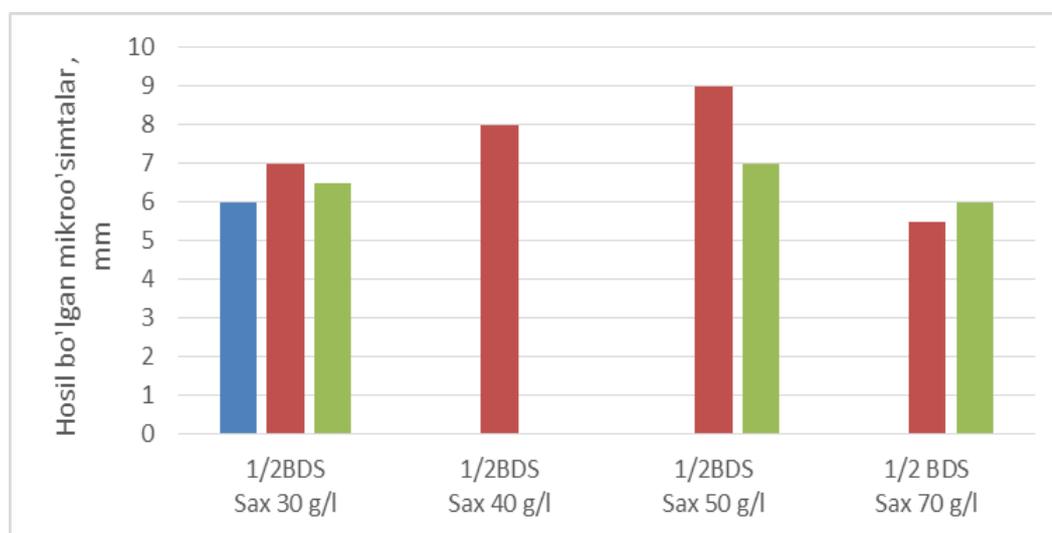


Рис. 7. Влияние концентрации сахарозы на развитие растения *L.inebrians*, выращенная в лабораторных (1), тепличных (2), природных (3) условиях.

Тип используемых ауксинов не влиял на активность ризогенеза. Можно только показать, что в питательной среде где имеется 5,0 мкм NAA, IAA или iMac, наблюдалось образование корней по сравнению с средой без гормонов и средой с низким содержанием NAA (1,5 мкм).

Адаптация регенерантов исследуемых образцов в лабораторных и тепличных условиях при температуре $+23\pm 2^{\circ}\text{C}$ и в световой период не сопровождалась развитием новых листьев и приводила к замедлению роста.

В пятой главе диссертации, озаглавленной **“Использование биотехнологических методов в практической деятельности по селекции зайцеобразных зайцеобразных”**, изложены результаты исследования перспектив использования в производстве непатогенных проростков, полученных на основе биотехнологических методов.

Для получения асептических культур были использованы сегменты образцов растений, при этом был применен метод эффективной поверхностной стерилизации - добавление 70% этанола (30 сек) + 0,1% HgCl_2 Tween 80 (30 мин). При этом стерильность первичных эксплантов достигала 81-88%.

Стерильные фрагменты исследуемых растений (5×5 мм) помещали в питательную среду агар-агар Б5 и БДС с добавлением регуляторов роста ауксина и цитокинина (табл.3). При выращивании первичных отростков на индукционной среде отмечается незначительное разрастание тканей и в редких случаях образование каллуса. Появление первых наростов на поверхности первичного отростка отмечается на 15-17-й день после введения в питательную среду, еще через 2,5-3 недели наблюдаются хорошо сформированные микроразрезы (до 3,5 мм) (табл. 2)

Выявлены различия в интенсивности образования случайных микроразрезов при культивировании *in vitro*. Из тканей первичных отростков *de novo* формируется минимальное количество почек, приспособленных к росту в тепличных условиях что типично для *L.inebrians* ($1,7\pm 0,8$ ед./эксп.).

Таблица 2

Влияние питательных компонентов на дополнительную регенерацию тканей у образцов *Lagochilus inebrians*

Питательная среда	Приспособленный к лабораторию <i>L.inebrians</i>		Приспособленный к теплицы <i>L.inebrians</i>		Приспособленный к полевым условиям <i>L.inebrians</i>	
	Частота регенерации,%	Случайные почки, штук.,эксп.	Частота регенерации,%	Случайные почки, штук.,эксп.	Частота регенерации, %	Случайные почки, штук.,эксп.
V ₅ +БАП 5,0+ НУК 2,0	51,2	2,5±0,5	-		65,4	2,1±0,7
V ₅ +БАП 0,4+ НУК 3,2+ ИУК 2,3	48,4	2,8±0,7	39,3	1,7±0,8	42,1	1,9±0,9

Примечание: "- " - нет данных

Заметного влияния компонентов питательной среды на количество микроростов *L.inebrians*, в которых происходит инбридинг, не

наблюдалось (табл.3). На каждом экспланте всех изученных экземпляров образовалось в среднем по 2,5 побега. В питательной среде БДС, содержащей 5,0 мкМ ВАР и 2,0 мкМ НАА, наблюдалось некоторое снижение образования побегов.

При анализе зависимости частоты регенерации от компонентов среды установлено, что применение минеральной основы В5 приводит к более активному восстановлению тканей. Максимальная частота образования случайных побегов (63,6%) зафиксирована в среде В5 с добавлением 0,1 мкМ ВАР. Было отмечено, что такой вариант питательной среды является оптимальным показателем для микроразмножения *L.inebrians* в естественных условиях.

На стадии истинного размножения возобновление *L.inebrians* продолжалось непосредственно по пути геммогенеза. Развивающиеся придаточные ткани характеризуются самопроизвольным укоренением в среде размножения, образовалось 3-4 корня с корневыми волосками.

Таблица 3

Влияние компонентов питательной среды на регенерацию адвентивных микропочек *L.inebrians*

Питательная среда	Частота регенерации, %	Случайные почки, штук.\эксп.
БДС (контроль)	30,9	2,7±0,6
БДС +0,1 мкМ БАП	28,8	2,4±0,3
БДС +5,0 мкМ БАП+2,0 мкМ НУК	30,0	1,9±0,3
В5 (контроль)	21,0	2,5±0,5
В5+0,1 мкМ БАП	63,6	2,6±0,6
В5+0,4 мкМ БАП + 3,2 мкМ НУК+2,3 мкМ ИУК	43,4	2,6±0,5
В5+ 3,2 мкМ НУК+2,3 мкМ ИУК	53,5	2,6±0,4

На стадии размножения экземпляров *L.inebrians*, приспособленных к выращиванию в тепличных условиях, в процессе микроразмножения *L.inebrians* использовались среды, в которых наблюдался наибольший потенциал регенерации (табл.4). Отмечено, что для *L. inebrians*, произрастающих в естественных условиях, характерно более активное возобновление микроростов. Было замечено, что микрорастения *L.inebrians* на этом этапе не подвергались дифференцировке тканей и спонтанному ризогенезу.

Таблица 4

Влияние питательных компонентов на регенерацию тканей *L.inebrians*

Образцы	Количество случайных почек, штук\эксп	
	БДС +5,0 мкМ БАП+ 2,0 мкМ НУК	В5+0,4 мкМ БАП + 3,2 мкМ НУК+2,3 мкМ ИУК
<i>L.inebrians</i> , приспособленный к росту в теплице	1,9±0,6	-
<i>L.inebrians</i> приспособленный к росту в полевых условиях	2,7±0,9	2,8±0,6

Примечание: "-" - нет данных

При сравнении эффективности использования различных минеральных оснований при разведении микрорастений *L.inebrians* был отмечен более активный геммогенез в питательной среде по рецепту БДС. Применение TDZ как в сочетании с ауксинами, так и без них оказалось более эффективным, чем ВАР. Однако максимальная скорость регенерации (100%) была получена в питательной среде Б5, заполненной 5,0 мкм ВАР и 2,0 мкм NAA. Такое сочетание регуляторов роста обеспечило образование $2,9 \pm 1,1$ микровыростов в каждом экспланте. Доказано, что такое сочетание регуляторов роста эффективен для микроразмножения образцов *L.inebrians*, которая растет в естественных условиях. При этом, в отличие от других исследованных образцов, использование более высоких концентраций цитокининов (5,0 и 10,0 мкм) оказалось более эффективным.

В результате этой работы мы получили активные микровыросты *L.inebrians*. Использование вегетативных сегментов растений в качестве трансплантатов после 12 месяцев выращивания из одного растения-донора позволило получить *L.inebrians*.

ВЫВОДЫ

По результатам диссертационной работы на тему «Микроклональная репродукция *in vitro*, сохранение и получение безпатогенных семян растения *Lagochilus inebrians Bunge*» представлены следующие выводы:

1. Впервые морфогенез *L.inebrians* был продемонстрирован с использованием той же комбинации регуляторов роста минерального состава питательной среды, при которой в питательной среде с содержанием Б5 наблюдался процесс геммогенеза, а в БДС -геморизогенеза.

2. Разработана оптимальная комбинация состава питательной среды Мурасиге-Скуга для повышения интенсивности процессов микроклонирования и ризогенеза/органогенеза *Lagochilus inebrians Bunge* в условиях *in vitro*.

3. В условиях *in vitro* выявлено ускорение онтогенетического развития *Lagochilus inebrians*, приспособившихся к выращиванию в лабораторных и тепличных условиях по сравнению с природными.

4. Впервые разработаны оптимальные условия биотехнологического (*in vitro*) размножения *Lagochilus inebrians Bunge*, приспособленного к выращиванию в различных условиях (природных, тепличных и лабораторных), и определены оптимальные соотношения максимальных концентраций стимулирующих фитогормонов в питательной среде.

5. Показана адаптивная динамика процесса транспирации и изменения количества фотосинтетических пигментов при пересадке *Lagochilus inebrians Bunge*, выращенного в условиях *in vitro* на почву.

6. Выбрана оптимальная среда микроклонального размножения *L.inebrians* в условиях *in vitro*, при которой эффективно добавление 0,1 мкм ВАР в питательную среду по рецепту Б5, а для образцов, адаптированных к лабораторным условиям роста, - 5,0 мкм ВАР и 2,0 мкм NAA в среду БДС, а для образцов, адаптированных к тепличным условиям, - 0,4 мкм ВАР, 3,2 мкм NAA и 2,3 мкм IAA.

7. Установлено, что введение в культуру эксплантов *Lagochilus inebrians* при низкой температуре (+7°C) повышает степень ризогенеза на стадии корнеобразования и высокую степень адаптации (80-85%) растения к условиям *ex vitro* при переводе его в субстрат со смесью кокосовых опилок и песка (3:1).

8. Была разработана схематическая система, связанная с микроклональным размножением, содержанием и развитием *Lagochilus inebrians*. Схема включает отбор первичного эксплантата, размножение и поддержание тканей *in vitro*, укоренение, адаптацию к почвенно-климатическим условиям и последующие условия *ex vitro* пробирочных растений.

Установлена биотехнология размножения *Lagochilus inebrians Bunge* методом микроклонирования и разработаны рекомендации по его использованию в производстве на основе механизма реализации.

РЕКОМЕНДАЦИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЮ

По результатам исследований рекомендуется применять на практике следующее:

Использование комбинации БАП (5 мг/л)+НУК (0,04 мг/л) в питательной среде МС для обеспечения процессов морфогенетического развития и регенерации *Lagochilus inebrians Bunge* при микроклонировании *in vitro*, т.е. БАП (2 мг/л)+Использование комбинации НУК (0,1 мг/л) + ГКЗ (30,5 мг/л) с добавлением ИМК (3 мг/л) в инкубационную среду для повышения интенсивности процесса укоренения вполне целесообразно.

С целью создания природно-сырьевой базы для использования в фармацевтической промышленности на основе получения безпатогенных проростков *Lagochilus inebrians Bunge*, пригодных для почвенно-климатических условий и создания насаждений с использованием биотехнологических методов микроклонального размножения, питательная среда МС содержит БАП (5 мг/л)+НУК (0,04 мг/л) с использованием комбинации для получения максимального количества и длины побегов в культуре: БАП (2 мг/л)+НУК (0,1 мг/л)+GA3 (30,5 мг/л) комбинация также целесообразно его применение при внесении ИМК (3 мг/л) в среду инкубации для повышения интенсивности процесса корнеобразования. В этом случае с помощью б-БАП добавляют в питательную среду для увеличения интенсивности пролиферации побегов; рекомендуется использовать комбинацию БАП (0,5-2 мг/л)+НУК (0,25-1,5 мг/л) в питательной среде МС при относительно высокой интенсивности развития и пролиферации каллусной ткани.

**BUKHARA STATE UNIVERSITY, SCIENTIFIC DEGREE
GRANDER PhD.03/30.12.2019.B.72.02
DIGITAL SCIENTIFIC COUNCIL**

**SAMARKAND STATE UNIVERSITY OF VETERINARY
MEDICINE, ANIMAL HUSBANDRY AND BIOTECHNOLOGY**

SULTONOVA KUMUSH RUZIMUROD KIZI

**MICROCLONAL PROPAGATION, PRESERVATION AND
PRODUCTION OF PATHOGENIC SEEDLINGS OF *LAGOCHILUS
INEBRIANS BUNGE* UNDER *IN VITRO* CONDITIONS**

03.00.12 – Biotechnology

**DISSERTATION ABSTRACT OF DOSTOR OF PHILOSOPHY (PhD) ON
BIOLOGICAL SCIENCES**

Bukhara – 2023

The theme of the doctor of philosophy (PhD) dissertation was registered at the Supreme Commission at the under the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan B2022.2.PhD/B767

The dissertation work was carried out jointly with the Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology.

The abstract of the dissertation is in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)). It is posted on the website of the Scientific Council (www.buxdu.uz) and on the "ZiyoNet" Information and Education portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor

Khushiev Khabibjon Hojiboboyevich
doctor of biological sciences, professor

Official opponents

Muradova Sayyora Sobirovna
doctor of biological sciences, professor

Takhirov Bakhtiyar Bakhshiloyevich
Candidate of biological sciences, associate professor

The leading organization

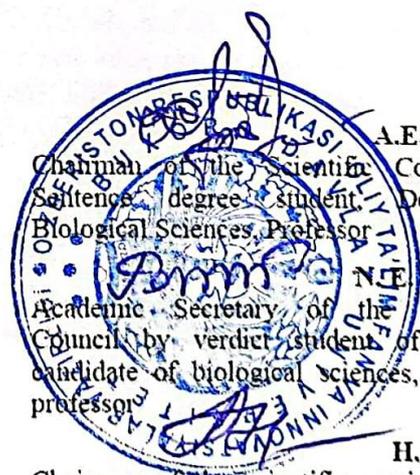
Karshi State university

The defense of the dissertation will be held at the meeting of the Scientific Council under the Bukhara State University Ph.D. (Address: 200117, Bukhara city, M. Iqbal str., 11. Tel.: (+99865) 212-29-12; fax: (+99865) 212-29-12; e-mail: bsu_info@edu.uz).

The dissertation can be viewed at the Information Resource Center of Bukhara State University (registered with the number 1449. Address: 200117, Bukhara city, M. Iqbal street, 11. Tel.: (+99865) 212-29-12; fax: (+99865) 212-29-12).

The abstract of the dissertation was distributed on "5" may, 2023.

(Report of the digital register # 9 on 5.may of 2023).



A.E. Kholliiev
Chairman of the Scientific Council on Sentences of degrees of the Bukhara State University, Doctor of Biological Sciences, Professor

N.E. Rashidov
Academic Secretary of the Council by verdict student of degrees, candidate of biological sciences, associate professor

H. Artikova
Chairman of the scientific seminar at the scientific council by verdict student of degrees, Doctor of Biological Sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of doctoral (PhD) dissertation)

The aim of the research work. The aim of the study is to develop and implement the biotechnology of microclonal reproduction of a promising medicinal plant - *Lagochilus inebrians* Bunge *in vitro*.

The object of study was the species *Lagochilus inebrians* Bunge from the genus *Lagochilus*.

The scientific novelty of the research work is as follows:

For the first time, the optimal conditions for the biotechnological (*in vitro*) reproduction of *Lagochilus inebrians* Bunge adapted to growth in different conditions (natural, greenhouse and laboratory) were developed and the optimal ratios of the maximum stimulating concentration of phytohormones in the nutrient medium were determined;

In order to microcloning *L. Inebrians* *in vitro* and to increase the intensity of rhizogenesis-organogenesis processes, the optimal combination of Mursiga-Skuga nutrient medium composition was developed;

Adaptation dynamics according to changes in the transpiration process and the amount of photosynthetic pigments were determined in *L. Inebrians* obtained by microcloning *in vitro* conditions and transplanted into the soil;

Optimal conditions were selected based on the transplantation of pathogen-free seedlings of *Lagochilus inebrians* Bunge, created on the basis of biotechnological methods, into the soil.

Introduction of research results. Based on the scientific results of the pharmacological properties of *Lagochilus inebrians* and the microcloning and adaptation of the obtained pathogen-free seedlings to the local soil and climate conditions:

Pathogen-free seedlings of *Lagochilus inebrians*, grown *in vitro*, were planted and tested on the gray soil fields of the farm "Uyshun tong zamini" of the Kattakurgan district of the Samarkand region (reference No. 07/27-04/7427 of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan dated October 12, 2022). As a result, it was possible to establish nurseries of the medicinal plant *Lagochilus inebrians* in the agricultural fields of the farm.

Pathogen-free seedlings of *Lagochilus inebrians* obtained *in vitro* were put into practice on the basis of the *in vitro* laboratory "Bog'bon" in Jomboy district of Samarkand region (reference No. 07/27-04/7427 of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan dated October 12, 2022). As a result, a total of 2.4 million soums were spent on the cultivation of 1000 seedlings of the medicinal plant *Lagochilus inebrians* Vunge in the greenhouse of the "Bog'bon" agrocomplex, with the possibility of earning 3 million soums and a net profit of 600 thousand soums, and the profitability rate was 25%. organized.

The structure and scope of the dissertation. The content of the dissertation consists of an introduction, five chapters, a concluding part, conclusions and a list of references. The volume of the dissertation is 110 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; part I)

1. Султонова К.Р., Қушиев Ҳ.Ҳ. Лагохилус (*Lagochilus inebrians*) ўсимлигини микроклонал кўпайтириш //Ўзбекистон фанлар академияси Қорақалпоғистон филиали Ахборотномаси. – Нукус, 2022 йил. №2.- Б.119-124.

2. Султонова К.Р., Қушиев Ҳ.Ҳ., Рўзиқулова З.У. *In vitro* усулларида фойдаланган ҳолда *Lagochilus inebrians Bunge* ни микроклонал кўпайтириш асосида патогенсиз кўчатларини олиш // Агро илм журнали.- Тошкент, 2022. №5. -Б. 35-39.

3. Sultonova K.R. “*In vitro* sharoitda *Lagochilus inebrians Bunge* o‘simligini mikroklonal ko‘paytirish” Xorazm Ma‘mun akademiyasi axborotnomasi: ilmiy jurnal.-Xiva, 2023. -№ 2/1. -B.28-30.

4. Sultonova K., Kushiev H.H. Obtaining pathogen-free seedlings based on microclonal propagation of *Lagochilus inebrians Bunge* using *in vitro* methods // International Journal of Genetic Engineering. -USA, 2022, 10(1): -P. 10-15.

II бўлим (II часть; Part II)

5. Султонова К.Р., Кушиев Х.Х. Микроклональное размножение *Lagochilus inebrians Bunge* в условиях *in vitro*// Бюллетень науки и практики.- Москва, 2022, -Т. 8. -№9: -С. 79

6. Султонова К.Р., Ходжаева Н.Ж., Кушиев Х.Х. Микроклонирование трудно размножаемых лекарственных растений в условиях *in vitro*// Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах: тези доп. II міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 3-4 червня 2021 р. – Дніпро, Україна, 2021. - С. 435-436.

7. Султонова К.Р., Азаматов Ш.У., Кушиев Х.Х. Каллусообразование растения *Lagochilus inebrians in vitro* и зависимость процесса укоренения от питательных сред// Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры: Материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. -2022.- С. 171-174.

8. Sultonova K.R., Khushiev H.H., Kadirov B.E. Root system formation and adaptation to *ex vitro* conditions in regenerant *Lagochilus inebrians Bunge* samples // International Conference on Developments in Education.- Hosted from Saint Petersburg, Russia, 2022.- P. 43-48.

9. Султонова К.Р. *Lagochilus inebrians*ни *in vitro* шароитида етиштириш ва *ex vitro* шароитига мослаштирилган регенерантларини олиш// Международная научно-техническая конференция «Современные проблемы

экологии и охраны окружающей среды и биотехнологии». Ташкент-2022.- С. 623-625.

10. Султонова К.Р. *In vitro* шароитида доривор ўсимликларнинг регенерант тўқима ва вегетатив таналарини олиш истиқболлари// Ветеринария медицинаси ҳам шарўашылықта заманагөй жетискенликлер ҳам инновациялар республикалық илимий ҳам илимий техник конференция материаллары топламы, Нукус -2021, 21-октябр.-Б. 202-204.

11. Султонова К.Р. *In vitro* шароитида *Lagochilus inebrians* каллус тўқима кўпайиш интенсивлигида озуқа муҳитларининг аҳамияти // «Иқлим ўзгариши шароитида лалми майдонлар учун қурғоқчиликка чидамли экин навларини яратиш ва етиштириш агротехнологияси» Республика илмий-амалий анжумани илмий мақолалар тўплами.-Тошкент, 2022. 30-май.-Б. 326-328.

12. Султонова К.Р., Кадиров Б.Э. *In vitro* шароитида *Lagochilus inebrians* ўсимлигини микрокланал кўпайтириш ва бунда озиқа муҳитларининг аҳамияти // Қишлоқ хўжалигида инновацион технологияларни ишлаб чиқариш ва жорий этишнинг истиқболдаги вазифалари. Республика илмий-амалий конференцияси материаллари. - Самарқанд, 2022. -Б. 32-34.

Avtoreferat “Durdona” nashriyotida tahrirdan o‘tkazildi hamda o‘zbek, rus va ingliz tillaridagi matnlarning mosligi tekshirildi.

Bosishga ruxsat etildi: 01.05.2023 yil. Bichimi 60x84 $\frac{1}{16}$, «Times New Roman» garniturada raqamli bosma usulida bosildi.
Shartli bosma tabog‘i 3,0 Adadi: 100 nusxa. Buyurtma №209.

Guvohnoma AI №178. 08.12.2010.
“Sadriiddin Salim Buxoriy” MChJ bosmaxonasida chop etildi.
Buxoro shahri, M.Iqbol ko‘chasi, 11-uy. Tel.: 65 221-26-45

