

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI QOSHIDAGI
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**SHAROF RASHIDOV NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT
UNIVERSITETI**

ESHBEKOVA GULJAXON G‘OFUR QIZI

***JUGLANS REGIA L.* NING *AGROBACTERIUM TUMEFACIENSGA*
CHIDAMLI MAHALLIY FORMALARINI TANLASH VA
MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH**

03.00.12–Biotexnologiya

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

Toshkent – 2025

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Eshbekova Guljaxon G‘ofur qizi

Juglans regia L. ning *Agrobacterium tumefaciens* ga chidamli mahalliy formalarini tanlash va mikroklonal ko‘paytirish.....3

Эшбекова Гулжахон Гофур кизи

Отбор и микроклональное размножение устойчивых к *Agrobacterium tumefaciens* местных форм *Juglans regia* L.....21

Eshbekova Guljakhon Gofur kizi

Selection and micropropagation of local forms of *Juglans regia* L. resistant to *Agrobacterium tumefaciens*.....39

E‘lon qilingan ishlar ro‘uxati

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI QOSHIDAGI
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**SHAROF RASHIDOV NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT
UNIVERSITETI**

ESHBEKOVA GULJAXON G‘OFUR QIZI

***JUGLANS REGIA* L.NING *AGROBACTERIUM TUMEFACIENSGA*
CHIDAMLI MAHALLIY FORMALARINI TANLASH VA
MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH**

03.00.12- Biotexnologiya

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

Toshkent – 2025

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2023.3.PhD/B999 raqami bilan ro'yxatga olingan

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universitetida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume)) Ilmiy kengashning veb-sahifasi (www.tiame.uz) va "Ziyonet" Axborot ta'lim portalida (www.ziyonet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Ismailov Zafar Fayzullayevich
biologiya fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

Shapulatov Umidjon Muxammedovich
biologiya fanlari doktori

Qosimov Diyorbek Ilhom o'g'li
biologiya fanlari falsafa doktori

Yetakchi tashkilot:

O'simlik genetik resurslari ilmiy tadqiqot instituti

Dissertatsiya himoyasi "TIQXMMI" Milliy tadqiqot universiteti qoshidagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar instituti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi DSc.03/14.07.2022.b/qx.10.06 raqamli Ilmiy kengashning 2025-yil «14» 02 kuni soat 16⁰⁰ dagi onlayn majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 100000, Toshkent shahri, Qori Niyoziy ko'chasi, 39-uy, Tel.:(+99871) 237-19-31, faks:(+99871)237-38-79; e-mail: ifar@tiame.uz)

Dissertatsiya ishi bilan "TIQXMMI" Milliy tadqiqot universiteti qoshidagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar institutining axborot resurs markazida tanishish mumkin (№ 356 raqami bilan ro'yxatga olingan) (Manzil: 100000, Toshkent shahri, Qori Niyoziy ko'chasi, 39-uy, Tel.:(+99871) 237-19-31, faks:(+99871)237-38-79; e-mail: ifar@tiame.uz)

Dissertatsiya avtoreferati 2025-yil «31» 01 kuni tarqatildi.
(2025-yil «31» 01 dagi 2 raqamli reestr bayonnomasi).



D.R. Egamberdiyeva

D.R. Egamberdiyeva
Ilmiy daraja beruvchi
Ilmiy kengash raisi, q.x.f.d.

Sh.N. Kuziyev

Sh.N. Kuziyev
Ilmiy daraja beruvchi
Ilmiy kengash ilmiy kotibi,
PhD, dotsent

F.N. Kushanov

F.N. Kushanov
Ilmiy darajalar beruvchi
Ilmiy kengash huzuridagi
Ilmiy seminar raisi, b.f.d., professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Bugungi kunda dunyoda oziq-ovqat xavfsizligi global ahamiyatga ega bo'lib, insoniyatning barqaror rivojlanishi uchun asosiy masalalardan biridir. Aholi sonining o'sishi, iqlim o'zgarishi va tabiiy resurslarning kamayishi oziq-ovqat yetishmovchiligi xavfini kuchaytirmoqda. Ma'lumotlarga ko'ra, keyingi yillarda yer yuzida oziq-ovqat xavfsizligi barqarorligini ta'minlash borasidagi muammolar inson salomatligi va iqtisodiy rivojlanishga jiddiy ta'sir ko'rsatmoqda. Bu muammoni hal qilishda ekologik toza qishloq xo'jaligi uchun sharoitlar yaratish, shuningdek, o'simlik kasalliklariga qarshi kurashish, samarali va barqaror oziq-ovqat yetishtirish texnologiyalarini joriy qilish muhimdir. Shu bilan birga, mahalliy darajada qishloq xo'jaligini qo'llab-quvvatlash orqali jamiyatni oziq-ovqat bilan ta'minlash masalalarini barqaror rivojlantirish dolzarb ahamiyat kasb etadi.

Jahonda oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlash maqsadida ekinlar va mevali daraxtlarning kasalliklarga chidamli navlarni yaratish, hamda ularni keng miqyosda qo'llash bo'yicha tadqiqotlar izchil amalga oshirilmoqda. Bu borada, ozuqaviy qiymati yuqori bo'lgan mevali o'simliklar, jumladan, yong'oqning kasalliklarga bardoshli navlarini tanlash, ko'paytirish va iqlimlashtirish muhim vazifalardan biri hisoblanadi. Kasallangan daraxtlardan ajratib olingan virulentligi yuqori bakteriya izolyatlari yordamida bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy nav va formalarini tanlash, ularni *in vitro* usulida ko'paytirishning optimal sharoitlarini tanlash, kasallikka chidamli mahalliy nav hamda formalarini mikroklonal usulda ko'paytirish texnologiyasini ishlab chiqish orqali sog'lom ko'chatlardan iborat yong'oqzorlarni yaratish borasidagi ilmiy yechimlarni asoslashga qaratilgan tadqiqotlarga alohida e'tibor qaratilmoqda.

Respublikamizda bog'dorchilik, xususan, yong'oqchilikni barqaror rivojlantirish bo'yicha bir qancha chora tadbirlar amalga oshirilmoqda. Jumladan, xorijiy mamlakatlardan keltirilgan yong'oq navlarini iqlimlashtirish orqali plantatsiyalar yaratish bo'yicha muayyan natijalarga erishildi. O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020-2030-yillarga mo'ljallangan Strategiyasida ¹«qishloq xo'jaligi mahsulotlari yetishtiruvchilarning talablari asosida viruslardan xoli, yuqori hosilli sertifikatlangan urug' va ko'chatlarni yetishtirish va yetkazib berish tizimini samarali yo'lga qo'yish» bo'yicha maqsad va vazifalar belgilab berilgan. Ushbu vazifalarni amalga oshirish, jumladan, istiqbolli *Juglans regia* L. ning kasalliklarga bardoshli mahalliy nav va formalarini mikroklonal usulda ko'paytirish orqali ko'chatlarini yetishtirish texnologiyasini ishlab chiqish va amaliyotda qo'llashning biotexnologik asoslarini yaratish dolzarb ilmiy-amaliy ahamiyatga ega.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020-yil 13-oktyabrdagi "O'simliklar karantini bo'yicha davlat xizmati faoliyatini yanada takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi PQ-4861-sonli qarori, 2020-yil 25-noyabrdagi "Biotexnologiyalarni rivojlantirish va mamlakatning biologik xavfsizligini

¹ O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 23-oktabrdagi "O'zbekiston respublikasi qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020-2030-yillarga mo'ljallangan strategiyasini tasdiqlash to'g'risida"gi PF-5853-sonli Farmoni.

ta'minlash tizimini takomillashtirish bo'yicha kompleks chora-tadbirlar to'g'risida"gi PQ-4899-sonli qarori, 2021-yil 15-iyuldagi "Respublikada o'simliklar karantini va himoyasi tizimini tubdan takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi PF-6262-sonli farmoni hamda boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishda ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining asosiy ustuvor yo'nalishlariga mos kelishi. Mazkur dissertatsiya tadqiqoti respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining V. "Qishloq xo'jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi" ustuvor yo'nalishiga mos ravishda bajarilgan.

Muammoning o'rganilganlik darajasi. Xorijiy adabiyot va manbalarda *Juglans regia* L. ning butun dunyo bo'ylab keng qo'llanilayotgan navlarning xususiyatlari (R.Romano va boshq., 2022, K.Vahdati va boshq., 2016, A.N.Bilgin 2022), turli zamburug'lar bilan kasallanishi, ularga qarshi kurash choralari (H.Saremi, M.E. Amiri, 2010; V.A. Arnaudov, 2014; M.Hassan, K.Ahmad, 2017), bakterial kasalliklar bilan kasallanishi (D.Frutos, 2010; G.Bujdosó, 2022, C.Moragrega va boshq. 2023, L.Martins va boshq. 2019), shuningdek, turli nav va formalarni mikroklonal usulda ko'paytirish (K.Kepenek va boshq., 2016, R.J.Licea-Moreno va boshq., 2015, M.E.Stevens va boshq.,2018, A.Meier-Dinkel va boshq. 2015) borasida tadqiqotlar natijalari bayon etilgan. Tabiiy yong'oqzorlar va ularning biotsenozdagi ahamiyati to'g'risida Markaziy Osiyo olimlari (R.S.Vernik, 1984, M.T.To'ychiyev, 1959, S.S.Kalmikov, 1961, N.Kamolov va boshq., 2010) va boshqalar bir qator asarlar yozib qoldirishgan.

O'zbekistonda esa *Juglans regia* L. ning genetik resurslari va tabiiy sharoitda o'sgan mahalliy istiqbolli genotiplarini tanlash va o'rganish (E.A. Butkov va boshq., 2020, H.F. Hamroev va boshq., 2021, A. Qayimov va boshq., 2023), mahalliy, hamda chet eldan keltirilgan navlar asosida yaratilgan plantatsiyalarda ko'chatlarning zamburug'lar bilan kasallanishi (B.A.Xasanov va boshq., 2019, F.M.Boyjigitov, 2019), zararkunanda hasharotlar bilan zararlanishini o'rganish (E.U.Umurzaqov va boshq., 2019, O.Po'latov va boshq., 2020, Sh.Yuldasheva, 2010) borasida tadqiqotlar olib borilgan.

Biroq, mahalliy va xorijiy ilmiy adabiyotlarda *Juglans regia* L. ning mahalliy nav va formalarida uchraydigan bakterial patogenlar va ularga chidamlilik xususiyatlarini o'rganish, shuningdek, mahalliy nav va formalarni mikroklonal ko'paytirish bo'yicha yetarlicha tadqiqotlar olib borilmagan. Jumladan, *A.tumefaciensga* chidamlilik xususiyatlariga ega bo'lgan nav va formalar aniqlanmagan. Vaholanki, turli formalarning kasalliklarga chidamlilik xususiyatini aniqlash kelajakda yangi istiqbolli navlar yaratish uchun asos bo'lib xizmat qiladi.

Dissertatsiya mavzusining dissertatsiya bajarilayotgan oliy ta'lim muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya tadqiqoti Samarqand davlat universiteti Genetika va biotexnologiya kafedrasining 2018-2024-yillarga mo'ljallangan "Zarafshon vohasi tirik tabiati genofondi asosida biotexnologik potensialini tadqiq etish" mavzusidagi ilmiy tadqiqot ishlari rejasi doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi *Juglans regia* L.ning xorijiy navlari plantatsiyalaridan ajratilgan *Agrobacterium tumefaciens* ning virulent izolyatlari yordamida bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy nav va formalarni tanlash hamda ularni mikroklonal usulda ko‘paytirish texnologiyasini ishlab chiqishdan iborat.

Tadqiqot vazifalari quyidagilardan iborat:

J. regia L.ning xorijdan keltirilgan navlari ekilgan Samarqand viloyatidagi plantatsiyalarni bakterial rak kasalligi bo‘yicha skrining qilish;

kasallangan daraxtlardagi shishlardan *A. tumefaciens* izolyatlarini ajratish, virulentlik xususiyatlarini baholash va yuqori potensialga ega izolyatlarning sistematik o‘rnini molekulyar-genetik usullar yordamida asoslash;

virulentligi yuqori izolyatlar yordamida bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy nav va formalarni tanlash;

tanlangan mahalliy nav va formalarni *in vitro* usulida ko‘paytirishning optimal sharoitlarini tanlash;

J. regia L.ning bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy nav va formalarni mikroklonal usulda ko‘paytirish texnologiyasini ishlab chiqish.

Tadqiqotning obyekti sifatida *A. tumefaciens* ga chidamli mahalliy *J. regia* L. nav va formalari olingan.

Tadqiqotning predmeti Chandler navi va Paradoks payvandtagi asosida yaratilgan plantatsiyalarda kasallangan ko‘chatlar tanasida hosil bo‘lgan shishlardan ajratib olingan *A. tumefaciens* izolyatlari, *A. tumefaciens* izolyatlarining virulentlik xususiyatlariga ko‘ra skriningi, mahalliy *J. regia* L. nav va formalarining bakterial rak kasalligiga chidamlilik xususiyati, *A. tumefaciens* ga chidamli nav va formalarning *in vitro* sharoitda mikroklonal ko‘paytirish jarayonini baholashdan iborat.

Tadqiqotning usullari. Dissertatsiya ishida zamonaviy mikrobiologik, molekulyar-genetik, biotexnologik va statistik usullardan foydalanilgan.

Dissertatsiya tadqiqotining ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

ilk bor, Samarqand viloyati misolida, *J. regia* L. ning xorijiy navlari asosida yaratilgan plantatsiyalarda bakterial rak kasalligining rivojlanish dinamikasi skrining qilingan;

J. regia L. ning xorijiy navlari asosida yaratilgan plantatsiyalardagi kasallangan ko‘chatlardan *A. tumefaciens* izolyatlari ajratib olingan, ajratilgan izolyatlarning 63 tasi virulent va 27 tasi novirulentlik ekanligi aniqlanib, yuqori virulentlik namoyon etgan izolyatlarning ushbu xususiyatlari zamonaviy molekulyar-genetik usullar yordamida isbotlangan;

ilk bor, *J. regia* L. mahalliy genotiplarining *A. tumefaciens* ga chidamlilik xususiyatlarini o‘rganish orqali mikroklonal ko‘paytirish uchun istiqbolli obyektlar sifatida Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formalari tanlab olingan;

A. tumefaciens ga chidamli nav va formalarni *in vitro* sharoitda mikroklonal ko‘paytirishning optimal sharoitlari tanlangan va ishlab chiqarish sharoitida sinovdan o‘tkazilgan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

J. regia L. ning xorijiy Chandler navi va Paradoks payvandtagi asosida yaratilgan plantatsiyalardan ajratib olingan *A. tumefaciens* bakteriyasi izolyatlari 16S rRNK genlari sekvens qilingan va olingan ma'lumotlar NCBI ma'lumotlar bazasiga PQ098240, PQ098241, PP854426, PQ098242, PQ098243, PQ098244, PQ113704, PQ098245, PQ098246, PQ098247 raqamlari bilan ro'yxatga olingan;

J. regia L.ning bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy nav va formalarini mikroklonal usulda ko'paytirish texnologiyasi ishlab chiqilgan, ishlab chiqarish sharoitida sinovdan o'tkazilib, samarador bo'lishi isbotlangan.

Tadqiqot natijalarining ishonchligi barcha tajribalar uch takroriy nisbatda olib borilganligi, olingan natijalar OriginPro 8.6 dasturida ANOVA va Tukey-Kramer testi asosida $P \leq 0,05$, $P \leq 0,01$ da nazorat qiymatidan ishonchli farq qilishi bilan tasdiqlanadi. Olingan natijalarning respublika va xalqaro anjumanlardagi muhokamasi hamda respublika va xorijiy ilmiy nashrlarda chop etilishi, amaliyotga joriy etilganligining vakolatli davlat tashkilotlari tomonidan tasdiqlanganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati xorijiy navlar asosida tashkil etilgan *J.regia* L. plantatsiyalarida bakterial rak kasalligining rivojlanish dinamikasining o'rganilganligi, kasallik qo'zg'atuvchisi bo'lgan *A.tumefaciens* izolyatlarining ajratib olinib, virulentlik, molekulyar-genetik xususiyatlari o'rganilganligi va ushbu kasallikka chidamli mahalliy genotiplar aniqlanganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati esa yuqori virulentlik xususiyatiga ega bo'lgan EG219 shtammi bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy genotiplarni aniqlashda, Ideal navi va PDM23 formasini mikroklonal ko'paytirish biotexnologiyasi esa istiqbolli genotiplarni mikroklonal ko'paytirish uchun asos bo'lib xizmat qilishi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. *J.regia* L.ning *A.tumefaciens* ga chidamli mahalliy formalarini tanlash va mikroklonal ko'paytirish mavzusi bo'yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

mikroklonal ko'paytirishning klonlash bosqichida 1.5 mg/l BAP bilan ta'minlangan DKW oziqasiga qo'shimcha ravishda 0.4 mM konsentratsiyada floroglusinol qo'llash bo'yicha tavsiyalar SAG-AGRO MChJ Bog'bon *in vitro* laboratoriyasida grek yong'og'ining *A. tumefaciens* bakteriyasiga chidamli bo'lgan mahalliy Ideal navi va PDM23 formalarini ko'paytirish jarayonida amaliyotga joriy qilingan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq Xo'jaligi Vazirligi Qishloq xo'jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazining 2024-yil 28-maydagi 05/06-02-381 sonli ma'lumotnomasi). Natijada oziqa muhitiga tarkibiga kiritilgan floroglusionolning eksplantlarning yangi mikronovdalar hosil qilish xususiyatiga ijobiy ta'sir ko'rsatishi orqali Ideal navida nazorat variantiga nisbatan 11.2%, PDM23 formasida 17.9% qo'shimcha samaradorlikka erishish imkonini bergan;

mikroklonal ko'paytirish jarayoni ildizlash bosqichida 6.0 mg/l IBK bilan ta'minlangan, 1/2 miqdorida mineral tuzlar tutgan DKW oziqasini qo'llash bo'yicha tavsiyalar SAG-AGRO MChJ Bog'bon *in vitro* laboratoriyasida grek yong'og'ining *A. tumefaciens* bakteriyasiga chidamli mahalliy Ideal navi va PDM23 formasini ko'paytirish jarayonida amaliyotga joriy qilingan (O'zbekiston

Respublikasi Qishloq Xo'jaligi Vazirligi Qishloq xo'jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazining 2024-yil 28-maydagi 05/06-02-381 sonli ma'lumotnomasi). Natijada, eksplantlarda ildiz hosil qilish jarayoni yaxshilanishi orqali Ideal navida nazorat variantiga nisbatan 15.5%, PDM23 formasida 20.3% qo'shimcha samaradorlikka erishish imkonini bergan;

eksplantlarini issiqxona sharoitida iqlimlashtirish bosqichida 1:2:1 nisbatda torf, vermikulit va perlit aralashmasini qo'llash bo'yicha tavsiyalar SAG-AGRO MChJ Bog'bon *in vitro* laboratoriyasi issiqxonasida Ideal navi va PDM23 formasi eksplantlarini iqlimlashtirish jarayonida amaliyotga joriy qilingan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq Xo'jaligi Vazirligi Qishloq xo'jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazining 2024-yil 28-maydagi 05/06-02-381 sonli ma'lumotnomasi). Natijada, iqlimlashtirish bosqichida ko'chatlarning omon qolish ko'rsatkichi oshishi orqali nazorat variantiga nisbatan 36.5% qo'shimcha iqtisodiy samaradorlikka erishish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 8 ta xalqaro va 2 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarda muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinishi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 6 ta ilmiy ish nashr etilgan. Shundan O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining dissertatsiya asosiy ilmiy natijalari chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 6 ta maqola, jumladan, 2 tasi xorijiy va 4 tasi respublika jurnallarda nashr etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya tarkibi kirish, to'rt bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati va ilovalardan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 112 bet.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Kirish qismida o'tkazilgan tadqiqotlarning dolzarbligi va zaruriyati asoslangan, tadqiqotning maqsadi va vazifalari belgilab olingan, obykti va usullari tavsiflangan, ilmiy yangiligi belgilab berilgan, tadqiqotning O'zbekiston Respublikasi fan va texnologiyalar taraqqiyotining ustuvor yo'nalishlariga mosligi ko'rsatilgan, tadqiqotning amaliy natijalari keltirilgan, olingan natijalarning ilmiy va amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarining amaliyotga joriy qilinish holati, nashr qilingan maqolalar bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning "***J.regia* L. ni yetishtirishda innovatsion yondashuvlar va muammolar tahlili**" deb nomlangan birinchi bobida adabiyotlar tahlili keltirilgan. Jumladan, *J. regia* L. ning biologik tavsifi va ahamiyati, bioxilma-xilligi, fitopatogenlar va ularga qarshi kurashish usullari haqida ma'lumotlar berilgan. Shuningdek, O'zbekistonda yong'oq ishlab chiqarish holati va ahamiyati, *J. regia* L.ning mahalliy nav va formalarini mikroklonal usulda ko'paytirishning ahamiyati, ushbu sohadagi yutuqlar va muammolar yoritilgan.

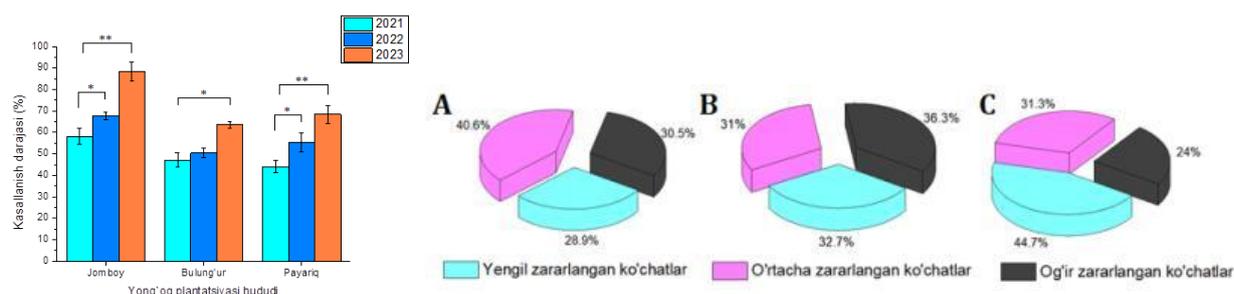
Dissertatsiyaning "**Tadqiqot sharoiti, materiallari va usullari**" deb atalgan ikkinchi bobida tadqiqot obykti, hududi va sharoiti, tadqiqotda ishlatilgan ozuqa muhitlari va ularning tarkibi, tadqiqot usullari haqida ma'lumot berilgan. Jumladan, bakterial rak bilan kasallangan daraxtlar tanasidagi shishdan

A.tumefaciens izolyatlarini ajratib olish, identifikatsiya qilish va izolyatlarning virulentlik xususiyatlarini oʻrganish, istiqbolli, mahalliy nav va formalar koʻchatlariga kuchli virulentlikni namoyon qilgan EG219 shtammini turli usullarda inokulyatsiya qilish orqali bakterial rak kasalligiga chidamli genotiplarni aniqlash, tanlangan mahalliy nav va formalarni mikroklonal koʻpaytirish jarayonini optimallashtirish usullari keltirilib oʻtilgan.

Dissertatsiyaning “*Juglans regia* L. ning bakterial rak kasalligiga chidamli mahalliy formalarini tanlash” deb atalgan uchinchi bobida Samarqand viloyatidagi xorijiy navlar asosida tashkil etilgan yongʻoqzorlarda bakterial rak kasalligining rivojlanish dinamikasi, tadqiqot hududidan ajratib olingan *A.tumefaciens* izolyatlarining molekulyar-genetik tahlili va virulentligi, *A.tumefaciens*ga chidamli, istiqbolli mahalliy nav va formalarni aniqlash uchun olib borilgan tajribalar natijalari keltirilgan.

Dissertatsiyaning “*Juglans regia* L. ning istiqbolli mahalliy genotiplarini mikroklonal koʻpaytirish biotexnologiyasi” deb atalgan toʻrtinchi bobida *A.tumefaciens*ga chidamli, istiqbolli mahalliy nav va formalarni mikroklonal koʻpaytirish uchun olib borilgan tajribalar natijalari keltirilgan.

Samarqand viloyatidagi xorijiy navlar asosida tashkil etilgan yongʻoqzorlarda bakterial rak kasalligining rivojlanish dinamikasi. Samarqand viloyatining Jomboy, Bulungʻur va Payariq tumanlarida Chandler navi va Paradoks-Vlach payvandtagi asosida tashkil etilgan *J. regia* L. plantatsiyalarida 4-5 yoshli koʻchatlarning bakterial rak kasalligi bilan kasallanish holati oʻrganildi. 2021-yilda kasallik belgilari boʻlgan koʻchatlar soni Jomboy tumani plantatsiyalarida 58,2 %, Bulungʻur tumanida 47,1 % va Payariq tumanida 44,1 % ni tashkil etgan boʻlsa, keyingi 2022- va 2023-yillarda ushbu koʻrsatkichlar oshgani kuzatildi (1-rasm, oʻngda).



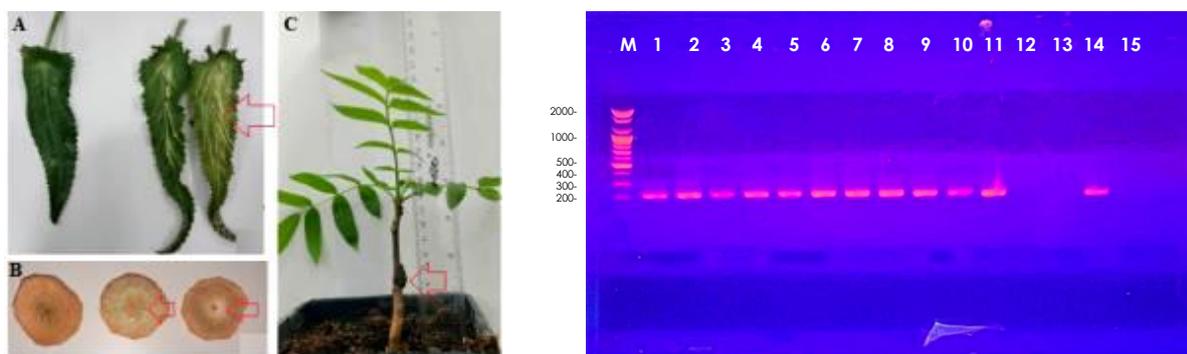
1-rasm. Plantatsiyalarda *Juglans regia* L. koʻchatlarida bakterial rak bilan kasallanishning oʻsish dinamikasi (oʻngda); Turli darajada kasallangan koʻchatlar ulushi (2023-yil): A-Jomboy, B-Bulungʻur, C-Payariq plantatsiyasida (chapda).

Shu bilan birga, shishlar koʻchatlarning asosiy tana aylanasining 10-15% dan 40% yoki undan koʻp qismini egallaganligiga koʻra, kasallikning turli darajalari kuzatildi. 2023-yilda turli darajada zararlangan koʻchatlarning ulushi 1-rasmda (oʻngda) keltirilgan. Maʼlumki, 5-6 yoshli koʻchatlarda ushbu kasallikning kuzatilishi ularning hosildorligini 30-40% ga kamayishiga olib keladi.

Shuni taʼkidlash kerakki, Chandler navi va Paradoks-Vlach payvandtagi plantatsiyalarida yosh koʻchatlarning bakterial rak bilan kasallanish darajasi har yili oshib boradi. Yuqoridagilarni hisobga olgan holda, oʻsimliklarni ushbu

kasallikdan himoya qilish usullarini ishlab chiqish biotexnologiyaning dolzarb muammolaridan biridir.

Tadqiqot hududidan ajratib olingan *A.tumefaciens* izolyatlarining virulentlik xususiyatlari va molekulyar-genetik tahlili. Tadqiqot davomida, Jomboy plantatsiyasida kasallangan ko‘chatlar tanasida hosil bo‘lgan shishlardan 34 ta, Payariq plantatsiyasidan 24 ta, Bulung‘ur plantatsiyasidan 32 ta, jami 90 ta *Agrobacterium tumefaciens* izolyatlari ajratib olindi. Ajratib olingan izolyatlarning virulentlik xususiyatini aniqlash uchun indikator-test o‘simlik sifatida kalanxoe (*Kalanchoe daigremontiana* Mill), sabzi disklaridan (*Daucus carota*) va Vlach payvandtagi ko‘chatlaridan foydalanildi (2-rasm, o‘ngda). Natijada, ajratilgan izolyatlar orasidan 63 tasi turli darajada virulentlik xususiyatlarini namoyon qilishi aniqlandi.



2-rasm. Indikator o‘simliklarga virulent izolyatlar yuqtirilganda hosil bo‘lgan shishlar (o‘ngda): A-*Kalanchoe daigremontiana* Mill o‘simligida; B-sabzi disklarida, C- Vlach payvandtaglarida; Ti plazmidasidagi VirD2 genini aniqlash uchun o‘tkazilgan PZR tahlilining gel-elektroforegrammasi (chapda):M-DNK marker, 1-EG 106; 2-EG 122; 3-EG 144; 4-EG 175; 5-EG 207;6-EG 210; 7-EG 219; 8-EG 227; 9-EG 238; 10-EG 246; 11-EG 253; 12-EG 264; 13-EG 283; 14-EG 296; 15-EG 299; Elektroforez 1,2% li agarozga gelida o‘tkazilgan.

Ajratilgan izolyatlar orasida 12 ta shtamm (EG106; EG122; EG144; EG175; EG207; EG210; EG219; EG227; EG238; EG246; EG253, EG296) barcha test tizimlarida 60% dan yuqori virulentlikni namoyon etdi. Virulentlik uchun mas‘ul bo‘lgan genetik determinantlarni aniqlash maqsadida, yuqorida ko‘rsatilgan izolyatlar, shuningdek virulentlik namoyon etmagan EG264; EG283; EG299 izolyatlari pTi plazmidasida VirD2 geni mavjudligini aniqlash uchun PZR usuli yordamida tekshirildi (2-rasm, chapda). Natijada, virulent izolyatlarning barchasida VirD2 geni mavjud ekanligi, novirulent izolyatlarda esa mavjud emasligi namoyon bo‘ldi.

Keyingi tadqiqotda esa, Vlach payvandtagida 60% dan yuqori virulentlikni namoyon qilgan 10 ta izolyatlarning (EG106; EG175; EG207; EG210; EG219; EG227; EG238; EG246; EG253, EG296) 16S rRNK genlari asosida sekvensing tahlili o‘tkazildi, sekvensing natijalari asosida, Bioedit dasturida uzluksiz zanjir yaratildi va natijalar BLAST dasturi asosida tahlil qilinib, Biotexnologiya axborot Milliy Markazi (NCBI) bazasidagi turlar bilan o‘xshashligi solishtirildi (1-jadval).

**Virulent shtammlarning NCBI bazasidagi yaqin turlar
ketma-ketligi bilan qiyosiy tahlili**

NCBI bazasiga kiritilgan shtammlar		Eng yaqin turlar (16S rRNK genlari asosida)		
Shtammlar	Ro'yxatdan o'tkazish raqami	Shtammlar	Ro'yxatdan o'tkazish raqami	Mos kelish darajasi (%)
EG106	PQ098240	<i>A.tumefaciens cqsm_f1</i>	MN826533	100%
EG175	PQ098241	<i>A.tumefaciens YN11</i>	OM288134	100%
EG207	PP854426	<i>A.tumefaciens CY02</i>	MK249671	99.89%
EG210	PQ098242	<i>A.tumefaciens EBMB6</i>	OQ932814	99.92%
EG219	PQ098243	<i>A.tumefaciens FBG1034</i>	OR838799	99.85%
EG227	PQ098244	<i>A.tumefaciens R-7Q</i>	HQ396794	99.87%
EG238	PQ113704	<i>A.tumefaciens AR2</i>	MT279042	99.68%
EG246	PQ098245	<i>A.tumefaciens JZY4-60</i>	MT102305	100%
EG253	PQ098246	<i>A.tumefaciens IITA-TZ011</i>	OM909260	99.89%
EG296	PQ098247	<i>A.tumefaciens X-A284</i>	OP678587	100%

NCBI ma'lumotlar bazasida dunyoning turli mamlakatlarida (Xitoy, AQSH, Eron, O'zbekiston, Peru, Ispaniya, Tanzaniya) turli manbalardan ajratib olingan o'xshash shtammlar bilan virulent izolyatlarni taqqoslash ularning bir-biri bilan yuqori gomologiyasini ko'rsatdi.

Istiqbolli mahalliy *J. regia* L. nav va formalarining *A.tumefaciens* ga chidamliligini tekshirish. *J. regia* L. ning bakterial rak kasalligiga qarshi kurashning eng samarali usullaridan biri *A. tumefaciens* ga chidamli genotiplarni tanlash yoki yaratish hisoblanadi. Odatda, o'simliklarning mahalliy genotiplari mahalliy muhit omillariga nisbatan yuqori moslashuvchanlik xususiyatlari bilan ajralib turadi. Shu sababdan, keyingi tadqiqot vazifasi mahalliy *J. regia* L. nav va formalarini *A. tumefaciens* EG219 shtammiga chidamlilik belgisi bo'yicha seleksiya qilishdan iborat bo'ldi. O'rmon xo'jaligi ilmiy-tadqiqot instituti olimlarining ko'p yillik tadqiqotlari asosida, yong'oqning yuqori xo'jalik belgilariga ega bo'lgan 10 dan ortiq formalari ishlab chiqarishga joriy etish uchun tavsiya bergan. Ammo, ushbu istiqbolli genotiplarning bakterial rak kasalligiga chidamliligi o'rganilmagan. O'rmon xo'jaligi ilmiy-tadqiqot instituti olimlarining tavsiyasiga ko'ra, tadqiqot obyekti sifatida *J. regia* L. ning istiqbolli formalari - 55BGS, PDM23, 221KRK, 20FRSH, 202YaKT va Ideal navi tanlab olindi. Yong'oq formalarining *A. tumefaciens* EG219 shtammiga chidamliligi 10^8 hujayra/ml konsentratsiyada LB suyuq ozuqa muhitida o'stirilgan bakteriya kulturasini uch xil usulda inokulyatsiya qilish orqali o'rganildi. Birinchi variantda yong'oqlar ushbu muhitda 2 soat davomida ivitilib, keyin steril tuproqli tuvaklarga ekildi. Ikkinchi usulda hujayra kulturasini steril tuproqqa aralashtirildi va yong'oqlar ekildi. Uchinchi variantda hujayra kulturasini ko'chatlar unib chiqqach, ikki oydan so'ng, ularning tanasiga inokulyatsiya qilindi. Natijalar 6 oydan keyin ko'chat tanasida shishlar hosil bo'lganligi asosida baholandi. Nazorat variantida tuproq va yong'oqlar *A. tumefaciens* EG219 kulturasini bilan zararlantirilmadi (2-jadval).

Istiqbolli mahalliy *Juglans regia L.* nav va formalarining bakterial rak kasalligiga uchrash darajasini turli usullar yordamida aniqlash, % da

	Genotip	Inokulyatsiyalash usuli		
		Tuproqqa ishlov berish	Nishlagan urug'ga ishlov berish	Ko'chatga ishlov berish
1	Ideal navi	ShHB	ShHB	ShHB
2	55BGS forma	26,31±1,48*	18,75±0,82*	36,67±1,86*
3	PDM23 forma	ShHB	ShHB	ShHB
4	221KRK forma	13,33±0,68	11,11±0,45	16,67±0,74*
5	20FRSH forma	11,76±0,63	28,57±1,26*	26,67±1,58*
6	202YaKT forma	ShHB	ShHB	ShHB

Izoh. * belgisi $p \leq 0,05$ da ahamiyatga ega ekanligini bildiradi; ShHB - belgisi shish hosil bo'lmaganligini bildiradi; tajriba uchun olingan ko'chatlar soni =10, qaytariqlar soni, n=3.

Ko'rinib turibdiki, yong'oqning 55BGS, 221KRK va 20FRSH formalarida kasallikning belgilari uchala inokulyatsiya usulida ham turli darajada namoyon bo'lgan. Aksincha, Ideal navi bilan bir qatorda PDM23, 202YaKT formalarida esa, kasallikning belgilari namoyon bo'lmadi. Shu sababdan, mikroklonal ko'paytirish jarayoni uchun Ideal navi va ushbu ikkita forma tanlab olindi.

Yong'oq eksplantlarining o'sishiga *in vitro* sharoitida o'stirish sharoitlarining ta'siri. Tadqiqotimizning keyingi bosqichida bakterial rak kasalligiga nisbatan chidamlilikni namoyon etgan Ideal navi va PDM23, 202YaKT formalarini mikroklonal usulda ko'paytirish jarayoniga turli omillarning ta'siri o'rganildi. Mikroklonal ko'paytirish uchun donor daraxtlardan kirish materiali olish 2023-yilning aprel-may oylarida amalga oshirildi. Sterilizatsiya jarayonidan so'ng, eksplantlar turli konsentratsiyada 1,0 mg/L, 1,5 mg/L, 2,0 mg/L 2iP bilan ta'minlangan 10 ml MS yoki DKW ozuqa muhitida shisha probirkalarga individual ravishda ekildi va standart yorug'lik sharoitlarida saqlandi. MS+2iP muhitiga nisbatan DKW+2iP muhitida eksplantlar o'sishini rag'batlantirishning yuqoriroq darajasi kuzatildi. Ideal navi va PDM23 formasi eksplantlarida DKW+1,0 mg/L 2iP ozuqa muhitida eksplantlarning regeneratsiya ko'rsatkichi mos ravishda 58,3%, 63,3% ga teng bo'lgan bo'lsa, 202YaKT formasi eksplantlari uchun bu ko'rsatkich DKW+1,5 mg/L 2iP ozuqa muhitida 52,7% ni tashkil etdi (3-jadval).

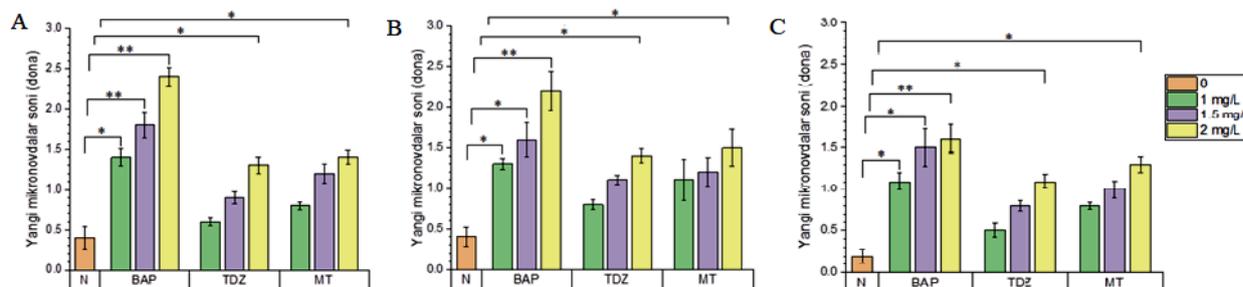
Ozuqa muhitida 2iP gormoni konsentratsiyasining ortishi bilan eksplantlarning regeneratsiya ko'rsatkichi pasayganligi qayd etildi. DKW+2,0 mg/l 2iP ozuqa muhitida, Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formalari eksplantlarda mos ravishda, 36,7%, 30,8% va 18,3% keyingi bosqichga muvaffaqiyatli o'tdi. MS+2,0 mg/l 2iP ozuqa muhitida bu ko'rsatkich mos ravishda, 23,3%, 26,7%, 18,3% ni tashkil etdi.

Tanlab olingan mahalliy nav va formalarni *in vitro* ko'paytirishning kirish bosqichida turli ozuqa muhirlari va o'sish gormonlarining ta'siri

Genotip (nav yoki forma)	Turli ozuqa muhiti va gormon konsentratsiyasida regeneratsiyalangan eksplantlar (%)			
	MS+0,05 mg/L IMK			
	2iP			
	Nazorat	1,0 mg/L	1,5 mg/L	2,0 mg/L
Ideal	18,3±0,5	46,7±1,1**	38,3±0,7*	23,3±0,6
PDM23	21,7±0,4	53,3±1,1**	31,6±0,8	26,7±0,7
202YaKT	13,3±0,3	33,6±0,8*	21,7±0,6	18,3±0,4
	DKW+0,05 mg/L IMK			
	2iP			
	Nazorat	1,0 mg/L	1,5 mg/L	2,0 mg/L
Ideal	25,8±0,5	58,3±1,2**	41,7±1,1*	36,7±0,4
PDM23	28,3±0,6	63,3±1,1**	38,3±0,8*	30,8±0,5
202YaKT	15,4±0,3	20,6±0,3	52,7±0,8**	18,3±0,4

Izoh. * belgisi nazoratga nisbatan $p \leq 0,05$ da, ** belgisi $p \leq 0,01$ da ahamiyatga ega ekanligini bildiradi; tajriba uchun olingan eksplantlar soni =60, qaytariqlar soni, n=3.

Ozuqa muhiti tarkibida turli konsentratsiyadagi o'sish regulyatorlarining multiplikatsiya bosqichida o'simlik regenerantlarining rivojlanishiga ta'siri. Natijalar ko'rsatdiki, BAP, TDZ va MT konsentratsiyasi oshishi bilan har uchala genotipda yangi mikronovdalar hosil bo'lishi ortdi (3- rasm).

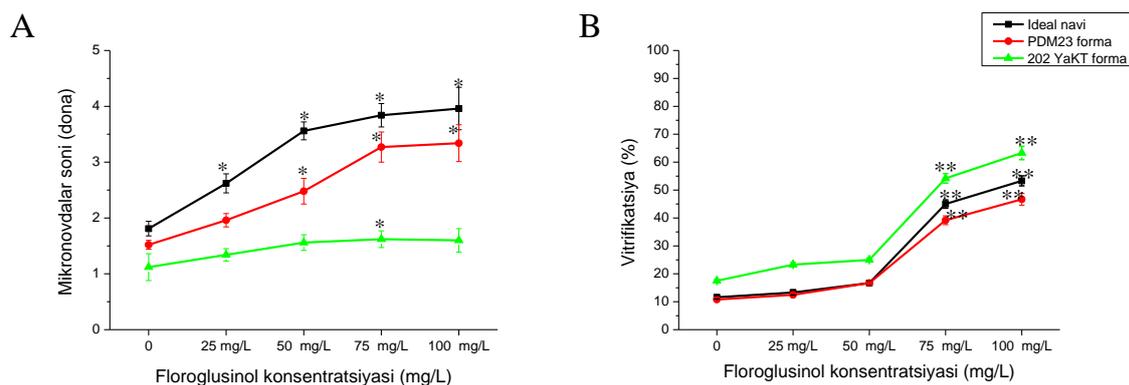


3-rasm. Turli konsentratsiyadagi BAP, TDZ va MT ning regenerantlarning multiplikatsiya bosqichida yangi mikronovdalar hosil qilishiga ta'siri: A-Ideal navi; B-PDM23 forma; C-202YaKT forma (Izoh. * belgisi nazoratga nisbatan $p \leq 0,05$ da, ** belgisi $p \leq 0,01$ da ahamiyatga ega ekanligini bildiradi; tajriba uchun olingan eksplantlar soni =40, qaytariqlar soni, n=3).

Ushbu bosqichda yangi mikronovdalar hosil qilish ko'rsatkichi eng muhim ekanligini hisobga olsak, BAP konsentratsiyasi 2,0 mg/L bo'lganda, Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formasida eng yuqori ko'rsatkichlar kuzatildi, ya'ni yangi mikronovdalar soni mos ravishda, 2,4, 2,2 va 1,6 ga teng bo'ldi. TDZ va MT 2 mg/l konsentratsiyada qo'llanilganda, bu ko'rsatkichlar sezilarli darajada past bo'ldi. BAP konsentratsiyasi 1,5 mg/l bo'lganda esa, yangi mikronovdalar soni uchala genotipda ham 2,0 mg/L BAP bilan ta'minlangan ozuqa muhitidagi

eksplantlar ko'rsatkichlariga nisbatan pastroq, ya'ni, Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formasi regenerantlarida yangi mikronovdalarning o'rtacha soni mos ravishda, 1,8, 1,6, 1,5 ga teng bo'ldi. Garchi, 2 mg/L BAP konsentratsiyasida har uchala genotipda yangi mikronovdalar soni, regenerant uzunligi miqdor jihatdan eng yuqori ko'rsatkichlarni namoyon qilgan bo'lsa-da, regenerantlarda morfo-fiziologik muammolar paydo bo'ldi. Regenerantlarning barglarida sarg'ayish, poya qismida oq kallussimon o'simtalar hosil bo'lishiga sabab bo'ldi.

Multiplikatsiya bosqichi samaradorligini oshirishda floroglusinolning ta'siri. Multiplikatsiya bosqichi samaradorligini oshirish uchun ozuqa muhiti tarkibida turli konsentratsiyadagi floroglusinolning (0, 25, 50, 75, 100 mg/L) ta'siri o'rganildi. Natijalar shuni ko'rsatdiki, Ideal navi va PDM23 formasi regenerantlarida floroglusinolning konsentratsiyasi ortishi bilan ularda yangi mikronovdalar soni, kallus o'lchami va eksplant uzunligi ortdi (4-rasm). Ozuqa muhiti tarkibiga qo'shilgan floroglusinol konsentratsiyasi 75 mg/L bo'lganda, regenerantlarning vitrifikatsiyaga uchrash ko'rsatkichi keskin oshgan, ya'ni, Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formasi regenerantlarining mos ravishda, 45,0%, 39,2% va 54,2% qismi vitrifikatsiyaga uchragan. Floroglusinol konsentratsiyasi 100 mg/L bo'lganda esa, bu ko'rsatkichlar mos ravishda, 53,3%, 46,7% va 63,3% ni tashkil etgan.



4-rasm. Turli xil floroglusinol konsentratsiyasining turli genotip regenerantlarining ko'rsatkichlariga ta'siri: A- yangi mikronovdalar hosil qilishi (dona); B- vitrifikatsiya (Izoh. * belgisi nazoratga nisbatan $p \leq 0,05$ da, ** belgisi $p \leq 0,01$ da ahamiyatga ega ekanligini bildiradi; tajriba uchun olingan eksplantlar soni =40, qaytariqlar soni, n=3).

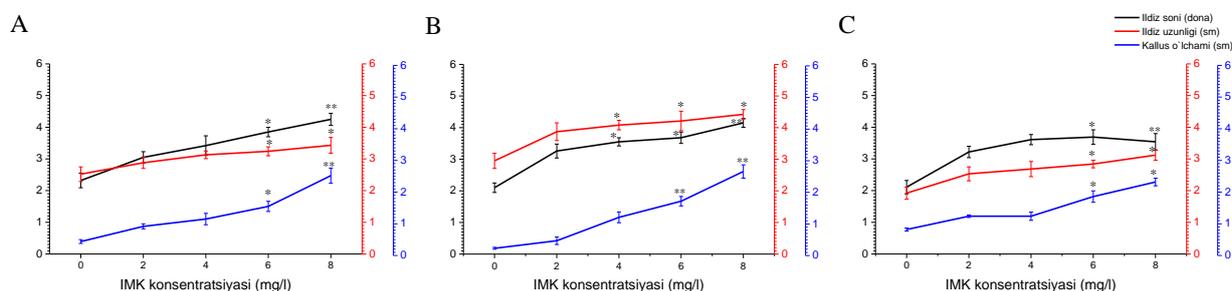
Ushbu tajribada, floroglusinol konsentratsiyasi 50 mg/L ga teng bo'lganda esa, Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formasida hosil bo'lgan yangi mikronovdalar soni mos ravishda, 3.6, 2.5 va 1.6 ga teng bo'lgan bo'lsa, regenerantlar uzunligi o'rtacha 5.8 sm, 6.6 sm va 5.5 sm ga teng bo'ldi. Kallus o'lchami esa mos ravishda, 3.6 sm, 3.3 sm va 2.9 smga teng bo'ldi. Vitrifikatsiya ko'rsatkichi esa, Ideal navi va PDM23 formasi regenerantlarida o'rtacha 16,7% ni, 202YaKT formasi regenerantlarida esa 25.0% ni tashkil etdi.

Xulosa o'rnida aytish mumkinki, Ideal navi va PDM23 formasi regenerantlarida multiplikatsiya bosqichining samaradorligini oshirish uchun ozuqa muhiti tarkibida 1.5 mg/L BAP ga qo'shimcha ravishda 50 mg/L konsentratsiyada floroglusinol qo'llash optimal deb topildi. 202YaKT formasi

regenerantlarida esa ozuqa tarkibida floroglusinol qo'llash multiplikatsiya bosqichi samaradorligini oshirmadi.

Eksplantlarning turli IMK konsentratsiyasi ta'sirida ildiz hosil qilish xususiyatlari. Ildizlash bosqichi mikroklonlash jarayonining eng murakkab bosqichlaridan biri hisoblanadi. O'simlik gormonlarining maqbul konsentratsiyasini aniqlash uchun regenerant o'simliklarning ildizlash jarayoniga DKW ozuqa muhitida turli konsentratsiyadagi (2,0, 4,0, 6,0 va 8,0 mg/l) IMK ning ta'siri o'rganildi. DKW ozuqa muhitida IMK konsentratsiyasining oshishi natijasida, barcha genotiplarda ildiz hosil qilish ko'rsatkichi nazoratga nisbatan statistik jihatdan sezilarli darajada oshdi. Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formasi regenerantlarida ildizlash ko'rsatkichi IMK konsentratsiyasi 8,0 mg/L bo'lganda, eng yuqori natijani namoyon qildi, ya'ni mos ravishda, 50,3%, 53,2%, 45,75% ga teng bo'ldi.

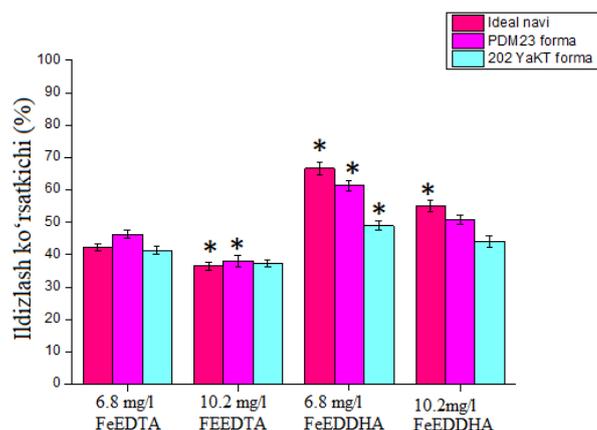
Ozuqa muhiti tarkibida IMK konsentratsiyasi 6,0 mg/L bo'lganda esa, ildizlash ko'rsatkichi 8,0 mg/L IMK tutgan ozuqa muhitidagidan ko'ra pastroq bo'lsa-da, bu ko'rsatkichlar o'rtasidagi farq statistik ahamiyatga emasligi aniqlandi. Shuningdek, ushbu konsentratsiyada regenerantlarning barglarida fiziologik o'zgarishlar kuzatilmadi. Ideal navi, PDM23 va 202YaKT formasi regenerantlarida ildizlash ko'rsatkichi mos ravishda, 42,2 %, 46,3 %, 41,3% ga, ildizlarning o'rtacha soni 3,8, 3,7, 3,7 ga, ildizlarning o'rtacha uzunligi esa 3,2 sm, 4,2 sm va 2,8 smga, kallus o'lchami esa, 1,5, 1,7 va 1,8 ga teng bo'ldi (5-rasm).



5-rasm. Regenerantlarning ildizlash bosqichida ozuqa tarkibidagi turli konsentratsiyadagi IMK ning o'simlik regenerantlar ko'rsatkichlariga ta'siri: A-Ideal navi; B-PDM23 forma; C-202 YaKT forma (Izoh. * belgisi nazoratga nisbatan $p \leq 0,05$ da, ** belgisi $p \leq 0,01$ da ahamiyatga ega ekanligini bildiradi; tajriba uchun olingan eksplantlar soni =60, qaytariqlar soni, n=3).

IMK ning yuqori konsentratsiyasi regenerant o'simliklarda barglarning to'kilishiga sabab bo'ldi, bu esa iqlimlashtirish bosqichida o'simliklarga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Shundan kelib chiqqan holda, 6,0 mg/l IMK bilan ta'minlangan DKW ozuqa muhiti o'rganilgan genotiplar uchun optimal deb topildi.

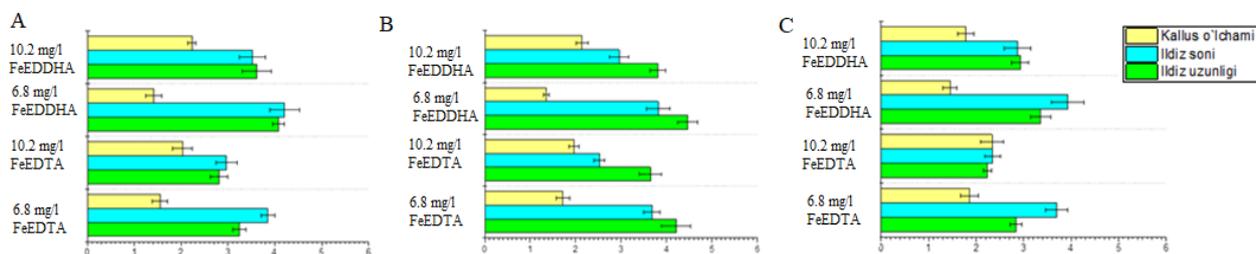
Regenerantlarning ildizlash bosqichi samaradorligini oshirishda ozuqa muhit tarkibidagi temir manbasining ta'siri. Mikroklonal ko'paytirish jarayonida regenerantlarning rizogenez jarayonida ozuqa muhit tarkibida o'sish regulyatorlaridan tashqari, temir manbai ham muhim hisoblanadi. Ozuqa muhiti tarkibida 6,8 mg/l FeEDDHA qo'llanilishi regenerant o'simliklarda ildizlash ko'rsatkichini mos ravishda 66,6%, 61,3%, 48,9% gacha oshirdi (6-rasm).



6-rasm. Regenerantlarning ildizlash ko'rsatkichiga ozuqa muhiti tarkibidagi turli konsentratsiyadagi temir ioni manbasi (FeEDTA va FeEDDHA) ning ta'siri

10.2 mg/L konsentratsiyada FeEDTA yoki FeEDDHA qo'llanilganda esa, ildizlash ko'rsatkichi kamaygani kuzatildi. Shuningdek, 10.2 mg/L konsentratsiyadagi FeEDTA va FeEDDHA qo'llanilganda, regenerantlarda barglar to'kilishi kuzatilmagan bo'lsada, qisman rangsizlanish kuzatildi, ildizlar soni va uzunligi kamaydi. Ya'ni, Ideal navi regenerantlarida 10.2 mg/L FeEDTA bilan ta'minlangan ozuqa muhitida o'rtacha hosil bo'lgan ildizlar soni 2,9 dona, o'rtacha ildiz uzunligi 2,8 smga teng bo'lgan bo'lsa, 6,8 mg/L FeEDDHA bilan ta'minlangan ozuqa muhitida o'rtacha ildiz soni 4,2 dona, ildiz uzunligi esa 4,1 smni tashkil etdi (7-rasm). 10.2 mg/L FeEDDHA qo'shilgan ozuqa muhitida esa o'rtacha hosil bo'lgan ildizlar soni 3,5 dona, o'rtacha ildiz uzunligi esa, 3,6 smni tashkil etdi.

PDM23 formasi regenerantlarida ham 6.8 mg/L FeEDDHA bilan ta'minlangan ozuqa muhitida ildiz soni va uzunligi oshganligi, kallus o'lchami esa yuqori konsentratsiyada temir tutgan oziqa muhitariga nisbatan kichik bo'lganligi aniqlandi. Ya'ni, bu ko'rsatkichlar, mos ravishda, 3,8 dona 4,5 sm va 1,3 sm ga teng bo'ldi. 202YaKT formasi regenerantlarida esa o'rtacha ildiz soni, ildiz uzunligi va kallus o'lchami, mos ravishda, 3,9 dona, 3,4 sm va 1,4 sm ga teng bo'ldi.



7-rasm. Regenerantlarning rizogenez jarayonida ildiz soni, uzunligi va kallus o'lchamiga ozuqa muhit tarkibidagi Fe ionlari manbasi va konsentratsiyasining ta'siri: A-Ideal navi; B-PDM23; C-202YaKT formasi.

Juglans regia L. genotiplarini mikroklonal ko'paytirishning rizogenez bosqichida yuqori konsentratsiyada temir qo'llanilganda, regenerantlarda toksiklikka sabab bo'lgani, ya'ni fiziologik stress natijasida ildiz hosil qilish

ko'rsatkichi kamayganligi aniqlangan. Bu FeEDTA ning yorug'lik ta'sirida parchalanish xususiyati bilan bog'liq. Natijada ajralib chiqayotgan Fe³⁺ ionlari o'simlik regenerant tomonidan o'zlashtirilishini qiyinlashtiradi. Aksincha, FeEDDHA tuzlari yorug'lik ta'siriga ancha chidamli, bu esa ozuqa muhitidan Fe³⁺ ionlarining asosiy qismini o'simlik tomonidan o'zlashtirilishiga imkon beradi. Shuning uchun Ideal navi, PDM23 va 202YaKT shakllarini mikroklonal ko'paytirishda DKW ozuqa muhitiga 6,8 mg/L FeEDDHA qo'shish orqali regenerant o'simliklarning ildizlash ko'rsatkichi oshirish mumkin.

Regenerantlarni issiqxona va dala sharoitida iqlimlashtirish. *Juglans regia* L. genotiplarini mikroklonal ko'paytirish jarayonining iqlimlashtirish bosqichiga ham bir qancha omillar, jumladan, substrat aralashmasining tarkibi va nisbatlari, yuqori namlikning ta'minlanishi va maxsus ishlov berish jarayonlarining olib borilishi muhim ta'sir ko'rsatadi. Namlikni yuqori saqlab turish va dastlabki haftalarda omon qolish ko'rsatkichini oshirish uchun aeratsion filtrli konteynerlar va polistirol stakanlardan foydalanildi va ochiq kassetalarda ekilgan ko'chatlar bilan taqqoslandi. Tadqiqotimiz natijasida, o'rganilgan genotiplar regenerantlarini issiqxona sharoitida iqlimlashtirish uchun substrat sifatida 1:1 nisbatdagi torf:perlit aralashmasiga nisbatan, 1:2:1 nisbatdagi torf, vermikulit va perlit aralashmasi samarali ekanligi aniqlandi (4-jadval).

4-jadval

Turli nisbatdagi substratda turli vositalar yordamida iqlimlashtirish jarayoni

Iqlimlashtirish uchun qo'llanilgan vositalar	Regenerantlarning omon qolish ko'rsatkichi (%)								
	Ideal navi			PDM23 forma			202YaKT forma		
	Torf, vermikulit, perlit nisbati								
	1:1 (nazorat)	1:1:1	1:2:1	1:1 (nazorat)	1:1:1	1:2:1	1:1 (nazorat)	1:1:1	1:2:1
Ochiq kasseta	20,1±0,9	25.8±1.2	31.7±1.6	18,5±0,7	22.5±1.3	37.5±1.1*	14,8±0,4	15.3±0.6	20.8±1.2
Aeratsion filtrli konteyner	---	46.7±2.5*	54.2±2.6*	---	51.7±2.4*	65.8±2.3*	---	19.1±0.8	29.2±1.8*
Polistirol stakanlar	---	48.3±1.9*	58.3±2.8*	---	56.7±3.1*	60.6±1.8*	---	21.5±1.2	27.4±1.4*

Izoh: * belgisi nazoratga nisbatan, p≤0,05 da ahamiyatga ega ekanligini bildiradi. --- tajriba olib borilmagan; tajriba uchun olingan ko'chatlar soni =40, qaytariqlar soni, n=3.

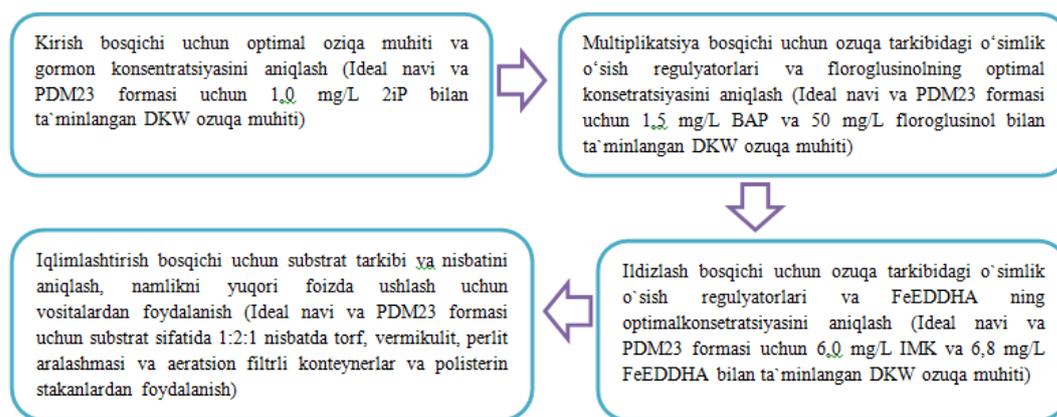
PDM23 va 202YaKT formalari regenerantlari 1:2:1 nisbatdagi torf, vermikulit, perlit aralashmasidan iborat substratda va aeratsion filtrli konteynerlarda iqlimlashtirilganda eng yuqori ko'rsatkichni, mos ravishda, 65.8% va 29.2% ni namoyon qildi. Ideal navi regenerantlarida esa shunday nisbatdagi substratda polisterin stakanlar yordamida iqlimlashtirilganda yuqori natija, ya'ni 58.3% qayd etildi. Shuni ta'kidlash kerakki, 202YaKT formasi regenerantlarining

iqlimlashtirish ko'rsatkichi barcha tajribalarda juda past ko'rsatkichni namoyon etdi.

Juglans regia L. genotiplarining mikroklonal ko'paytirish jarayoni qiyin hisoblanib, ko'paytirilayotgan genotip ko'chatlarini sanoat miqyosida ishlab chiqarishga tavsiya qilish uchun, iqlimlashtirish ko'rsatkichi 55-60% dan yuqori bo'lishi talab etiladi. Shuning uchun, tadqiqotlar natijasida, 202YaKT formasi iqlimlashtirish jarayoni qiyin bo'lgan genotip bo'lib, keyingi tadqiqotlarda ushbu ko'rsatkichni oshirish uchun maxsus yondashuvlar talab qilinadi, degan xulosaga kelindi. Ideal navi va PDM23 formasi regenerantlari uchun 1:2:1 nisbatdagi torf, vermikulit, perlit aralashmasidan iborat substratda polisterin stakanlar yoki filtrli konteynerlarda iqlimlashtirish optimal deb topildi.

Issiqxonada iqlimlashtirilgan ko'chatlar dala sharoitiga o'tkazilgach, Ideal navi ko'chatlarining 92.3%, PDM23 formasi ko'chatlarining 88.5% dala sharoitiga muvaffaqiyatli moslashib, o'sish va rivojlanishda davom etgani aniqlandi.

Olib borilgan tadqiqotlar natijasi asosida, *A. tumefaciens* ga chidamli, istiqbolli mahalliy *J.regia* L. genotiplarini mikroklonal usulda ko'paytirish texnologiyasi tavsiflandi (8-rasm).



8-rasm. *A.tumefaciens* ga chidamli, istiqbolli mahalliy *J.regia* L. genotiplarini mikroklonal usulda ko'paytirish texnologiyasi tavsifi

Ushbu texnologiya asosida, Ideal navi va PDM23 formasi mikroklonal usulda ko'paytirilganda, multiplikatsiya bosqichida 1.5 mg/l BAP bilan ta'minlangan DKW ozuqa muhitiga qo'shimcha ravishda 50 mg/l konsentratsiyada floriglusinol qo'llash orqali Ideal navida nazorat variantiga nisbatan 11.2%, PDM23 formasida 17.9%; ildizlash bosqichida 6.0 mg/l IMK bilan ta'minlangan, DKW ozuqa muhitida 6,8 mg/l FeEDTA o'rniga FeEDDHA qo'llash orqali Ideal navida nazorat variantiga nisbatan 15.5%, PDM23 formasida 20.3% qo'shimcha samaradorlikka erishish imkonini bergan. Regenerantlarni issiqxona sharoitida iqlimlashtirish bosqichida 1:2:1 nisbatda torf, vermikulit va perlit aralashmasini qo'llash natijasida, iqlimlashtirish bosqichida ko'chatlarning omon qolish ko'rsatkichi oshishi orqali nazorat variantiga nisbatan 36.5% qo'shimcha iqtisodiy samaradorlikka erishish imkonini bergan.

XULOSALAR

“*J.regia* L.ning *A.tumefaciens* ga chidamli mahalliy formalarini tanlash va mikroklonal ko‘paytirish” mavzusidagi biologiya fanlari falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar asosida quyidagi xulosalar taqdim etiladi.

1. 2021-2023-yillar davomida Samarqand viloyatining Jomboy, Bulung‘ur, Payariq tumanlarida Chandler navi va Paradoks-Vlach payvandtagi asosida tashkil etilgan yong‘oq plantatsiyalarida ko‘chatlarning bakterial rak bilan kasallanish ko‘rsatkichi o‘rtacha 15-30% gacha ortgan. 2023-yilda esa bu ko‘rsatkich, mos ravishda, 88,3%, 63,5%, 68,5% ga yetganligi aniqlandi.

2. *Kalanchoe daigremontiana* Mill, sabzi diskleri (*Daucus carota*) va Vlach payvandtagi ko‘chatlari asosida test-sistemadan foydalanilib, ajratib olingan 90 ta izolyatlarning 63 tasi virulent izolyat ekanligi aniqlandi. Yuqori virulentlikni namoyon qilgan 10 ta izolyatlarning (EG106; EG175; EG207; EG210; EG219; EG227; EG238; EG246; EG253; EG296) 16S rRNK genlari asosida sekvensing tahlili o‘tkazilganda, ularning *A.tumefaciens* turi vakillariga mosligini ko‘rsatdi. So‘ngra, izolyatlar tegishli raqamlar asosida (PQ098240, PQ098241, PP854426, PQ098242, PQ098243, PQ098244, PQ113704, PQ098245, PQ098246, PQ098247) Biotexnologiya axborot Milliy Markazi (NCBI) bazasiga kiritildi.

3. Istiqbolli mahalliy *Juglans regia* L. formalari: 55BGS, PDM23, 221KRK, 20FRSH, 202YaKT va Ideal navi ko‘chatlariga virulent EG219 *A.tumefaciens* shtammini inokulyatsiya qilish orqali bakterial rak kasalligiga chidamlilik xususiyatlari o‘rganildi. Natijada, Ideal navi va PDM23, 202YaKT formalari ushbu kasallikka chidamli ekanligi aniqlandi.

4. Ideal navi va PDM23, 202YaKT formalarini mikroklonal usulda ko‘paytirish jarayonining kirish bosqichida 1,0 mg/L 2iP qo‘shilgan DKW ozuqa muhiti Ideal navi va PDM23 formasi eksplantlari, 1,5 mg/L 2iP qo‘shilgan DKW ozuqa muhiti esa 202 YaKT formasi eksplantlari uchun optimal ozuqa muhiti sifatida tanlandi. Multiplikatsiya bosqichida uchala genotip uchun 1,5 mg/L BAP bilan ta‘minlangan DKW ozuqa muhiti optimal ekanligi aniqlandi. Ozuqa muhitiga 50mg/L konsentratsiyada floroglusinolni qo‘shish Ideal navi va PDM23 formasi regenerantlarining yangi mikronovdalar hosil qilish samaradorligini oshirishi aniqlandi.

5. Ildizlash bosqichida 6,0 mg/L konsentratsiyada IMK bilan ta‘minlangan DKW ozuqa muhiti uchala genotip regenerantlari uchun optimal etib tanlandi. Shuningdek, DKW ozuqa muhiti tarkibida temir manbasi sifatida qo‘llanilgan, 6,8 mg/l FeEDTA o‘rniga FeEDDHA ni qo‘llash eksplantlarda ildizlash ko‘rsatkichini oshirishi aniqlandi.

6. Iqlimlashtirish bosqichida Ideal navi va PDM23 formasi eksplantlarini issiqxona sharoitida iqlimlashtirishda substrat sifatida 1:2:1 nisbatda torf, vermikulit, perlit aralashmasini qo‘llash va aeratsion konteynerlar, polistirool stakanlardan foydalanish jarayon samaradorligini oshirishi aniqlandi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И
ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НАЦИОНАЛЬНОГО
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО УНИВЕРСИТЕТА «ТИИИМСХ»**

**САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ШАРОФ РАШИДОВА**

Эшбекова Гулжахон Гофур кизи

**ОТБОР И МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ УСТОЙЧИВЫХ
К *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* МЕСТНЫХ ФОРМ *JUGLANS*
*REGIA L.***

03.00.12 – Биотехнология

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

Ташкент – 2025

Тема диссертации доктора философии (PhD) биологических наук зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером В2023.3.PhD/В999

Диссертация выполнена в Институте биохимии Самаркандского государственного университета имени Шароф Рашидова.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.tiiame.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель: Исмаилов Зафар Файзуллаевич
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: Шапулатов Умиджон Мухаммедович
доктор биологических наук

Косимов Диёрбек Илхом угли
доктор философии биологических наук

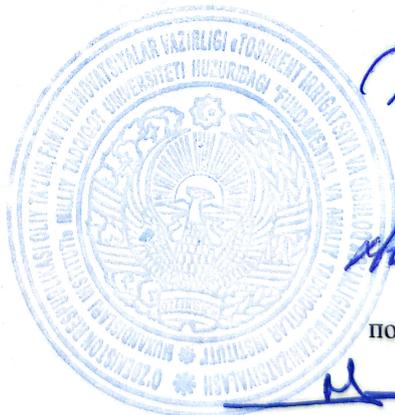
Ведущая организация: Научно-исследовательский институт генетических ресурсов растений

Защита диссертации состоится на заседании Ученого совета под номером DSs.03/14.07.2022.В/QX.10.06 в Институте фундаментальных и прикладных исследований НИУ «ТИИИМСХ» в «14» 02 2025 г. (Адрес: 100000, город Ташкент, улица Кори Ниёзи, 39, тел.: (+99871) 237-19-31, факс: (+99871) 237-38-79; e-mail: ifar@tiiame.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института фундаментальных и прикладных исследований Национального исследовательского университета «ТИИИМСХ» (зарегистрировано №350). (Адрес: 100000, г. Ташкент, улица Кори Ниёзи, 39, тел.: (+99871) 237-19-31, факс: (+99871)237-38-79;e-mail: ifar@tiiame.uz).

Автореферат диссертации разослан «31» 01 2025 г.

(протокол реестра № 2 от «31» 01 2025 г).



Handwritten signature of D.R. Egamberdieva

Д.Р. Эгамбердиева
Председатель Научного совета
по присуждению ученых степеней
доктор сельскохозяйственных наук

Handwritten signature of Sh.N. Kuziev

Ш.Н. Кузиев
Ученый секретарь Научного совета
по присуждению ученых степеней, PhD, доцент

Handwritten signature of F.N. Kushanov

Ф.Н.Кушанов
Председатель научного семинара при Научном
совете по присуждению ученых степеней,
д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация к диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации.

Продовольственная безопасность в мире имеет глобальное значение и является одним из главных факторов устойчивого развития человечества. Рост населения, изменение климата и истощение природных ресурсов увеличивают риск сохранения продовольственной безопасности. По имеющимся данным, проблемы обеспечения стабильности продовольственной безопасности на планете в ближайшие годы окажут серьезное влияние на здоровье людей и экономическое развитие общества. При решении этой проблемы важно создавать условия для экологически чистого сельского хозяйства, а также бороться с болезнями растений, внедрять эффективные и устойчивые технологии выращивания продуктов питания. В то же время на местном уровне приобретает все большее значение устойчивое развитие вопросов обеспечения населения продовольствием за счет поддержки сельского хозяйства.

В целях обеспечения продовольственной безопасности во всем мире постоянно проводятся исследования по созданию устойчивых к болезням сортов сельскохозяйственных культур и фруктовых деревьев, а также их широкомасштабному применению. В связи с этим одной из важных задач является отбор, размножение и акклиматизация устойчивых к болезням сортов плодовых растений, в том числе грецкого ореха с высокой питательной ценностью. Особое внимание уделяется исследованиям, направленным на обоснование научных решений по созданию орешников, состоящих из здоровых саженцев, путем отбора устойчивых к бактериальному раку местных сортов и форм с использованием бактериальных изолятов с высокой вирулентностью, выделенных из больных деревьев, оптимальных условий их размножения *in vitro*, разработки технологии микрклонального размножения устойчивых к болезням местных сортов и форм.

В нашей Республике реализуется комплекс мероприятий по устойчивому развитию садоводства и ореховодства. В частности, в этом плане достигнуты определенные результаты по акклиматизации привезенных из зарубежных стран сортов грецкого ореха и созданию на их основе промышленных плантаций. В Стратегии развития сельского хозяйства республики на 2020-2030 годы определены цели и задачи «эффективного создания системы производства высокоурожайных свободных от вирусов сертифицированных семян и саженцев исходя из потребностей сельхозпроизводителей». Реализация этих задач, включая создание биотехнологической основы для создания и практического применения перспективных устойчивых к болезням местных сортов и форм *Juglans regia* L. путем их микрклонального размножения имеет актуальное научное и практическое значение.

Постановление Президента Республики Узбекистан от 13 октября 2020 года № ПП-4861 “о мерах по дальнейшему совершенствованию деятельности Государственной службы по карантину растений”, постановление

Правительства Республики Узбекистан от 25 ноября 2020 года № ПП-4899 “о комплексных мерах по развитию биотехнологий и совершенствованию системы обеспечения биологической безопасности страны”, Указ от 15 июля 2021 года № ПФ-6262 “о мерах по коренному совершенствованию системы карантина и защиты растений в республике”, а также другие нормативные правовые акты в определенной степени служат реализации поставленных задач в этом диссертационном исследовании.

Соответствие исследования приоритетам направлениям развития науки и технологий республики. Представленное диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и техники Республики Узбекистан, - V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. В зарубежной научной литературе представлены сведения о наиболее распространенных в мире сортах *J. regia* L. (Романо Р. и др., 2022; Вахдати К. и др., 2016; Билгин А.Н. 2022.), его поражении фузариозами и меры борьбы с ними (Н. Сареми, М.Э., 2014; М.Хассан, К. Ахмад, 2010; Буйдосо К., 2023; Мартинс Л. и др., 2019), а также микроклональном размножении различных сортов и форм (Кепенек К. и др., 2016, Licea-Moreno R.J. et al., 2015, Stevens M.E. et al., 2018, Meier-Dinkel A. et al.). В свою очередь учёные Средней Азии (Р.С. Верник, 1984; М.Т.Туйчиев, 1959; С.С. Калмыков, 1961; Н.Камолов и др., 2010) изучали естественные ореховые рощи и их значение в жизни биоценоза.

В Узбекистане изучением генетических ресурсов *J. regia* L., отбором и изучением среди них перспективных сортов и форм ореха в природных популяциях занимались Бутков Е.А. и др. (2020), Хамроев Х.Ф. и др. (2021) и Гаимов А. и др. (2023); поражение семян ореха на плантациях импортных сортов растений изучены Хасановым Б.А. и др. (2019) и Бойжигитовым Ф.М. (2019); поражение растений вредителями изучали Умурзаков Е.Ю. и др. (2019), Пулатов О. и др. (2020), Юлдашев Ш. (2010).

Вместе с тем, в отечественной и зарубежной научной литературе практически не представлены сведения по микроклональному размножению устойчивых местных сортов и форм *J. regia* L., а также возбудителях их бактериальных болезней. Однако определение характера устойчивости различных форм к болезням служит основой для создания новых перспективных сортов в будущем.

Связь темы диссертации с научно-исследовательской работой вуза, в котором выполняется диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ кафедры генетики и биотехнологии Самаркандского государственного университета на 2018-2024 годы по теме «Исследование биотехнологического потенциала на основе генофонда живой природы Заравшанского оазиса».

Цель исследования – с помощью выделенных из плантаций зарубежных сортов вирулентных изолятов *Agrobacterium tumefaciens* отобрать устойчивые к корончатому галлу местные сорта и формы ореха *J.*

regia L. и на этой основе разработать технологию их микрклонального размножения.

В задачи исследования входят:

скрининг плантаций импортных сортов *J. regia* L. Самаркандской области на болезнь бактериального рака;

выбор местных сортов и форм, устойчивых к бактериальному раку, с использованием изолятов с высокой вирулентностью;

выбор оптимальных условий размножения отобранных отечественных сортов и форм методом *in vitro*;

разработка технологии микрклонального размножения устойчивых к корончатому галлу местных сортов и форм *J. regia* L.

Объектом исследования были выбраны местные сорта и формы *J. regia* L. устойчивых к *A. tumefaciens*.

Предметом исследования является изоляты *A. tumefaciens* выделенные из опухолей, образующихся на стволах больных сеянцев на плантациях, созданных на основе сорта Чендлер и прививки Парадокс, скрининг *A. tumefaciens* изолятов по свойствам вирулентности, характеристика устойчивости местных сортов и форм *J. regia* L. к бактериальному раку, оценка процесса микрклонального размножения устойчивых к сортам и форм к *A. tumefaciens* в условиях *in vitro*.

Методы исследования. В диссертации использованы современные методы микробиологии, молекулярной генетики, биотехнологии, и статистической обработки результатов исследований.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:

впервые на примере плантаций зарубежных сортов *J. regia* L. Самаркандской области показана динамика распространения возбудителя корончатого галла *A. tumefaciens*;

Изоляты *A. tumefaciens* были выделены из зараженных саженцев на плантациях, созданных на основе иностранных сортов *J. regia* L., было установлено, что 63 изолята являются вирулентными, а 27-новирулентными, и эти свойства изолятов, проявляющих высокую вирулентность, были доказаны с помощью современных молекулярно-генетических методов;

впервые Дж. *regia* L. местных генотипов *A. tumefaciens* путем изучения характеристик устойчивости к в качестве перспективных объектов для микрклонального размножения были отобраны сорта Идеал, ПДМ23 и 202ЯКТ ;

были выбраны и протестированы в производственных условиях оптимальные условия для микрклонального размножения устойчивых к *A. tumefaciens* сортов и форм в *in vitro*.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

Бактерии *A. tumefaciens*, изолированные из плантаций, созданных на основе прививок *J. regia* L., иностранных сортов Chandler и Paradoks, секвенированы по генам 16S рПНК, и полученные данные были занесены в

базу данных NCBI под номерами PQ098240, PQ098241, PP854426, PQ098242, PQ098243, PQ098244, PQ113704, PQ098245, PQ098246, PQ098247.

Разработана технология микрклонального размножения местных сортов и форм *J. regia L.*, устойчивых к бактериальной раковой болезни, которая была испытана в производственных условиях и доказала свою эффективность.

Достоверность результатов исследований подтверждается тем, что все эксперименты проводились в трехкратной повторности, полученные результаты достоверно отличаются от контроля при $P < 0,05$, $P < 0,01$ что было рассчитано в программе OriginPro 8.6 на основе ANOVA и критерия Тьюки-Крамера. Кроме того, полученные результаты прошли апробацию на республиканских и международных конференциях, а также были опубликованы в республиканских и зарубежных научных изданиях; подтверждены актами внедрения компетентных государственных организаций.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследований заключается в том, что изучена динамика развития бактериального рака в плантациях *J. regia L.* на основе зарубежных сортов, выделены изоляты *A. tumefaciens* - возбудителя заболевания и установлена их вирулентность, изучены молекулярно-генетические характеристики, что объясняется определением локальных генотипов, устойчивых к данному заболеванию.

Практическая значимость результатов исследований объясняется тем, что штамм EG219, обладающий высокими свойствами вирулентности, используется для выявления локальных генотипов, устойчивых к корончатому галлу, а биотехнология микрклонального размножения сорта Идеал и формы ПДМ23 служит основой микрклонального размножения перспективных генотипов.

Внедрение результатов исследований. На основании полученных научных результатов по теме отбора и микрклонального размножения местных форм *J. regia L.*, устойчивых к *A. tumefaciens* разработаны рекомендации по:

В процессе клонирования при микрклональном размножении были разработаны рекомендации по использованию питательной среды DKW с 1.5 мг/л ВАР и дополнительным добавлением 0.4 мМ флороглюцинола. Эти рекомендации были внедрены в процессе размножения грецкого ореха местных сортов Идеал и формы ПДМ23, устойчивых к бактерии *A. tumefaciens*, в *in vitro* лаборатории ООО «САГ-АГРО Богбон» (в соответствии с информационным письмом Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан, Национального центра знаний и инноваций в сельском хозяйстве от 28 мая 2024 года, № 05/06-02-381). В результате, добавление флороглюцинола в питательную среду положительно сказалось на способности эксплантатов образовывать новые микронодули, что позволило достичь дополнительной эффективности на 11.2% по сравнению с контрольным вариантом для сорта Идеал и на 17.9% для формы ПДМ23.

В процессе микроклонального размножения, на стадии укоренения, были разработаны рекомендации по использованию питательной среды DKW с 6.0 мг/л ИВК и половинной дозой минеральных солей. Эти рекомендации были внедрены на практике в процессе размножения грецкого ореха местных сортов Идеал и формы ПДМ23, устойчивых к бактерии *A. tumefaciens*, в *in vitro* лаборатории ООО «САГ-АГРО Богбон» (в соответствии с информационным письмом Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан, Национального центра знаний и инноваций в сельском хозяйстве от 28 мая 2024 года, № 05/06-02-381). В результате улучшения процесса формирования корней на эксплантатах была достигнута дополнительная эффективность на 15.5% по сравнению с контрольным вариантом для сорта Идеал и на 20.3% для формы ПДМ23.

В процессе акклиматизации эксплантатов в условиях теплицы были разработаны рекомендации по использованию смеси торфа, вермикулита и перлита в соотношении 1:2:1. Эти рекомендации были внедрены в процессе акклиматизации эксплантатов сортов Идеал и формы ПДМ23 в теплице лаборатории ООО «САГ-АГРО Богбон» (в соответствии с информационным письмом Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан, Национального центра знаний и инноваций в сельском хозяйстве от 28 мая 2024 года, № 05/06-02-381). В результате, повышение выживаемости рассады на стадии акклиматизации позволило достичь дополнительной экономической эффективности на 36.5% по сравнению с контрольным вариантом.

Утверждение результатов исследования. Результаты исследований обсуждались на 8 международных и 2 национальных научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 6 научных работ. Из них, на основании рекомендаций ВАК Республики Узбекистан, основные научные результаты диссертации были опубликованы в 6 статьях, включая 2 статьи в зарубежных и 4 статьи в республиканских научных журналах.

Структура и объем диссертации. Основной текст диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 112 стр.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и необходимость проводимого исследования, определяются цель и задачи исследования, описываются объект и методы, определяется научная новизна, совместимость исследования с приоритетными направлениями развития науки и техники Республики Узбекистан, представлены практические результаты исследований, раскрыта научная и практическая значимость полученных результатов, состояние внедрения результатов исследований в практику, информация об опубликованных статьях.

В первой главе диссертации, называемой **“Инновационные подходы и анализ проблем в выращивании *J. regia* L.”**, приведен анализ литературы. В частности, изложены данные о биологическом описании и значении *J. regia* L., её биоразнообразии, фитопатогенах и методах борьбы с ними. Также рассмотрены состояние и значение производства ореха в Узбекистане, важность микрклонального размножения местных сортов и форм *J. regia* L., а также достижения и проблемы в этой области.

Во второй главе диссертации под названием **“Условия, материалы и методы исследования”**, приводятся сведения об объекте исследования, районе и условиях, использованных в экспериментах питательных средах и методах соответствующих исследований. В частности, выделение изолятов *A. tumefaciens* из опухолей на стволах деревьев, зараженных корончатым галлом, идентификация и проведены эксперименты по изучению вирулентных свойств изолятов, выявление генотипов, устойчивых к корончатому галлу, путем инокуляции штамма EG219, проявившего сильные вирулентности к сеянцам перспективных, местных сортов и форм, различными способами, представлены методы оптимизации процесса микрклонального размножения избранных местных сортов и форм.

Третья глава диссертации, **“Отбор местных форм *Juglans regia* L. устойчивых к корончатому галлу”** посвящена изложению материалов исследований по анализу динамики развития корончатого галла на плантациях зарубежных сортов ореха Самаркандской области, молекулярно-генетическому анализу выделенных изолятов *A. tumefaciens*, их вирулентности, устойчивости к ним перспективных местных сортов и форм.

В четвёртой главе диссертации, озаглавленной **“Биотехнология микрклонального размножения перспективных местных генотипов *Juglans regia* L.”**, приведены результаты экспериментов по микрклональному размножению устойчивых к *A. tumefaciens* и перспективных местных сортов и форм.

Поражаемость зарубежных сортов *Juglans regia* L. корончатым галлом на плантациях Самаркандской области. Анализ поражения сортов ореха Чандлер и подвоев Парадокс-Влач корончатым галлом 4 – 5 летних саженцев на плантациях *J. regia* L. заложенных в Джамбайском, Булунгурском и Пайарыкском районах Самаркандской области показал следующее. Если в 2021 году количество сеянцев с признаками болезни составило 58,2% на плантациях Джамбайского района, 47,1% - Булунгурского района и 44,1% – Пайарыкского района, то в последующие 2022 и 2023 годы отмечалась тенденция роста количества пораженных сеянцев (рис.1, справа)

При этом наблюдалась различная степень размеров опухолей, от 10-15% от площади основного тела саженца до 40 и более процентов. Доля пораженных в разной степени больных саженцев в 2023 году представлена на рис.1(слева). Известно, что подобная ситуация с 5-6-летними сеянцами приводит к снижению их урожайности на 30-40%.

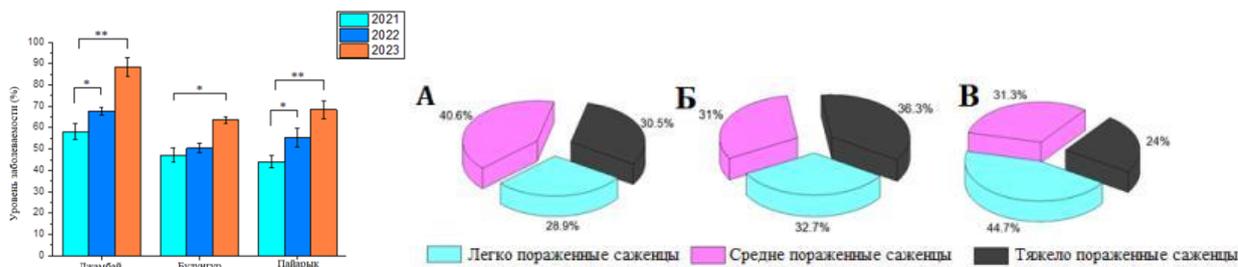


Рисунок 1. Динамика роста поражения корончатым галлом семян *Juglans regia* L. на плантациях (справа); Доля пораженных в разной степени больных саженцев в 2023 году: А-Джамбай, Б-Булунгур, В-Пайарык (слева).

Таким образом, на плантациях сортов Чандлер и подвоев Парадокс-Влач уровень корончатого галла молодых саженцев с каждым годом увеличивается. С учетом сказанного, разработка методов защиты растений от корончатого галла относится к числу актуальных проблем биотехнологии.

Некоторые биологические особенности выделенных на территории произрастания *J. regia* L. изолятов *A. tumefaciens*. При исследовании опухолей на теле инфицированных семян было выделено 90 изолятов *A. tumefaciens*, в том числе с плантации Джамбайского района 34 изолята, с плантации Пайарыкского района 24 изолята и с плантации Булунгурского района 32 изолята. Для отбора вирулентных штаммов *A. tumefaciens* использовали тест систему на основе растений каланхое (*Kalanchoe daigremontiana* Mill), диски моркови (*Daucus carota*) и саженцы ореха сорта Влач (рис.2, справа). В результате проведенных исследований выделено 63 изолята со способностью проявлять разную степень вирулентности в изученных тест-системах.

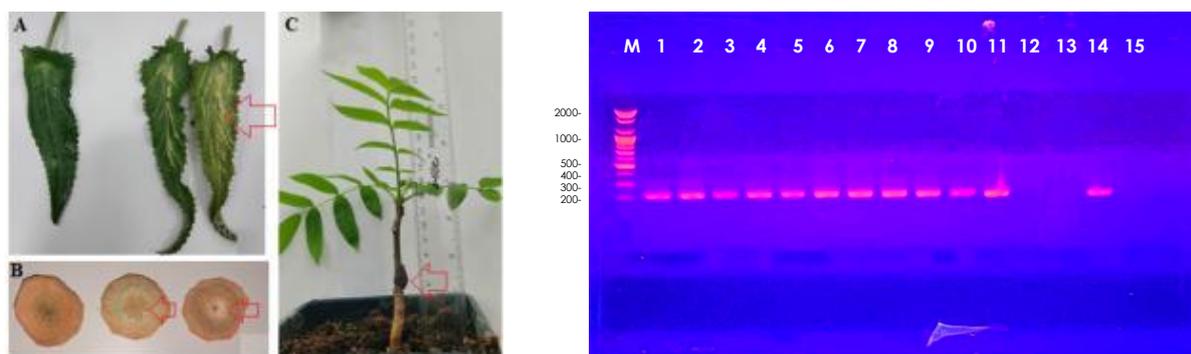


Рисунок 2. Образование опухоли при заражении индикаторных растений вирулентными изолятами (справа): А - листья *Kalanchoe daigremontiana* Mill; В - диски моркови; С - саженцы ореха сорта Влач. Гель-электрофореграмма ПЦР анализа для определения гена *VirD2* в Тi-плазмиде (слева): маркер М-ДНК, 1-EG106; 2- EG122; 3- EG144; 4- EG175; 5- EG207; 6- EG210; 7-EG219; 8-EG227; 9-EG238; 10-EG246; 11-EG253; 12-EG264; 13-EG283; 14- EG296; 15-EG299. Электрофорез проведен в 1,2% агарозном геле.

Среди указанного количества изолятов 12 штаммов (EG106; EG122; EG144; EG175; EG207; EG210; EG219; EG227; EG238; EG246; EG253, EG296) показали вирулентность более 60% во всех тест системах. Для определения

ответственных за вирулентность генетических детерминантов указанные изоляты, а также не проявившие вирулентность изоляты EG264; EG283; EG299 были исследованы с помощью ПЦР для определения наличия у них гена *VirD2* в плазмиды Ti (рис.2, слева). Видно, что ген *VirD2* присутствовал во всех вирулентных изолятах, тогда как он отсутствовал у невирулентных изолятов.

В следующем исследовании был проведён анализ секвенирования генов 16S рРНК 10 изолятов (EG106; EG175; EG207; EG210; EG219; EG227; EG238; EG246; EG253; EG296), которые продемонстрировали вирулентность выше 60% на прививках Влач. На основе результатов секвенирования был создан непрерывный фрагмент в программе Bioedit, и результаты были проанализированы с использованием программы BLAST, после чего была проведена сравнительная оценка с типами из базы данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI) (см. таблицу 1).

Таблица 1.

Сравнительный анализ вирулентных штаммов с близкими видовыми последовательностями в базе данных NCBI

Штаммы, внесенные в базу данных NCBI		Ближайшие виды (на основе генов 16S рРНК)		
Штаммы	Регистрационный номер	Штаммы	Регистрационный номер	Степень совместимости (%)
EG106	PQ098240	<i>A.tumefaciens cqsm_f1</i>	MN826533	100%
EG175	PQ098241	<i>A.tumefaciens YN11</i>	OM288134	100%
EG207	PP854426	<i>A.tumefaciens CY02</i>	MK249671	99.89%
EG210	PQ098242	<i>A.tumefaciens EBMB6</i>	OQ932814	99.92%
EG219	PQ098243	<i>A.tumefaciens FBG1034</i>	OR838799	98.65%
EG227	PQ098244	<i>A.tumefaciens R-7Q</i>	HQ396794	99.87%
EG238	PQ113704	<i>A.tumefaciensn AR2</i>	MT279042	99.68%
EG246	PQ098245	<i>A.tumefaciens JZY4-60</i>	MT102305	100%
EG253	PQ098246	<i>A.tumefaciens ИТА-TZ011</i>	OM909260	99.89%
EG296	PQ098247	<i>A.tumefaciens X-A284</i>	OP678587	100%

Сравнение вирулентных изолятов с аналогичными выделенными из разных источников в разных странах мира (Китай, США, Иран, Узбекистан, Перу, Испания, Танзания) штаммами в базе данных NCBI показало их высокую гомологию друг с другом.

Проверка устойчивости перспективных местных сортов и форм *J. regia* L. к *A. tumefaciens*. Одним из наиболее эффективных способов борьбы с корончатым галлом *J. regia* L. считается селекция или создание устойчивых к вирулентным расам *A. tumefaciens* генотипов. Как правило, местные генотипы растений характеризуются высокими адаптивными свойствами по отношению к локальным факторам среды. В связи с этим дальнейшей задачей исследования была селекция по признаку устойчивости местных сортов и форм *J. regia* L. к штамму *A. tumefaciens* EG219. Многолетние исследования ученых НИИ лесного хозяйства позволило выявить более 10

форм ореха с высокими хозяйственными признаками для внедрения в производство. Вместе с тем, устойчивость перспективных генотипов к корончатому галлу не изучалась. По рекомендации ученых НИИ лесного хозяйства в качестве объектов нашего исследования были выбраны наиболее перспективные формы *J. regia* L.- 55БГС, ПДМ23, 221КРК, 20ФРШ, 202ЯКТ и сорт Идеал. Устойчивость форм ореха к штамму *A. tumefaciens* EG219 в концентрации 10^8 клеток/мл в жидкой среде LB изучали тремя различными способами. В первом варианте орехи замачивали в данной среде в течение 2 часов, а затем высаживали в горшки со стерильной почвой. Во втором случае культуру клеток вводили в стерильную почву, куда затем высаживали орехи. В третьем варианте культуру клеток наносили на поверхность двух месячных семян. Результаты оценивали по наличию опухолей на теле саженцев через 6 месяцев (таб. 2.). В контрольном варианте почва и орехи не были заражены культурой *A. tumefaciens* EG219.

Таблица 2.

Влияние инокуляции на устойчивость (в %) местных сортов и форм *J. regia* L. к корончатому галлу

	Генотип	Способ инокуляции		
		Введение в почву	Обработка плодов	Обработка саженцев
1	Сорт Идеал	о.н.	о.н.	о.н.
2	Форма 55БГС	26,31±1,48*	18,75±0,82*	36,67±1,86*
3	Форма ПДМ23	о.н.	о.н.	о.н.
4	Форма 221КРК	13,33±0,68	11,11±0,45	16,67±0,74
5	Форма 20ФРШ	11,76±0,63	28,57±1,26	26,67±1,58
6	Форма 202ЯКТ	о.н.	о.н.	о.н.

Примечание. * - достоверен при $p \leq 0,05$; знак о.н. указывает на то, что опухоль не образовалась; количество семян в варианте - 10, повторность опыта, $n=3$.

Видно, симптомы болезни в разной степени проявились при всех трех способах инокуляции в случае форм ореха 55БГС, 221КРК и 20ФРШ. Напротив, наряду с сортом Идеал, разную степень устойчивости проявили формы ПДМ23, 202ЯКТ. В связи с этим сорт Идеал и две формы были отобраны для процесса микроклонального размножения.

Влияние условий культивирования *in vitro* на рост эксплантов ореха. В следующем этапе нашего исследования был изучен эффект различных факторов на процесс микроклонального размножения сортов Идеал и ПДМ23, а также форм 202ЯКТ, проявляющих устойчивость к корончатой галловой болезни. Получение исходного материала от донорных деревьев было проведено в апреле-май 2023 года. После стерилизации экспланты были посажены индивидуально в стеклянные пробирки с 10 мл питательной среды MS или DKW, обогащённой 1,0 мг/л, 1,5 мг/л, 2,0 мг/л 2иП, и содержались при стандартных условиях освещённости.

Наблюдения показали, что в среде DKW+2иП рост эксплантов был более активным по сравнению с средой MS+2иП. В питательной среде

DKW+1,0 мг/л 2иП регенерация эксплантов сортов Идеал и ПДМ23 составила 58,3% и 63,3% соответственно, тогда как для формы 202ЯКТ этот показатель в среде DKW+1,5 мг/л 2иП составил 52,7% (см. таблица 3).

Отмечено, что с увеличением концентрации 2иП в питательной среде регенерация эксплантов снижалась. В среде DKW+2,0 мг/л 2иП регенерация эксплантов для сортов Идеал, ПДМ23 и формы 202ЯКТ составила соответственно 36,7%, 30,8% и 18,3%. В питательной среде MS+2,0 мг/л 2иП эти показатели составили соответственно 23,3%, 26,7% и 18,3%.

Таблица 3

Влияние различных питательных сред и гормонов роста на стадии инициация размножения отобранных местных сортов и форм в *in vitro*

Генотип (сорт, форма)	Регенерированные экспланты с различной питательной средой и концентрацией гормонов (%)			
	MS+0,05 мг/л ИМК			
	2иП			
	Контроль	1,0 мг/л	1,5 мг/л	2,0 мг/л
Идеал	18,3±0,5	46,7±1,1**	38,3±0,7*	23,3±0,6
ПДМ23	21,7±0,4	53,3±1,1**	31,6±0,8	26,7±0,7
202ЯКТ	13,3±0,3	33,6±0,8*	21,7±0,6	18,3±0,4
	DKW+0,05 мг/л ИМК			
	2иП			
	Контроль	1,0 мг/л	1,5 мг/л	2,0 мг/л
Идеал	25,8±0,5	58,3±1,2**	41,7±1,1*	36,7±0,4
ПДМ23	28,3±0,6	63,3±1,1**	38,3±0,8*	30,8±0,5
202ЯКТ	15,4±0,3	20,6±0,3	52,7±0,8*	18,3±0,4

Примечание: * - достоверен при $p \leq 0,05$; ** - достоверен при $p \leq 0,01$; количество экспериментальных эксплантов – 60, повторность опыта, - 3.

Влияние различных концентраций регуляторов роста в составе питательной среды на развитие регенерантов растений на стадии мультипликация. Результаты показали, что с увеличением концентрации БАП, ТДЗ и МТ у всех трех генотипов увеличивалось образование новых микропобегов (рис. 3.).

Высокие результаты отмечены при концентрации 2,0 мг/л 2иП , когда количество новых микропобегов у сорта Идеал и форм ПДМ23 и 202ЯКТ составило 2,4, 2,2 и 1,6, соответственно. При концентрации 2 мг/л гормонов TDZ и МТ эти показатели были существенно ниже. Аналогично, при концентрации 1,5 мг/л БАП количество новых микропобегов у всех трех генотипов было ниже по сравнению с показателями эксплантов на питательной среде с 2,0 мг/л БАП. Например, у регенерантов сорта Идеал, формы ПДМ23 и 202ЯКТ среднее количество новых микропобегов равнялось, соответственно, 1,8, 1,6 и 1,5. При концентрации 2 мг/л БАП у всех трех генотипов по количеству новых микропобегов и длине регенерантов отмечены самые высокие количественные показатели, тем не менее у них отмечены морфофизиологические изменения. Это отразилось на пожелтении листьев регенерантов и образовании белых каллусоподобных наростов на их стеблевой части.

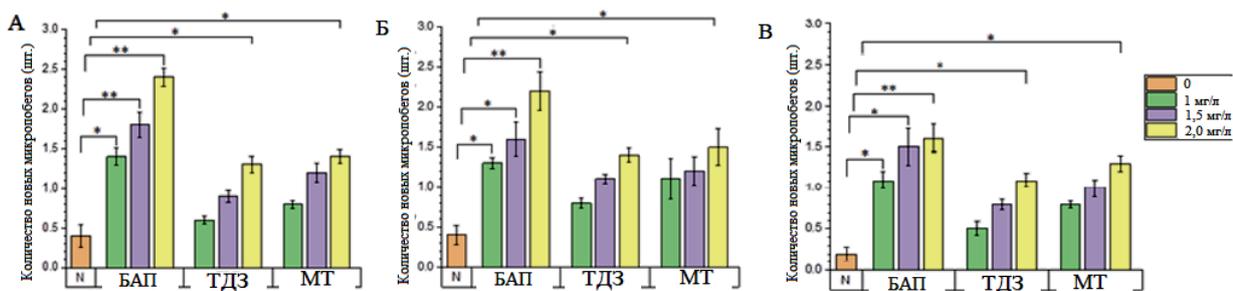


Рисунок 3. Влияние различных концентраций БАП, ТДЗ и МТ на показатели регенерантов различных генотипов на стадии мультипликации: А-сорт Идеал; Б-Форма ПДМ23; В-Форма 202 ЯКТ (Примечание: * - достоверен при $p \leq 0,05$; ** - достоверен при $p \leq 0,01$; количество экспериментальных эксплантов – 40, повторность опыта, - 3).

Влияние флороглюцинола на повышение эффективности стадии мультипликации. Для оценки эффективности стадии мультипликации использовали разные концентрации флороглюцинола (25, 50, 75 и 100 мг/л). В случае регенерантов сорта Идеал и формы ПДМ23 отмечена связь увеличения количества новых микропобегов, размера каллуса и длины экспланта с повышением концентрации флороглюцинола (рис.4, А). При концентрации 75 мг/л флороглюцинола, скорость витрификации регенерантов сорта Идеал и форм ПДМ23 и 202ЯКТ возрастала на 45,0%, 39,2% и 54,2%, а при концентрации 100 мг/л на 53,3%, 46,7% и 63,3% соответственно (рис.4, Б).

При наличие в среде 50 мг/л флороглюцинола количество новых микропобегов у сорта Идеал, и форм ПДМ23 и 202ЯКТ было, соответственно, равно 3,6, 2,5 и 1,6, при средней длине регенерантов 5,8 см, 6,6 см и 5,5 см, а также размера каллуса 3,6 см, 3,3 см и 2,9 см. В среднем, индекс витрификации у регенерантов сорта Идеал и формы ПДМ23 был равен 16,7%, а у регенерантов формы 202ЯКТ - 25,0%.

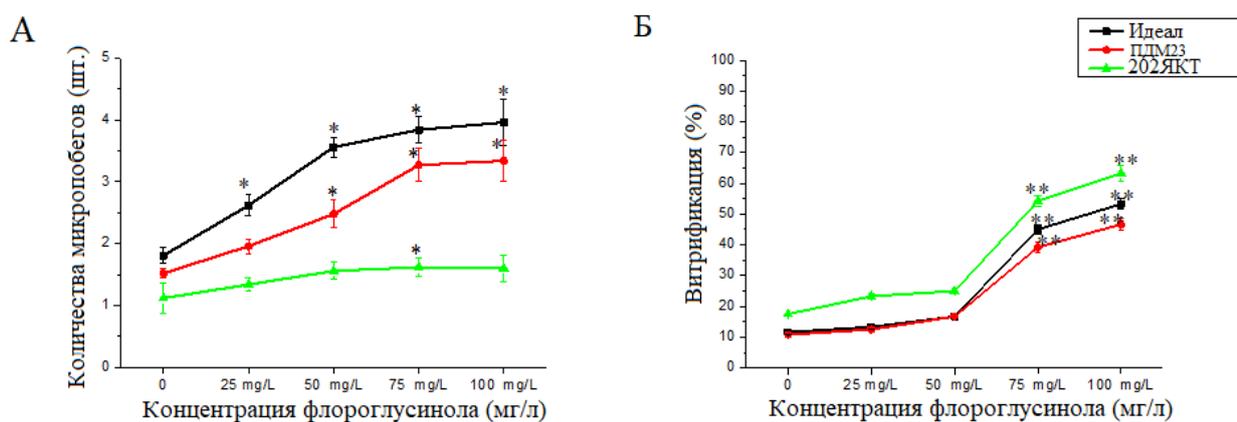


Рисунок 4. Влияние различных концентраций флороглюцинола на показатели регенерантов различных генотипов: А - образование новых микропобегов (шт.); Б- витрификация (Примечание: * - достоверен при $p \leq 0,05$; ** - достоверен при $p \leq 0,01$; количество экспериментальных эксплантов – 40, повторность опыта, - 3).

Таким образом, для повышения эффективности на стадии мультипликации регенерантов сорта Идеал и формы ПДМ23 в дополнение к 1,5 мг/л

БАП в питательной среде необходимо использовать 50 мг/л флороглюцинола. Применение флороглюцинола в составе питательной среды для регенерантов формы 202ЯКТ не повысило эффективность стадии мультипликации.

Влияние ИМК на корнеобразование растений регенерантов ореха. Стадия укоренения один из наиболее сложных этапов процесса микроклонирования. Для определения оптимальной концентрации гормонов на укореняемость растений регенерантов было изучено влияние ИМК (2,0, 4,0, 6,0 и 8,0 мг/л) в среде DKW. По сравнению с контролем, увеличение концентрации ИМК в среде DKW статистически значимо увеличивало индекс корнеобразования у всех генотипов. Например, при концентрации ИМК 8,0 мг/л, у сорта Идеал, форм ПДМ23 и 202ЯКТ индекс укореняемости был равен, соответственно, 50,3%, 53,2% и 45,75%.

Установлено, что при концентрации ИМК в питательной среде 6,0 мг/л, показатель укоренения ниже, чем в питательной среде с содержанием ИМК 8,0 мг/л, но разница между этими показателями не является статистически значимой. Также при этой концентрации физиологических изменений в листьях эксплантов не наблюдалось. Индекс укореняемости у растений регенерантов сорта Идеал, форм ПДМ23 и 202ЯКТ равнялся 42,2%, 46,3% и 41,3%, среднее число корней - 3,8, 3,7 и 3,7, средняя длина корней - 3,2 см, 4,2 см и 2,8 см, размер каллуса был равен 1,5, 1,7 и 1,8, соответственно (рис. 5).

Высокие концентрации ИМК приводили опадению листьев у растений регенерантов, что отрицательно сказывалось на растениях на стадии акклиматизации. Исходя из этого, наличие 6,0 мг/л ИМК было определено в качестве как оптимального для всех трех изученных генотипов.

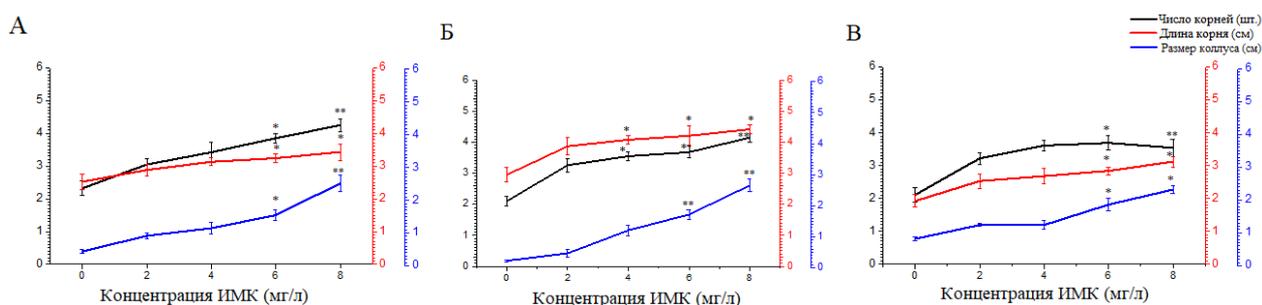


Рисунок 5. Влияние различных концентраций ИМК в питательной среде на показатели регенерантов растений на стадии укоренения: А-сорт Идеал; Б-Форма ПДМ23; В-Форма 202 ЯКТ.

Влияние источника железа в питательной среде на повышение эффективности стадии укоренения регенерантов. В процессе микроклонального размножения в процессе ризогенеза регенерантов помимо регуляторов роста в питательной среде важным является также источник железа. Введение в питательную среду 6,8 мг/л FeEDDHA повышало индекса укореняемости до 66,6%, 61,3%, 48,9%, соответственно, у растений регенерантов всех генотипов (рис. 6).

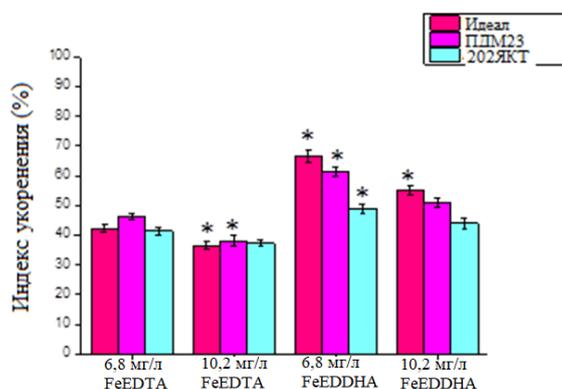


Рисунок 6. Влияние источника ионов железа (FeEDTA и FeEDDHA) на укореняемость регенерантов.

Доза 10,2 мг/л FeEDTA или FeEDDHA снижала индекс укореняемости у регенерантов сорта Идеал, формы ПДМ23 и 202ЯКТ. Наличие 10,2 мг/л FeEDTA и FeEDDHA приводило к частичному обесцвечиванию листьев у растений регенерантов, их опадение не наблюдалось, количество и длина корней уменьшались. Например, у растений регенерантов сорта Идеал среднее количество корней, на среде с 10,2 мг/л FeEDTA равнялось 2,9 при средней длине корней - 2,8 см, а среде 6,8 мг/л FeEDDHA растения регенеранты имели 4,2 корня при их средней длине - 4,1 см (рис. 7). В случае 10,2 мг/л FeEDDHA среднее количество образовавшихся корней было равно 3,5 шт., а средняя длина корней - 3,6 см.

На питательной среде с 6,8 мг/л FeEDDHA у растений регенерантов отмечено увеличение количества и длины корней по сравнению со средой с высокой концентрацией железа, - соответственно, у регенерантов форм ПДМ23 были равны 3,8 шт., 4,5 см и 1,3 см. Аналогично, у растений регенерантов формы 202ЯКТ среднее число корней, длина корня и размер каллуса составили 3,9, 3,4 см и 1,4 см, соответственно.

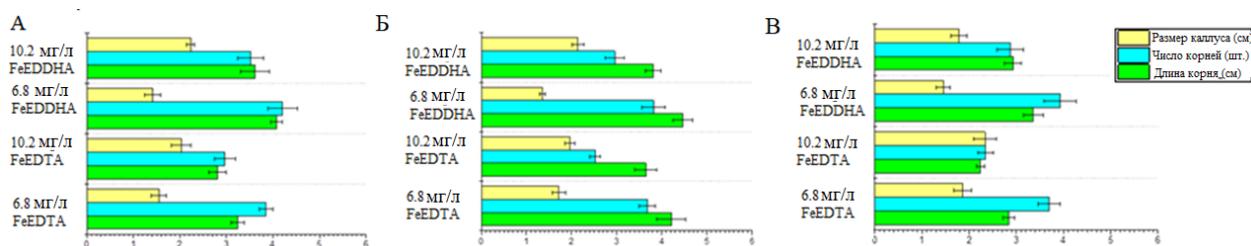


Рисунок 7. Влияние источника и концентрации ионов Fe в питательной среде на количество корней, длину и размер каллуса в процессе ризогенеза регенерантов: А- сорт Идеал; Б-форм ПДМ23; В- форм 202ЯКТ

При микроклонировании генотипов *J. regia* L. установлено, высокие концентрации железа при укоренении являются токсичными для растений регенерантов вызывая физиологический стресс. Это связано со свойством FeEDTA к распаду под воздействием света. В результате, выделяющиеся ионы Fe³⁺ затрудняет его усваивание растением регенерантом. Напротив,

соли FeEDDHA более устойчивы к воздействию света, что делает доступной для усваивания растением основной доли ионов Fe³⁺ из питательной среды. Поэтому, при микроклональном размножении сорта Идеал, форм ПДМ23 и 202ЯКТ тем укоренения растений регенерантов можно повысить введением в среду DKW 6,8 мг/л FeEDDHA.

Акклиматизация растений регенерантов в тепличных и полевых условиях. При микроклональном размножении генотипов *Juglans regia* L. акклиматизация растений регенерантов зависит от комплекса факторов, включая состав и пропорции субстрата, их обеспеченность влажностью и специальной технологией обработки. Для поддержания высокой влажности и повышения приживаемости в первые недели, по сравнению с рассадой высаженной в открытые кассеты, использовали контейнеры с аэрационными фильтрами и стаканчики из полистирола. Наши исследования показали, что сравнению с субстратом торф:перлит в соотношении 1:1, оптимальным для акклиматизация ореха в теплице является субстрат торф, вермикулит и перлит в соотношении 1:2:1 (табл. 4).

Таблица 4

Влияние разных соотношений субстрата «торф:вермикулит:перлит» на акклиматизацию растений регенерантов

Вариант	Выживаемость регенерантов (%)								
	сорт Идеал			форма ПДМ23			форма 202ЯКТ		
	1:1	1:1:1	1:2:1	1:1	1:1:1	1:2:1	1:1	1:1:1	1:2:1
Открытые кассеты	20,1±0,9	25.8±1.2	31.7±1.6	18,5±0,7	22.5±1.3	37.5±1.1*	14,8±0,4	15.3±0.6	20.8±1.2
Контейнеры аэрационными фильтрами	---	46.7±2.5*	54.2±2.6*	---	51.7±2.4*	65.8±2.3*	---	19.1±0.8	29.2±1.8*
Полистироловый стаканчик	---	48.3±1.9*	58.3±2.8*	---	56.7±3.1*	60.6±1.8*	---	21.5±1.2	27.4±1.4*

Примечание: * - по тесту Тукей-Крамера достоверен при $p \leq 0,05$; --- эксперимент не проводился; количество использованных саженцев для эксперимента = 40, повторность опыта-n = 3.

Регенеранты форм ПДМ23 и 202ЯКТ показали самые высокие показатели при акклиматизации в субстрате, состоящем из смеси торфа, вермикулита, перлита в соотношении 1:2:1 и в контейнерах с аэрационным фильтром, соответственно, 65.8% и 29.2%. У регенерантов сорта Идеал при акклиматизации с помощью полистироновых стаканов на субстрате в таком соотношении отмечен высокий результат, т.е. 58.3%. Наибольший показатель акклиматизации растений регенерантов сорта Идеал и форм ПДМ23 отмечен в субстрате торф, вермикулит, перлит в соотношении 1:2:1 - в среднем на 4-15% выше по сравнению с субстратом в соотношении 1:1:1. В среднем, индекс акклиматизации растений в открытых кассетах, по сравнению с условиями при высадке растений регенерантов в контейнеры с

аэрационными фильтрами и при использовании полистирольных стаканчиков был на 21-34% меньше. Следует отметить низкие показатели акклиматизации растений регенерантов у формы 202ЯКТ во всех изученных вариантах.

Микроклональное размножение генотипов *Juglans regia* L. считается сложным. При рекомендации микроклонально размноженных саженцев для промышленного использования, показатель акклиматизации должен быть выше 55-60%. В нашем случае, несмотря на сложности акклиматизацией, этим требованиям отвечает лишь форма 202ЯКТ. Возможно, для повышения этого показателя необходимы дополнительные более тонкие специальные исследования. Для регенерантов сорта Идеал и форм ПДМ23 акклиматизация с использованием полистироловых стаканчиков или контейнерах с аэрационным фильтром на субстрате, состоящем из смеси торфа, вермикулита, перлита в соотношении 1:2:1 оказался оптимальным.

После того, как акклиматизированные в условиях теплицы саженцы были переведены в полевые условия, было установлено, что 92.3% саженцев сорта Идеал и 88.5% саженцев формы ПДМ23 успешно адаптировались к полевым условиям и продолжали расти и развиваться.

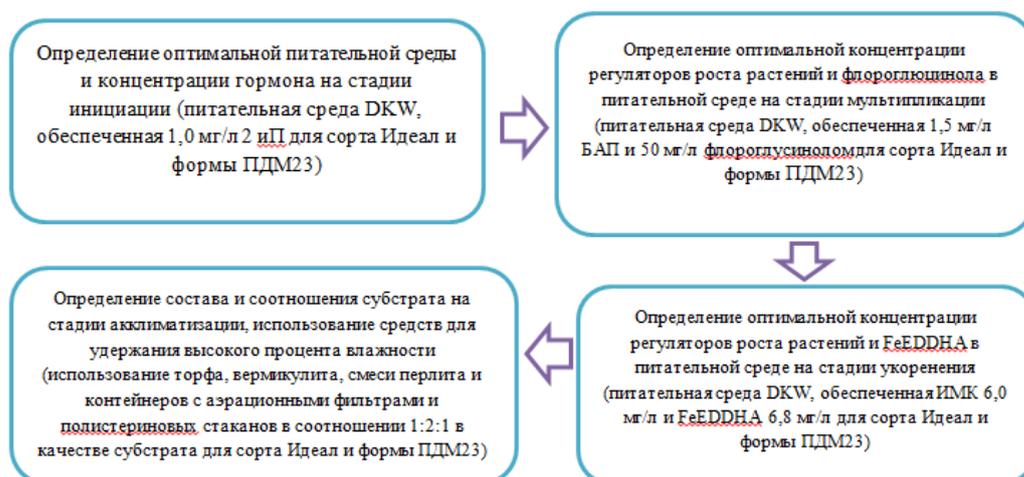


Рисунок 8. Описание технологии микроклонального размножения перспективных местных генотипов *Juglans regia* L., устойчивых к *A. tumefaciens*.

На основе данной технологии, при микроклональном размножении сорта Идеал и формы ПДМ23, на стадии мультипликации, при использовании питательной среды DKW с 1,5 мг/л ВАР и добавлении флороглюцинола в концентрации 50 мг/л, было получено увеличение регенерации на 11,2% для сорта Идеал и на 17,9% для формы ПДМ23 по сравнению с контрольным вариантом. На стадии укоренения, при использовании питательной среды DKW с 6,0 мг/л ИМК и заменой FeEDTA на 6,8 мг/л FeEDDHA, дополнительная эффективность составила 15,5% для сорта Идеал и 20,3% для формы ПДМ23 по сравнению с контрольным вариантом. На стадии акклиматизации в тепличных условиях, использование смеси торфа, вермикулита и перлита в соотношении 1:2:1 привело к увеличению выживаемости саженцев, что обеспечило 36,5% дополнительной экономической эффективности по сравнению с контрольным вариантом.

ВЫВОДЫ

На основании выполненных по теме диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD) на тему “**Отбор и микроклональное размножение устойчивых к *Agrobacterium tumefaciens* местных форм *Juglans regia* L.**” представлены следующие выводы:

1. В течение 2021-2023 годов в Джамбайском, Булунгурском, Пайарыкском районах Самаркандской области на плантациях грецкого ореха, созданных на основе сорта Чандлер и подвоев Парадокс-Влач, показатель заболеваемости саженцев корончатым галлом увеличился в среднем на 15-30%. В 2023 году этот показатель достиг 88,3%, 63,5%, 68,5% соответственно.

2. Использование тест-систем основе каланхое, дисков моркови и семян Влacha на наличие опухоли позволило среди 90 изолятов (в Джамбайском - 34, Булунгурском - 32 и Пайарыкском - 24) стабильную вирулентность показать лишь для 63 изолятов. Анализ последовательности ДНК гена 16S рРНК вирулентных изолятов EG106; EG175; EG207; EG210; EG219; EG227; EG238; EG246; EG253 и EG296 показал их соответствие представителям вида *A. tumefaciens*. Сведения об этих изолятах внесены в базу данных NCBI, соответственно, под номерами PQ098240, PQ098241, PP854426, PQ098242, PQ098243, PQ098244, PQ113704, PQ098245, PQ098246, PQ098247.

3. Инокуляция вирулентным штаммом *A. tumefaciens* EG219 проростков сорта Идеал и перспективных форм *J. regia* L. (55БГС, ПДМ23, 221КРК, 20ФРШ, 202ЯКТ) позволила выявить среди них устойчивые к корончатому галлу растения сорта Идеал, форм ПДМ23 и 202ЯКТ.

4. На этапе инициации процесса микроклонального размножения сорта Идеал и форм ПДМ23, 202ЯКТ питательная среда DKW с добавлением 1,0 мг/л 2иП была выбрана в качестве оптимальной для регенерантов сорта Идеал и формы ПДМ23, а питательная среда DKW с добавлением 1,5 мг/л 2иП - для регенерантов формы 202ЯКТ. Установлено, что на этапе мультипликации для всех трех генотипов оптимальной является питательная среда DKW, содержащая 1,5 мг/л БАП. Введение в эту среду 50 мг/л флорглюцинола повысило показатель образования новых микропобегов у регенерирующих растений сорта Идеал и формы ПДМ23.

5. На стадии укоренения растений регенерантов сорта Идеал и форм ПДМ23 и 202ЯКТ оптимальной средой является среда DKW с добавлением 6,0 мг/л ИМК. Также было установлено, что использование FeEDDHA вместо FeEDTA в концентрации 6,8 мг/л в качестве источника железа в питательной среде DKW повышает показатель укоренения регенерантов.

6. Оптимальной средой для акклиматизации растений регенерантов сорта Идеал и формы ПДМ23 является смесь торф:вермикулит:перлит в соотношении 1:2:1 в аэрационных емкостях и полистироловых стаканчиках.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREE AT THE INSTITUTE OF FUNDAMENTAL AND
APPLIED RESEARCH “TIAME” NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY**

**INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF SAMARKAND STATE
UNIVERSITY NAMED AFTER SHAROF RASHIDOV**

ESHBEKOVA GULJAKHON GOFUR KIZI

**SELECTION AND MICROPROPAGATION OF LOCAL FORMS OF
J.REGIA L. RESISTANT TO *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS***

03.00.12 – Biotechnology

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR
OF PHILOSOPHY (PhD) OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2025

The title of for a degree of Doctor of Philosophy (PhD) has been registered under № B2023.3.PhD/B999 by the Supreme Attestation Commission under the Ministry of higher education, science and innovation of the Republic of Uzbekistan.

Doctor of Philosophy (PhD) dissertation was completed at Samarkand State University named after Sharof Rashidov.

The abstract of the dissertation was posted in three (Uzbek, English, and Russian (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.tiiame.uz) and on the website of "Ziyonet" informational and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor: Ismailov Zafar Fayzullaevich
doctor of biological sciences, professor

Official opponents: Shapulatov Umidjon Mukhammedovich
doctor of biological sciences

Kosimov Diyorbek Ilhom ugli
doctor of philosophy in biological sciences

Leading organization: Plant genetic resources research institute

The defense of the dissertation will be held on "14" 02 2025, at the meeting of the Scientific Council №DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 at the Institute of fundamental and applied research "TIAME" National Research University (Address: 39, Kari-Niyaziy street, Tashkent 100000 Uzbekistan. Phone: (+99871) 237-19-31; fax: (+99871) 237-38-79, e-mail: ifar@tiiame.uz)

The doctoral (PhD) dissertation can be looked through in the Information Resource Center of Institute of fundamental and applied research "TIAME" National Research University (is registered №28 (Address: 39, Kari-Niyaziy street, Tashkent 100000 Uzbekistan. Phone: (+99871) 237-19-31; fax: (+99871) 237-38-79, e-mail: ifar@tiiame.uz)

The abstract of dissertation was distributed on "31" 01 2025.
(Registry record No. 2 dated "31" 01 2025).



D.R. Egamberdieva
D.R. Egamberdieva
Chairwoman of the Scientific Council for
awarding of scientific degrees, Doctor of
Agricultural Sciences

Sh.N. Kuziev
Sh.N. Kuziev
Scientific Secretary of the Scientific Council
on Award of Scientific Degrees, PhD, ass.professor

F.N. Kushanov
F.N. Kushanov
Chairman of the Scientific Seminar of the
Scientific Council on Awarding Scientific
Degrees, DSc, professor

INTRODUCTION (Annotation of PhD dissertation)

The aim of the research work. Based on virulent isolates of *Agrobacterium tumefaciens* isolated from orchards of foreign varieties of *Juglans regia* L., it consists in the selection of local varieties and forms resistant to crown gall and the development of technology for their micropropagation.

The object of research Local varieties and forms of *Juglans regia* L. resistant to *A. tumefaciens*.

The scientific novelty of the research is as follows:

for the first time, in the case of Samarkand region, the dynamics of development of crown gall in orchards created on the basis of foreign varieties of *Juglans regia* L. was screened;

A. tumefaciens isolates were isolated from diseased seedlings in orchards created on the basis of foreign varieties of *Juglans regia* L., 63 of the isolates were found to be virulent and 27 were non-virulent, and these characteristics of isolates showing high virulence were proven using modern molecular genetic methods;

for the first time, the Ideal variety, PDM23 and 202 YaKT forms were selected as promising objects for micropropagation by studying the resistance characteristics of local genotypes of *Juglans regia* L. to *A. tumefaciens*;

Optimum conditions for *in vitro* micropropagation of *A. tumefaciens*-resistant cultivars and forms were selected and tested under industrial production conditions.

Implementation of research results. Based on the scientific results obtained on the topic of selection and micropropagation of local forms of *J. regia* L. resistant to *A. tumefaciens*:

Recommendations for the use of phloroglucinol at a concentration of 0.4 mM in addition to DKW medium with 1,5 mg/l BAP at the multiplication step of micropropagation were put into practice in the *in vitro* laboratory of SAG-AGRO LLC Bogbon during the micropropagation of the local Ideal variety and PDM23 form of walnut resistant to *A. tumefaciens* (Reference No. 05/06-02-381 dated May 28, 2024 of the National Center for Knowledge and Innovation in Agriculture of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan). As a result, phloroglucinol added to the nutrient medium had a positive effect on the ability of explants to form new microshoots, allowing to achieve additional efficiency of 11.2% in the Ideal variety, and 17.9% in the form of PDM23 compared to the control;

Recommendations for using DKW medium containing 1/2 mineral salts and supplemented with 6.0 mg/l IBA at the rooting stage of the microclonal propagation have been implemented in practice at the *in vitro* laboratory of SAG-AGRO LLC. This was applied during the microclonal propagation of the local walnut variety Ideal and the PDM23 form, both resistant to the *A. tumefaciens* (Reference No. 05/06-02-381 dated May 28, 2024 of the National Center for Knowledge and Innovation in Agriculture of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan). As a result, by improving the process of root formation in

explants, 15.5% and 20.3% additional efficiency was achieved in the form of PDM23 compared to the control in the Ideal variety;

Recommendations for the use of a mixture of peat, vermiculite and perlite in a ratio of 1:2:1 during the acclimatization of explants in greenhouse conditions were implemented in the greenhouse of the Bogbon *in vitro* laboratory of SAG-AGRO LLC during the acclimatization of explants of the Ideal variety and PDM23 form (Reference No. 05/06-02-381 dated May 28, 2024 of the National Center for Knowledge and Innovation in Agriculture of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan). As a result, it allowed to achieve 36.5% additional economic efficiency compared to the control by increasing the survival rate of seedlings during the acclimatization stage.

The structure and scope of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, a list of references and appendices. The volume of the dissertation is 112 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (часть I; part I)

1. Eshbekova G.G., Ismailov Z.F., Haydarov I. Isolation and characterization of the *A.tumefaciens* from walnut nurseries in Zarafshan valley in Uzbekistan. Bulletin of Khorezm Mamun Academy. Vol.4, No.12, 2022, p. 26–30. (03.00.00, №12).

2. Eshbekova G., Egamberdiev H., Ismailov Z. Samarqand viloyati yong'och plantatsiyalarida ildiz bo'g'zi raki bilan kasallanishi monitoringi. O'zMU Xabarlari. №. 3/2, 2023, 154–158-b. (03.00.00, №09).

3. Eshbekova G.G., Qodirov B.E., Ismailov Z.F. Mikroklonal ko'paytirish uchun mahalliy yong'och nav va shakllarini tanlash va ulardan kirish materiali tayyorlash. Oziq-ovqat xavfsizligi: Global va milliy muammolar. №. 4, 2023, 21–25-b. (03.00.00, №25).

4. Eshbekova G, Haydarov I, Kadirov B, Ismailov Z. Influence of different factors on *in vitro* multiplication and rooting of three local *J.regia L.* genotypes in Uzbekistan. Plant Science Today. Vol. 11, No. 2, 2024, p.175–181. (Scopus, I.F. 0.7). <https://doi.org/10.14719/pst.2915>

5. Eshbekova G., Kadirov B., Ismailov Z. Different approaches for improvement of acclimatization step of *in vitro* micropropagated local *Juglans regia L.* genotypes in Uzbekistan. International Journal of Advanced Biotechnology and Research. Vol. 15, No. 1, 2024, p. 41–47. (03.00.00, №09, Osiyo mamlakatlari nashrlari). <https://doi.org/10.5281/zenodo.10823919>

6. Эшбекова Г., Исмаилов З. Взаимодействие грецкого ореха и *Agrobacterium tumefaciens*: влияние, управление и будущие решения. Научный вестник НамГУ, № 5, 2024, стр. 246–250. (03.00.00, №17).

II бўлим (часть I; part II)

1. Eshbekova G.G., Ismoilov Z.F. Influence of crown gall on the growth and fruit yield of walnut (*Juglans regia L.*). Pedagogical Sciences and teaching methods, International conference: Copengagen–2022, 16th June.

2. Eshbekova G.G., Ismoilov Z.F. Biological control of crown gall disease in walnut (*Juglans regia L.*). Food security: Global and national problems, IV International scientific and practical conference: Samarkand–2022, 14–15th October.

3. Eshbekova G.G., Ismoilov Z.F. Importance of *in vitro* micropropagation of local walnut varieties in Uzbekistan. Biotexnologiyada fan, ta'lim va sanoat integratsiyasi. Respublika ilmiy, texnikaviy konferensiya: Toshkent–2022, 24–25–noyabr.

4. Eshbekova G.G., Kadirov B.E. Ismoilov Z.F. Effect of medium composition on the introduction stage of micropropagation of local persian walnut (*juglans regia l.*) variety and forms of Uzbekistan. Химия, физика, биология,

математика: теоретические и прикладные исследования, LXXIII международная научно-практическая конференция: Москва–2023, № 6 (56), Июнь.

5. Eshbekova G.G., Ismoilov Z.F. Monitoring of crown gall incidence on walnut orchards in Samarkand region, Uzbekistan. Биотехнология и биологическая безопасность: достижения и перспективы развития. Алматы–2023, 6–8 сентября.

6. Eshbekova G.G., Ismoilov Z.F. Grek yong‘og‘i (*Juglans regia L.*) plantatsiyalaridan *A.tumefaciens* izolyatlarini ajratib olish va o‘rganish. International scientific journal Science and innovation Issue dedicated to the 80th anniversary of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan: Tashkent–2023, 26–29th September.

7. Eshbekova G.G., Kadirov B.E. Ismoilov Z.F. O‘zbekiston mahalliy yong‘oq genotiplarini mikroklonal usulda ko‘paytirishda o‘simlik o‘shish gormonlari va genotipning ta‘siri. Oziq-ovqat xavfsizligi: global va milliy muammolar V xalqaro miqyosidagi ilmiy-amaliy anjuman: Samarqand–2023, 13–14-oktyabr.

8. Eshbekova G.G., Kadirov B.E. Ismoilov Z.F. Persian walnut (*Juglans regia L.*) as an object of biotechnological research. Biotexnologiya va oziq ovqat xavfsizligi muammolari. Ilmiy-amaliy konferensiya: Samarqand–2023, 10-noyabr.

9. Eshbekova G., Ismailov Z. The importance of phloroglucinol on improvement of the multiplication step in the microclonal propagation of local walnut genotypes of Uzbekistan. Ilm-fan muammolari tadqiqotchilar talqinida. Xalqaro ilmiy konferensiya: Xo‘jand–2024, 15-fevral.

10. Eshbekova G., Kadirov B., Ismailov Z. Importance of vessel ventilation on the tissue culture of local *J.regia L.* genotypes in Uzbekistan. International scientific conference plant genetic resources: Tbilisi–2024, 22–24th May.

Avtoreferat “Oziq-ovqat xavfsizligi: Milliy va global muammolar” jurnalida
tahrirdan o‘tkazildi. (15.01.2025-y.)

Bosmaxona tasdiqnomasi



8136

2025-yil 30-yanvarda bosishga ruxsat etildi:
Ofset bosma qog‘ozi. Qog‘oz bichimi 60x84 ¹/₁₆.
“Times” garniturasini. Ofset bosma usuli.
Shartli b.t. 2,75. Adadi 60 nusxa. Buyurtma .

“Sardor poligraf” OK bosmaxonasida chop etildi.
Manzil: Samarqand viloyati, Samarqand tumani, Xishrav MFY.

