

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI
INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.02/30.12.2019.B.53.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

GENOMIKA VA BIOINFORMATIKA MARKAZI

BOLKIYEV ABDUVAXID ABDULLAYEVICH

**ANORNING (*PUNICA GRANATUM* L.) MAHALLIY NAVLARINI
GENETIK TAHLIL QILISH VA *IN VITRO* USULI YORDAMIDA
MIKROKLONLI KO‘PAYTIRISH**

03.00.14 - Genomika, proteomika va bioinformatika

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

Toshkent – 2025

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

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD) по
биологическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD) on
biological sciences**

Bolkiyev Abduvaxid Abdullayevich

Anorning (*Punica granatum* L.) mahalliy navlarini genetik tahlil qilish va *in vitro* usuli yordamida mikroklonli ko‘paytirish 3

Болкиев Абдувахид Абдуллаевич

Генетический анализ местных сортов граната (*Punica granatum* L.) и их микроклональное размножение методом *in vitro*21

Bolkiev Abduvakhid Abdullayevich

Genetic analysis of local varieties of pomegranate (*Punica granatum* L.) and their microclonal propagation by *in vitro* method39

E‘lon qilingan ishlar ro‘yxati

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI
INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.02/30.12.2019.B.53.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

GENOMIKA VA BIOINFORMATIKA MARKAZI

BOLKIYEV ABDUVAXID ABDULLAYEVICH

**ANORNING (*PUNICA GRANATUM* L.) MAHALLIY NAVLARINI
GENETIK TAHLIL QILISH VA *IN VITRO* USULI YORDAMIDA
MIKROKLONLI KO‘PAYTIRISH**

03.00.14 - Genomika, proteomika va bioinformatika

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

Toshkent – 2025

Biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2023.4.PhD/B1071 raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya ishi Genomika va bioinformatika markazida bajarilgan.

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

Ilmiy rahbar:

Ubaydullayeva Xurshida Abdullayevna
biologiya fanlari doktori., katta ilmiy xodim

Rasmiy opponentlar:

Kushanov Faxriddin Ne'matullayevich
biologiya fanlari doktori., professor

Yakubov Mirakbar Daniyarovich
biologiya fanlari doktori., katta ilmiy xodim

Yetakchi tashkilot:

Guliston davlat universiteti

Dissertatsiya himoyasi Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti huzuridagi DSc.02/30.12.2019.B.53.01 raqamli Ilmiy kengashning 2025-yil __ - _____ kuni soat __⁰⁰ da majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 111208, Toshkent viloyati, Qibray tumani, Yuqori-Yuz qo'rg'oni 266-uy, Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti majlislar zali. Tel.: (+99871) 264-23-90; faks: (+99871) 264-23-90; e-mail: igebr@academy.uz).

Dissertatsiya bilan Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (_____ raqami bilan ro'yxatga olingan). Manzil: 111208, Toshkent viloyati, Qibray tumani, Yuqori-Yuz qo'rg'oni 266 - uy, Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti majlislar zali. Tel.: (+99871) 264-23-90; faks: (+99871)264-23-90.

Dissertatsiya avtoreferati 2025-yil «__» _____ kuni tarqatildi.

(2025-yil «__» _____ daqi raqamli reyestr bayonnomasi).

A.A. Narimanov

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi, q.x.f.d., professor

I.Dj. Kurbanbayev

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash ilmiy kotibi, b.f.d., professor

I.T. Qahhorov

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash qoshidagi ilmiy seminar raisi, b.f.d., professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiya annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Bugungi kunda dunyoda demografik omillarning kuchayishi, xususan aholining tez o'sishi, oziq-ovqat mahsulotlari iste'molining ortishiga olib kelmoqda. Anor yetishtirish global qishloq xo'jaligi sohasida nisbatan cheklangan hududlarda amalga oshirilmoqda. Jahon miqyosida anor yetishtiriladigan maydonlarning umumiy hajmi taxminan 500 ming gektarga teng bo'lib, yillik ishlab chiqarish hajmi 6 million tonnani tashkil etadi.

Jahonda qishloq xo'jaligi, ayniqsa bog'dorchilik sohasida DNK markerlari yordamida o'simliklarning genetik xususiyatlarini aniqlash, tavsiflash va sertifikatlash bo'yicha tadqiqotlar olib borilmoqda. Ushbu tadqiqotlar o'simliklarning navlarini genetik darajada farqlash, ularning kelib chiqishi va irsiy xususiyatlarini aniqlash, shuningdek, seleksiya jarayonini tezlashtirish va samaradorligini oshirishga xizmat qilmoqda. Bu borada anor (*Punica granatum* L.) populyatsiyasining genetik tuzilmasi va irsiy xilma-xilligini o'rganish, *in vitro* usuli yordamida mikroklonli ko'paytirishda DNK markerlarini qo'llashga alohida e'tibor qaratilmoqda.

Respublikamizda anorchilik sohasini rivojlantirish, ishlab chiqarish quvvatini oshirish hamda mahsulotlarning raqobatbardoshligini ta'minlashda ilmiy yutuqlar va innovatsion texnologiyalarni joriy etishga alohida e'tibor qaratilmoqda. Xususan, zamonaviy genetik va biotexnologik yondashuvlar asosida yuqori hosildor, kasalliklarga chidamli va eksportbop navlarni yaratish ustida ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Bu borada har bir mintaqaning iqlim sharoitlariga mos navlarni tanlash, seleksiya sohasida zamonaviy usullarni qo'llash, shuningdek, mahsulotlarni saqlash va qayta ishlash texnologiyalarini takomillashtirish va ularni xalqaro standartlarga muvofiqlashtirish choralari ko'rilmogda. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining "2022-2026 yillarga mo'ljallangan yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi"¹ ning 30-maqсадida Qishloq xo'jaligini ilmiy asosda intensiv rivojlantirish orqali dehqon va fermerlar daromadini kamida 2 baravar oshirish, qishloq xo'jaligining yillik o'sishini kamida 5 foizga yetkazish vazifa etib ko'rsatilgan. Ushbu vazifalardan kelib chiqib, ruspublikaning tuproq-iqlim sharoitlariga moslashgan anorning (*Punica granatum* L.) mahalliy navlarini genetik tahlil qilish va *in vitro* usuli yordamida mikroklonli ko'paytirish muhim ilmiy-amaliy ahamiyatga ega.

O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2018-yil 4-oktyabrdagi 791-sonli "Farg'ona viloyatida anor yetishtirishni ko'paytirish va sohani rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida" gi qarori², O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2023-yil 02-fevraldagi 51-sonli "2023-2026-yillarda O'zbekiston Respublikasida urug'chilik va ko'chat yetishtirishni rivojlantirish milliy dasturini tasdiqlash to'g'risida" qarori³ 1-ilovasining 5-bandida keltirilgan

¹ O'zbekiston Respublikasi Prezidentining "2022-2026-yillarga mo'ljallangan yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi" ning 30-maqсadi.

² O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2018-yil 04-oktyabrdagi 791-sonli qarori.

³ O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2023-yil 02-fevraldagi 51-sonli qarori.

vazifalarni amalga oshirishda ushbu dissertatsiya tadqiqoti yuqorida keltirilgan farmon va qarorlar ijrosini ta'minlashda muayyan darajada xizmat qiladi.

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

Muammoning o'rganilganlik darajasi. Dunyo olimlari tomonidan anor germoplazmalarining irsiy xilma-xilligi, populyatsiya tuzilishi, madaniy va yovvoyi genotiplar orasidagi genetik xilma-xillik darajasini baholash va boshqa ko'plab tadqiqotlarda mikrosatellit (SSR) markerlar ishlab chiqilgan va foydalanilgan. Jumladan Wang va boshqalar (2023) Xitoy anor germoplazmalarida 266 ta genotiplarning genetik xilma-xilligi va populyatsiya tuzilishini yuqori polimorfizmga ega bo'lgan 40 ta SSR molekulyar markerlar yordamida tahlil qilgan.

Tunis anori genomidan xromosomaga xos yuqori polimorfik SSR markerlarining keng qamrovli tavsifi va tasdiqlanishi (Patil va boshq., 2021), SSR markerlarni anor genomi bo'yicha tavsiflash va ishlab chiqish (Patil va boshq., 2020), Eron anorlarining genetik o'zgaruvchanligi (Noormohammadi va boshq., 2012; Madadi va boshq., 2017), ICAR milliy anor tadqiqot markazining germoplazmasi liniyalarining genetik xilma-xilligini tahlil qilish (Kadam va boshq., 2023) kabi ko'plab tadqiqotlar amalga oshirilgan.

Shu bilan bir qatorda dunyo olimlari tomonidan anorni mikroklonli ko'paytirish bilan bog'liq ko'plab tadqiqotlar amalga oshirilgan. Jumladan anor daraxtning apikal va lateral kurtak eksplantlaridan mikroklonli ko'paytirish (Naik va boshq., 1999, Patil va boshq., 2011), Eronning tijoriy maqsadlarda yetishtiriladigan Malas Saveh, Yusuf Xoni navlarini mikroklonli ko'paytirish (ValizadehKaji va boshq., 2013) va boshqa ko'plab tadqiqotlar amalga oshirilgan (Deepika R va Kanwar K., 2010; Suhasi va boshq., 2017; Desai va boshq., 2018; Prajwala va boshq., 2021; Janani va boshq., 2024).

Mamlakatimiz olimlari tomonidan bir qancha o'simliklarni molekulyar-genetik tahlil qilishda SSR markerlardan foydalanib ijobiy natijalarga erishilgan. Jumladan I.Y. Abdurahmonov va boshqalar (2004) tomonidan g'o'zaning *G. barbadense* L. va *G. hirsutum* L. turlarining genomlari tahlil qilingan va ularning genetik pasportini ishlab chiqilgan. I.B. Salohutdinov va boshqalar (2020) tomonidan O'zbekiston ampelografik kolleksiyasidan uzum navlarini genetik sertifikatlash va inventarizatsiya qilish, J.K. Norbekov va boshqalar (2024) tomonidan DNK-barkodlash usuli yordamida mahalliy bug'doy navlarining genetik pasportini ishlab chiqish kabi tadqiqotlar amalga oshirilgan. Ammo mamlakatimiz olimlari tomonidan mahalliy anor navlarining genetik xilma-xilligi va molekulyar passporti bugungi kunga qadar ishlab chiqilmagan.

Mamlakatimiz olimlari tomonidan anor navlarini *in vitro* sharoitida yetishtirish boyicha sanoqli tadqiqotlar olib borilgan. Jumladan F.Sh. Ergasheva va boshqalar (2017) tomonidan ayim anor navlarini *in vitro* sharoitida somatik to'qimalarini o'stirish va kulturalash, anorni mikroklonli ko'paytirish uchun ozuqa muhitini ishlab chiqish (X.A. Ubaydullayeva va boshq., J.J. Qodirov va boshq., 2023) kabilar.

Dissertatsiya tadqiqotining dissertatsiya bajarilgan oliy ta'lim yoki ilmiy-tadqiqot muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya tadqiqotlari Genomika va bioinformatika markazi ilmiy-tadqiqot ishlari rejasining FZ-2019051016-sonli "Mahalliy anor (*Punica granatum* L.) navlarini *in vitro* mikroklonal ko'paytirish texnologiyasini yaratish" (2020-2022 yy) mavzusidagi amaliy loyiha va Transgenomika va to'qimalari kulturasida laboratoriyasi tadqiqotlari doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi. Mahalliy anor navlarining genetik xilma-xilligini, navlar o'rtasidagi filogenetik munosabatlarini aniqlash, navlarning individual genetik pasportini ishlab chiqish hamda *in vitro* usuli yordamida mikroklonli ko'paytirishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

respublikada mavjud anor kolleksiyalaridan tadqiqot namunalari tanlash;
mikrosatellit markerlar yordamida tadqiqot namunalari PZR-tahlil o'tkazish va genotiplash;

tadqiqot namunalari o'rtasida yuqori darajada polimorfizmga ega bo'lgan markerlar panelini tuzish;

tadqiqot navlarining genetik xilma-xilligini va o'zaro filogenetik munosabatlarini aniqlash;

"Core set" markerlar to'plamini aniqlash va ularni tasdiqlash;

tadqiqot navlarining genetik pasportini ishlab chiqish;

tadqiqot namunalari *in vitro* sharoitida mikroklonli ko'paytirish;

regenerant mikroo'simliklarda akklimatizatsiya tadbirlarini amalga oshirish.

Tadqiqotning obyekti sifatida Qishloq xo'jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazi tizimidagi Akademik M. Mirzayev nomidagi Bog'dorchilik, uzumchilik va vinochilik ilmiy-tadqiqot instituti va O'simliklar genetik resurslari ilmiy-tadqiqot institutlarining Surxondaryo ilmiy-tajriba stansiyalaridagi mavjud anor kolleksiyalaridan umumiy 76 ta anor namunalari tanlab olindi.

Tadqiqotning predmeti bo'lib, mikrosatellit markerlar yordamida tanlab olingan anor kolleksiyalaridagi navlarning genetik xilma-xilligi va ularning filogenetik munosabatlari tahlili hamda navlar uchun ishlab chiqiladigan individual genetik pasportlar hisoblanadi.

Tadqiqotning usullari. Dissertatsiya tadqiqotlarini amalga oshirishda molekulyar biologiya, genomik usullar (genom DNK ajratish, PZR-tahlili, genotiplash) va zamonaviy biotexnologiya usullari (sirt sterilizatsiya, mikroklonli ko'paytirish, akklimatizatsiya) hamda bioinformatik (filogenetik shajara) va statistik usullardan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

anorning mahalliy navlari ilk bor genetik tahlil asosida baholangan hamda ularni *in vitro* usulida mikroklonli ko'paytirish texnologiyasi yaratilgan;

mikrosatellit markerlar yordamida mahalliy anor navlarining genetik xilma-xilligi va o'zaro filogenetik munosabatlari ishlab chiqilgan;

tadqiqot navlari o'rtasida yuqori darajada polimorfizmga ega bo'lgan "Core set" markerlar paneli tuzilgan;

verifikatsiya asosida genetik pasportlashda foydalanilgan “Core set” markerlarning boshqa navlarda ham yuqori polimorfizm namoyon etganligi isbotlangan;

O‘zbekistonda ilk bor yuqori polimorf markerlar asosida mahalliy anor navlarining genetik pasporti ishlab chiqilgan;

anorning ayrim mahalliy navlarini *in vitro* sharoitida mikroklonli ko‘paytirishning eng maqbul uslublari (sirt sterilizatsiya, maqbul ozuqa muhiti, fitoregulyatorlar turi va tarkibi, akklimatizatsiya) ishlab chiqilgan;

birinchi marta *in vitro* sharoitida eksplantlar rizogeneziga supromolekulyar kompleks preparatining ijobiy ta’siri isbotlangan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

mahalliy anor navlari mikrosatellit (SSR) markerlar asosida genotiplangan va ularning genetik xilma-xilligi hamda o‘zaro filogenetik munosabatlari aniqlangan;

yuqori polimorfizmga ega bo‘lgan “Core set” markerlar paneli tuzilib, ular asosida har bir navning genetik pasportlari ishlab chiqilgan;

samarali allellar soniga ega 15 ta “Core set” mikrosatellit (SSR) markerlardan foydalanib, tuzilgan filogenetik daraxtlar strukturaviy jihatdan o‘zaro yaqin va anor navlarini (mahalliy, xorijiy) identifikatsiyalashda kam sonli markerlar yetarli ekanligi aniqlangan;

eksplantlarga sirt sterilantlarining eng maqbul turi, tarkibi va sterillash davomiyligi amaliy isbotlangan;

mikronovda eksplantlari regeneratsiyasi va ko‘payishiga (proliferatsiya) o‘shirish regulyatorlarining hamda rizogeneziga supromolekulyar kompleks preparatining ta’siri amaliy tajribalar orqali isbotlangan;

regenerant mikroo‘simliklarni fitotron va issiqxona sharoitida parvarish qilishning maqbul me‘yorlari ishlab chiqilgan.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi molekular biologiya va genomikaning zamonaviy usullaridan foydalanilganligi, olingan raqamli ma’lumotlarni statistik qayta ishlashda variatsiyalar tahlili (ANOVA), T-test va Graphpad Prism 9.5.1 kabi statistik dasturlaridan foydalanilganligi, tadqiqot natijalarining mahalliy va xorijiy jurnallarda nashr etilganligi, xalqaro va respublika ilmiy-amaliy anjumanlardagi muhokamasi hamda mahalliy navlarning genetik pasportlari Genomika va bioinformatika markazining www.genomics.uz veb saytiga joylanganligi, shuningdek, genetik pasportlangan nav namunalardan markazning Maxsus urug‘chilik xo‘jaligida anor kolleksiyasi tashkil etilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati mahalliy anor navlarining genetik xilma-xilligi, polimorfizm darajalari, filogenetik munosabatlari, mikrosatellit markerlarning verifikatsiyasi va markerlarning samarali allellar soni aniqlanganligi hamda mahalliy navlarini *in vitro* sharoitida mikroklonli ko‘paytirishning eng maqbul ilmiy uslublari (sirt sterilizatsiya, maqbul ozuqa muhiti, fitoregulyatorlar turi va tarkibi, akklimatizatsiya) ishlab chiqilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati mikrosatellit (SSR) markerlar yordamida olingan genotipik ma’lumotlar va filogenetik munosabatlardan seleksioner yordamchi material sifatida foydalanishi, navlarini molekular

identifikatsiya qilish orqali ularning genetik pasporti ishlab chiqilganligi hamda mahalliy navlarni *in vitro* sharoitida amaliy tarzda mikroklonli ko'paytirilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Anorning (*Punica granatum* L.) mahalliy navlarini genetik tahlil qilish va *in vitro* usuli yordamida mikroklonli ko'paytirish bo'yicha olingan ilmiy-amaliy natijalar asosida:

mahalliy anor navlarini *in vitro* sharoitida mikroklonli ko'paytirishning ilmiy-amaliy uslublari 2020-2022-yillarda bajarilgan FZ-2019051016-sonli "Mahalliy anor (*Punica granatum* L.) navlarini *in vitro* mikroklonal ko'paytirish texnologiyasini yaratish" mavzusidagi amaliy loyihaning bajarilishida foydalanilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining 2023 yil 28 noyabdagi 4/1255-2646-sonli ma'lumotnomasi). Natijada, mikrosatellit markerlar yordamida mahalliy anor genotiplari ajratib olingan va ularni molekulyar pasportizatsiyalash imkonini bergan;

mikroklonli ko'paytirilgan anorning Achiq-dona, Kazake-anar, Dashnobod, Tuyatish navlari Farg'ona viloyati Quvasoy shahar "Farg'ona anorchilik" MCHJ shaklidagi agrofirma 2 ga maydonga joriy etilgan (O'zbekiston fermer, dehqon xo'jaliklari va tomorqa yer egalari kengashining 2023 yil 07 dekabrda 01/03-2502-sonli ma'lumotnomasi). Natijada, an'anaviy usulda yetishtirilgan anorga nisbatan *in vitro* usulida yetishtirilgan anor ko'chatlarining tashqi muhit omillariga moslashuvchanligi, kasallik va zararkunandalar bilan zararlanishi past ekanligi, o'sish va rivojlanishning jadalligi hamda reproduktiv faolligini sezilarli darajada oshirish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 6 ta, jumladan, 3 ta xalqaro va 3 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 10 ta ilmiy ish chop etilgan. Jumladan, O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasi (OAK) tomonidan doktorlik dissertatsiyasining asosiy ilmiy natijalarini chop etishga tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 4 ta maqola, ulardan 1 tasi xalqaro, 3 tasi respublika jurnallarida chop etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya tarkibi kirish, 4 ta bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati va ilovalardan iborat. Dissertatsiya hajmi 107 betni tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Dissertatsiyaning **Kirish** qismida tadqiqot ishining dolzarbligi va ahamiyati asoslab berilgan, ishning maqsad va vazifalari, obyekt va predmeti tavsiflangan, tadqiqot ishining Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yoʻnalishlariga mosligi koʻrsatib berilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning ilmiy va amaliy ahamiyati yoritib berilgan, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy etishi koʻrsatilgan, nashr qilingan ishlar va dissertatsiya tuzilishi haqida maʼlumotlar keltirigan.

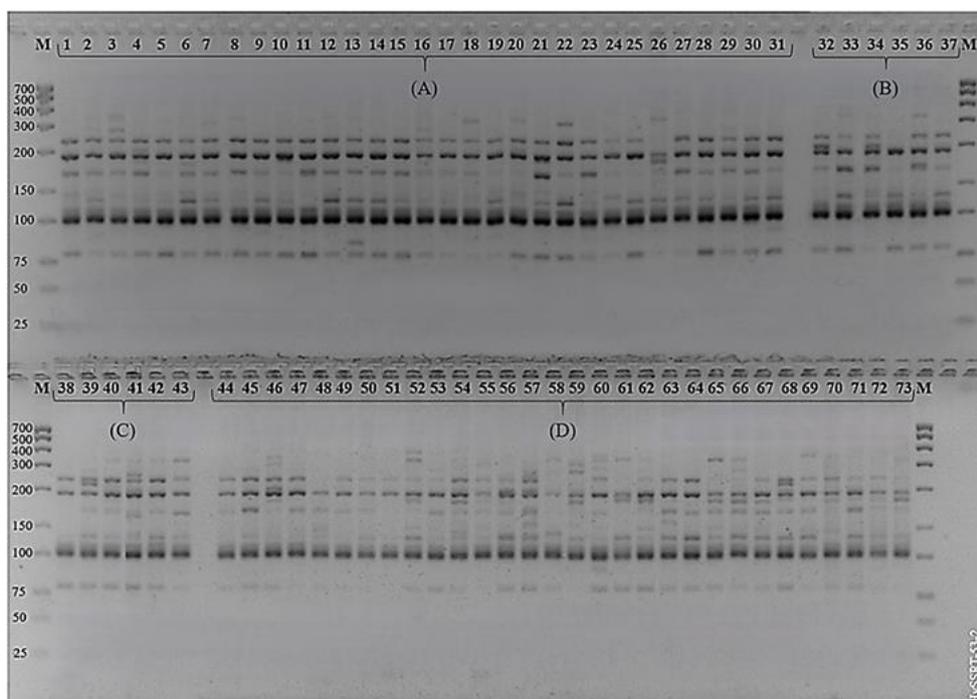
Dissertatsiyaning **“Anorning (*Punica granatum* L.) genetik-xilma-xilligi, molekulyar-genetik va biotexnologik tadqiqotlar”** deb nomlangan birinchi bobida dissertatsiya ishi bilan bogʻliq xorijiy va respublikamiz olimlari tomonidan anor oʻsimligining morfo-biologik belgilari, sistematikasi, germoplazmalari, molekulyar markerlardan foydalanib, ularning genetik xilma-xilligini va oʻzaro filogenetik munosabatlari, markerlarning turlari va polimorfizm darajalari, morfologik belgilarning genetik xilma-xillik bilan bogʻliqligi, genetik pasportlarida mikroklonli koʻpaytirishda eksplant tanlash, eksplantlar sirt sterilizatsiyasi, sunʼiy ozuqa muhiti, eksplantlar regeneratsiyasi, proliferatsiyasi, rizogeneziga fitoregulyatorlarning taʼsiri, akklimatizatsiya bosqichlarikabi bir qator sharhlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning **“Tadqiqot oʻtkazish joyi, sharoiti, materiallari va uslublari”** deb nomlangan ikkinchi bobida tadqiqotning olib borilgan muddati, oʻtkazish joyi, sharoiti, foydalanilgan asbob-uskunalar, reaktiv va reagentlar, nav namunalari, HvSSRT markerlar toʻplami, tadqiqot oʻtkazish uslublari (molekulyar, biotexnologik), laboratoriyada molekulyar va mikroklonli koʻpaytirish usullarini amalga oshirish borasidagi ishlar, olingan natijalarni tahlil qilishda qoʻllanilgan bioinformatik va statistik uslublar kabi maʼlumotlar bayon qilingan.

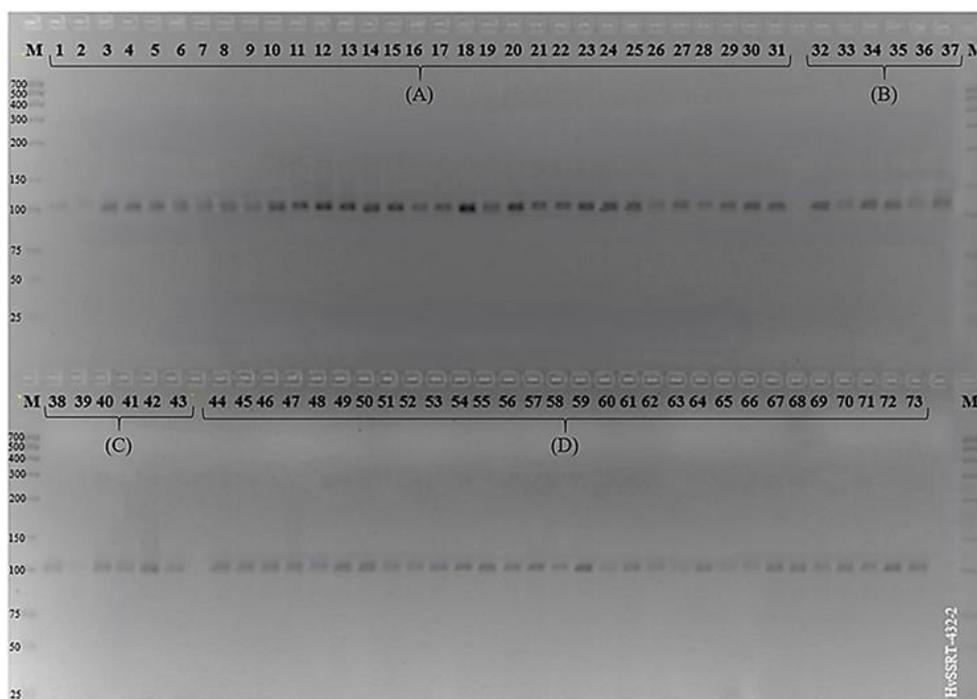
Dissertatsiyaning **“Anor navlarining genetik polimorfizmi asosida ularning filogenetik munosabatlarini aniqlash va genetik pasportlarini ishlab chiqish”** deb nomlangan uchinchi bobining birinchi boʻlimida tadqiqot uchun tanlab olingan nav namunalari genetik polimorfizmni aniqlash maqsadida mikrosatellit (HvSSRT) markerlardan foydalanib, PZR tahlillari oʻtkazildi. PZR tahlili natijalari gel elektroforezi usuli yordamida vizual tarzda amalga oshirildi (1-2-rasmlarga qarang).

Ushbu tadqiqotga jalb etilgan 100 ta mikrosatellit (HvSSRT) markerlarning 98 ta toʻliq amplifikatsiya kuzatilganligi va 2 tasida amplifikatsiya kuzatilmaganligi aniqlandi. Toʻliq amplifikatsiya kuzatilgan markerlar tadqiqot ishlarini davom ettirish uchun ajratib olindi. PZR tahlillari natijalariga koʻra, ushbu markerlarning 62 tasi yuqori polimorfizmni ($PIC > 0,5$), 30 tasi oʻrtacha yuqori polimorfizmni ($0,25 > PIC < 0,5$), 5 tasi past polimorfizmni ($PIC < 0,25$) 1 tasi monomorf ekanligi aniqlandi va yuqori polimorfizmga ega markerlar paneli ishlab chiqildi.

Amplifikatsiya kuzatilgan jami 98 ta markerlar yigʻindisi boʻyicha allellar soni 428 tani tashkil qildi. Umumiy allellar soni har bir marker uchun oʻrtacha 3,46 tadan toʻgʻri kelganligi aniqlandi. Polimorfizm namoyon etgan markerlar 2 tadan 14 tagacha boʻlgan allellarni amplifikatsiya etganligi aniqlandi.



1-Rasm. Tadqiqot namunalarining polimorfliligi yuqori bo‘lgan HvSSRT53 praymeri yordamidagi amalga oshirilgan PZR tahlilining elektroforegrammasi. **M**-molekular og‘irlik markeri; **1-73** - tadqiqot navlari namunalari.



2-Rasm. Tadqiqot namunalarining polimorfliligi past bo‘lgan HvSSRT432 praymeri yordamidagi amalga oshirilgan PZR tahlilining elektroforegrammasi. **M**-molekular og‘irlik markeri; **1-73** - tadqiqot navlari namunalari.

Markerlarning PIC qiymati 0,09 (HvSSRT-532) dan 0,87 (HvSSRT-53) gacha o‘zgarib borganligi va shu bilan bir qatorda geterozigotalik ehtimoli (0,10-0,88) va samarali allellar soni (1,11-8,34) ham PIC qiymatiga bog‘liq holda o‘zgarib borganligi kuzatildi (1-jadvalga qarang).

1-jadval

Markerlarning allellar soni, polimorfik axborot tarkibi (PIC), geterozigotalik ehtimoli (He) va samarali allellar soni (Ne)

№	Markerlar	Allellar soni	Allel o'lchami	PIC	HE	NE	Ishchi harorat (°C)	Xromosomadagi o'rni
1	HvSSRT-53	14	122-380	0,87	0,88	8,34	56-58	I
2	HvSSRT-891	8	195-355	0,85	0,86	7,40	56	VIII
3	HvSSRT-100	10	125-380	0,83	0,85	6,73	58	I
4	HvSSRT-88	11	125-495	0,83	0,85	6,54	56-58	I
5	HvSSRT-827	6	175-254	0,79	0,82	5,45	56	VIII
6	HvSSRT-435	7	85-205	0,78	0,81	5,29	56	IV
7	HvSSRT-882	5	139-157	0,75	0,79	4,67	58-60	VIII
8	HvSSRT-321	6	129-163	0,75	0,78	4,56	56	III
9	HvSSRT-207	7	138-270	0,74	0,78	4,47	56	II
10	HvSSRT-217	6	132-337	0,74	0,77	4,42	56	II
11	HvSSRT-110	5	201-282	0,74	0,77	4,39	58	I
12	HvSSRT-344	7	123-210	0,72	0,76	4,19	56	III
13	HvSSRT-843	6	220-268	0,73	0,76	4,18	56	VIII
14	HvSSRT-773	6	244-395	0,72	0,76	4,09	55-56	VII
15	HvSSRT-81	5	205-384	0,71	0,75	4,08	56	I
16	HvSSRT-290	8	91-270	0,51	0,75	3,98	56	II
17	HvSSRT-143	6	175-240	0,70	0,74	3,82	56-58	I
18	HvSSRT-254	4	185-223	0,69	0,74	3,80	56	II
19	HvSSRT-26	9	162-340	0,67	0,74	3,78	56	I
20	HvSSRT-222	5	143-230	0,69	0,73	3,76	56-58	II
21	HvSSRT-322	5	124-191	0,68	0,73	3,72	58	III
22	HvSSRT-336	5	161-215	0,68	0,73	3,69	56	III
23	HvSSRT-823	5	156-182	0,68	0,73	3,66	56	VII
24	HvSSRT-111	7	133-239	0,66	0,72	3,56	58	I
25	HvSSRT-700	4	184-218	0,65	0,71	3,46	56-58	VI
26	HvSSRT-213	4	185-222	0,65	0,71	3,44	56	II
27	HvSSRT-487	4	100-150	0,65	0,71	3,42	56	IV
28	HvSSRT-835	6	122-147	0,65	0,71	3,42	56	VIII
29	HvSSRT-787	5	211-320	0,65	0,70	3,38	56	VII
30	HvSSRT-751	4	114-175	0,64	0,70	3,34	56	VII
31	HvSSRT-788	5	223-249	0,64	0,70	3,29	56	VII
32	HvSSRT-413	4	100-176	0,63	0,70	3,29	56	III
33	HvSSRT-102	7	128-201	0,64	0,69	3,25	56-58	I
34	HvSSRT-180	4	160-201	0,62	0,69	3,18	56-58	II
35	HvSSRT-831	4	107-159	0,63	0,68	3,16	56	VIII
36	HvSSRT-853	5	139-157	0,63	0,68	3,12	56	VIII
37	HvSSRT-188	5	124-213	0,61	0,68	3,09	56-58	II

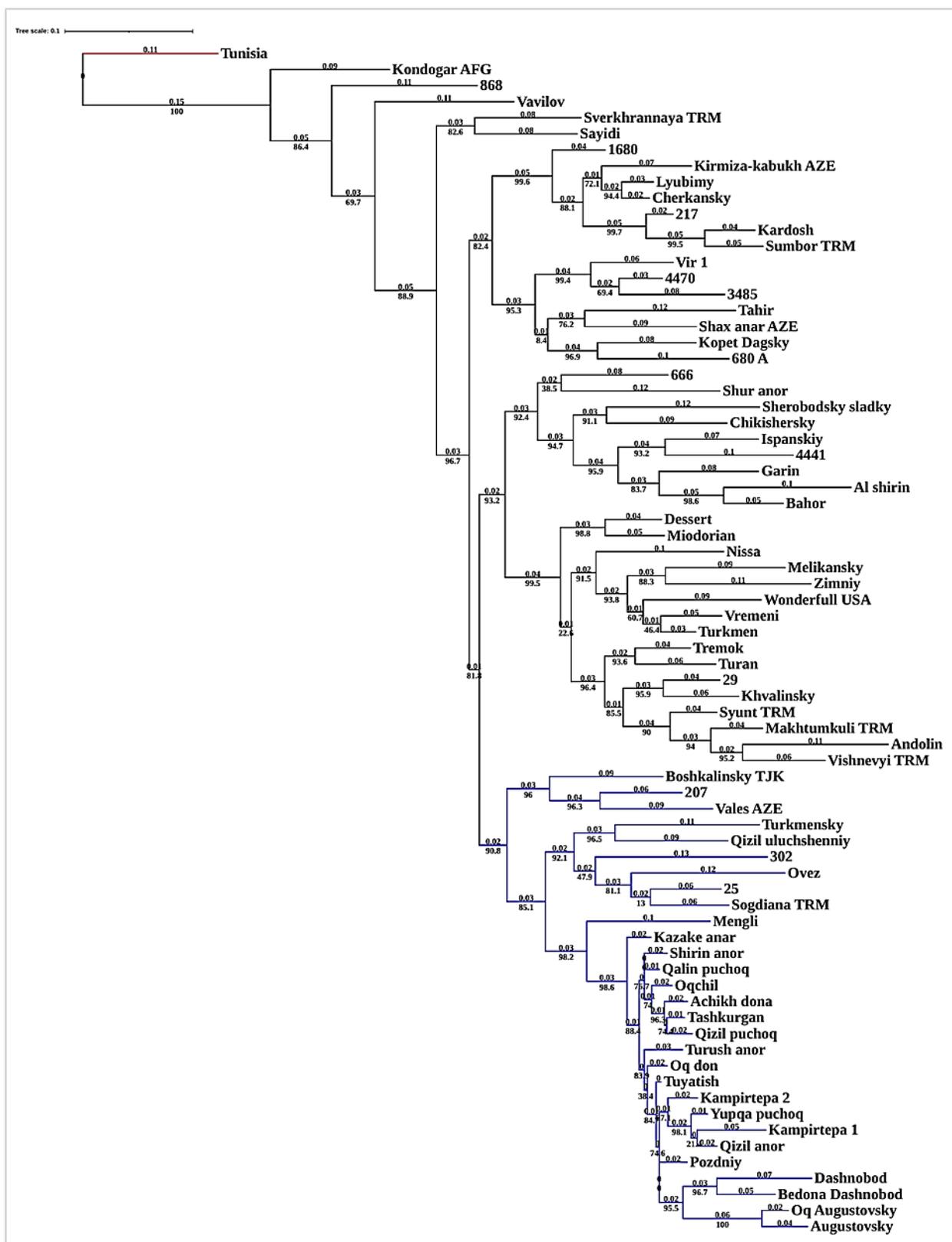
№	Markerlar	Allellar soni	Allel o'lchami	PIC	HE	NE	Ishchi harorat (°C)	Xromosomadagi o'rni
38	HvSSRT-692	4	163-207	0,61	0,67	3,06	58	VI
39	HvSSRT-251	5	151-208	0,62	0,67	3,03	58	II
40	HvSSRT-64	4	170-390	0,60	0,67	3,02	58	I
41	HvSSRT-713	6	193-276	0,61	0,67	3,02	56	VI
42	HvSSRT-318	5	179-256	0,61	0,67	3,01	56	III
43	HvSSRT-187	4	159-184	0,61	0,67	3,01	56	II
44	HvSSRT-762	3	144-158	0,59	0,66	2,96	58	VII
45	HvSSRT-714	4	107-120	0,61	0,66	2,93	56	VI
46	HvSSRT-311	3	133-146	0,58	0,66	2,91	56-58	III
47	HvSSRT-389	5	100-231	0,59	0,65	2,88	56	III
48	HvSSRT-11	4	151-175	0,58	0,65	2,86	55-56	I
49	HvSSRT-680	3	155-178	0,56	0,64	2,78	58	VI
50	HvSSRT-313	5	95-138	0,57	0,64	2,77	56-58	III
51	HvSSRT-9	7	188-290	0,61	0,64	2,75	56	I
52	HvSSRT-628	5	197-232	0,56	0,63	2,69	56	V
53	HvSSRT-728	4	127-139	0,55	0,62	2,64	56	VI
54	HvSSRT-377	5	173-216	0,54	0,62	2,62	56	III
55	HvSSRT-349	3	135-162	0,52	0,60	2,50	56	III
56	HvSSRT-466	3	197-239	0,51	0,60	2,50	58	IV
57	HvSSRT-335	5	145-169	0,52	0,60	2,49	56	III
58	HvSSRT-225	3	87-108	0,50	0,58	2,40	56-57	II
59	HvSSRT-514	3	127-145	0,50	0,58	2,37	56	IV
60	HvSSRT-43	4	133-253	0,50	0,57	2,35	56	I
61	HvSSRT-736	3	178-205	0,51	0,57	2,34	58	VI
62	HvSSRT-210	5	120-281	0,47	0,57	2,32	56	II
63	HvSSRT-22	5	203-250	0,51	0,57	2,31	56	I
64	HvSSRT-665	3	150-172	0,48	0,54	2,20	55-56	VI
65	HvSSRT-536	3	92-123	0,45	0,54	2,20	56	IV
66	HvSSRT-59	3	152-181	0,47	0,54	2,17	56	I
67	HvSSRT-754	3	153-217	0,43	0,54	2,16	56	VII
68	HvSSRT-456	4	145-236	0,41	0,53	2,11	58	IV
69	HvSSRT-369	3	96-137	0,39	0,50	2,01	58	III
70	HvSSRT-137	2	240-266	0,38	0,50	2,00	58	I
71	HvSSRT-279	2	150-176	0,38	0,50	2,00	56	II
72	HvSSRT-439	3	168-241	0,45	0,50	2,00	56-58	IV
73	HvSSRT-465	2	143-166	0,38	0,50	2,00	58	IV
74	HvSSRT-589	2	152-181	0,38	0,50	2,00	56	V
75	HvSSRT-711	2	146-166	0,38	0,50	2,00	56	VI
76	HvSSRT-746	2	177-189	0,38	0,50	2,00	55-56	VII
77	HvSSRT-818	2	160-195	0,38	0,50	2,00	56	VII
78	HvSSRT-697	2	104-115	0,37	0,49	1,97	56	VI

№	Markerlar	Allellar soni	Allel o'lchami	PIC	HE	NE	Ishchi harorat (°C)	Xromosomadagi o'rni
79	HvSSRT-820	2	113-158	0,37	0,49	1,96	58	VII
80	HvSSRT-517	3	162-189	0,39	0,49	1,95	56	IV
81	HvSSRT-104	3	94-106	0,40	0,47	1,89	56-58	I
82	HvSSRT-147	3	124-133	0,38	0,46	1,84	56	I
83	HvSSRT-39	2	182-202	0,35	0,45	1,82	56	I
84	HvSSRT-117	2	144-165	0,34	0,44	1,79	58	I
85	HvSSRT-463	3	199-224	0,37	0,42	1,72	56	IV
86	HvSSRT-342	5	157-255	0,39	0,42	1,71	58	III
87	HvSSRT-122	6	118-225	0,37	0,40	1,68	58	I
88	HvSSRT-437	2	137-141	0,31	0,39	1,63	56	IV
89	HvSSRT-834	3	122-130	0,34	0,38	1,61	56	VIII
90	HvSSRT-145	3	138-150	0,32	0,35	1,53	58	I
91	HvSSRT-668	3	188-200	0,27	0,29	1,42	56	VI
92	HvSSRT-24	4	168-210	0,26	0,28	1,39	58	I
93	HvSSRT-555	2	167-169	0,20	0,23	1,30	56-58	V
94	HvSSRT-609	2	154-171	0,19	0,21	1,27	58	V
95	HvSSRT-475	2	148-151	0,17	0,19	1,23	56	IV
96	HvSSRT-432	3	127-151	0,18	0,19	1,23	56	IV
97	HvSSRT-359	2	134-143	0,09	0,10	1,11	58	III
98	HvSSRT-532	1	134-134	0	0	1,00	56	IV
99	HvSSRT-512	0	0	0	0	0	58	III
100	HvSSRT-520	0	0	0	0	0	56	III

Yuqori polimorfizmga ega bo'lgan 62 ta marker genetik tadqiqotlar va seleksiya uchun asosiy panel sifatida tanlab olindi. 30 ta o'rtacha yuqori polimorfizmga ega markerlar zaxira sifatida saqlanib, qo'shimcha tahlillar uchun ajratib olindi. Ushbu SSR markerlar paneli seleksiya dasturlarida, genetik tadqiqotlarda va populyatsiyalarni farqlashda samarali qo'llanilishi mumkin (1-jadvalga qarang).

Ushbu bobning birinchi bo'limi tadqiqot namunalarining filogenetik munosabatlari qismida anor nav namunalarining o'zaro genetik polimorfizmi ma'lumotlari asosida ularning genetik yaqinliklari va farqlari aniqlandi (3-rasmga qarang). Olingan natija ko'ra filogenetik daraxt ikkita asosiy guruhga ajralganligi aniqlandi. Birinchi asosiy guruh yagona genotipdan ya'ni tashqi guruh sifatida tanlab olingan Tunisia navidan iborat bo'lib, ushbu navning genetik masofasi 0,11 tashkil etdi va 100% bootstrap qiymati bilan boshqa tadqiqot navlariga nisbatan yuqori darajada farq qilganligi kuzatildi. Ikkinchi asosiy guruhda tadqiqotga jalb etilgan navlar joylashganligi kuzatildi va o'z navbatida ikkita kichik guruhlariga ajralganligi aniqlandi. Ushbu guruhning genetik masofasi 100% bootstrap yuklanishi bilan 0,15 ni tashkil etdi (3-rasmga qarang). Shu bilan bir qatorda mahalliy genotiplar Ozorbayjon, Tojikiston va Turkmaniston mintaqalariga tegishli

genotiplar bilan 0,02 genetik masofada 90,8% bootstrap yuklanishi bilan alohida kichik guruhni tashkil etdi.



3-Rasm. Tadqiqot navlarining evolyutsion bog‘liqligi ular orasidagi genetik masofalar va bootstrap qiymatlari

Ushbu natija mahalliy navlarning qo'shni mintaqalardan introduksiya qilingan ekanligini isbotlaydi. Dendrogramma ma'lumotlariga ko'ra Dashnabod va Bedona Dashnabod navlari genetik jihatdan bir-biriga juda yaqin genotiplar ekanligini ya'ni ikkita genotipning genetik masofasi 96,7% bootstrap yuklanishi bilan 0,03 ni tashkil etdi. Shu bilan bir qatorda Augustovskiy va Oq Augustovskiy navlarining genetik masofasi 100% bootstrap yuklanishi bilan 0,06 ni tashkil etdi bu navlar genetik jihatdan juda yaqin genotiplar yoki bitta genotip bo'lishi mumkin (3-rasmga qarang).

Mikrosatellit markerlar ma'lumotlari asosida anor genotiplari uchun genetik o'xshashlik matritsasi foiz ko'rsatkichi Clustal X2 dasturi yordamida tahlil qilindi. Ushbu tahlil natijasiga ko'ra tashqi guruh sifatida tanlab olingan Tunisia navi tadqiqot navlariga nisbatan 49% dan 56% gacha genetik o'xshashlik darajalarini namoyon etdi.

Shu bilan bir mahalliy navlarning o'zaro va xorijiy navlar bilan genetik o'xshashlik darajalari turli ko'rsatkichlarni namoyon qildi. Jumladan mahalliy Qizil anor navi mahalliy Yupqa po'choq naviga nisbatan eng yuqori 97% ga, Kampirtepa 1 va Kampirtepa 2 navlariga nisbatan mos ravishda 93% va 94% ga hamda Augustovsky va Oq Augustovsky navlariga nisbatan esa 87% va 89% ga genetik o'xshashlik darajasini namoyon etdi. Olingan ma'lumotlar va tahlil natijalariga ko'ra Tunisia navi (tashqi guruh) tadqiqot navlariga nisbatan eng past darajadagi genetik yaqinlikni namoyon etdi. Shu bilan birga mahalliy navlarga genetik jihatdan yaqinlik darajalari Afg'oniston genotiplariga 78% gacha, Ozarbayjon genotiplariga 87% gacha, Tojikiston genotiplariga 82% gacha va eng yuqori foiz ko'rsatkichi Turkmaniston genotiplariga 91% ekanligi aniqlandi. Ushbu genetik yaqinlik darajalari esa o'z navbatida mahalliy navlar Turkmaniston mintaqasi orqali kirib kelganligi va mahalliy lashtirilganligini ko'rsatadi.

Uchinchi bobning ikkinchi bo'limida "Core set" markerlar to'plamini aniqlandi va uning verifikatsiyasi amalga oshirildi. Ushbu tadqiqotda "Core set" markerlar to'plamini aniqlash quyidagi bosqichlarda amalga oshirildi:

Tajriba usulida tanlash. Anor navlarining genetik xilma-xilligini aniqlash uchun 100 ta SSR markerdan foydalanib, tajribalar o'tkazildi. Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) natijalari va elektroforez spektrlari tekshirildi. Olingan natijalar asosida "Core set" markerlar paneli tuzildi.

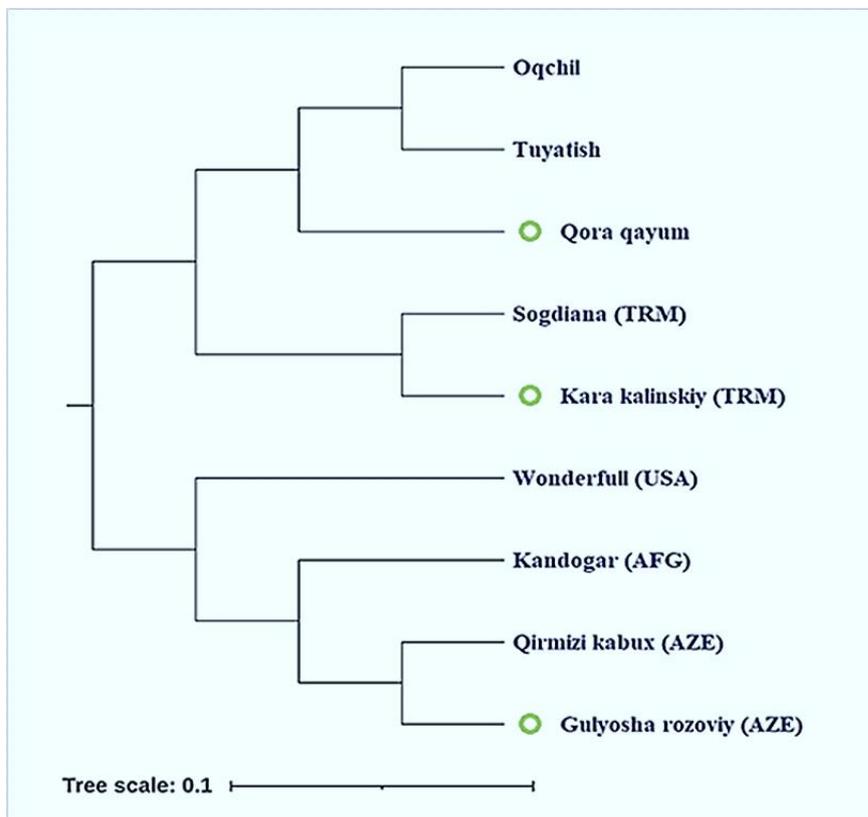
Statistik usullar yordamida tanlash. R-studio (2023.12.0+369) dasturi yordamida polimorfizm darajasini nomoyon etgan markerlarning allellar soni, polimorfik axborot tarkibi (PIC), geterozigotalik ehtimoli (He) va samarali allellar soni (Ne) bo'yicha asosiy komponentlar tahlili (PCA) natijasida samarali allellar soniga ega markerlar soni aniqlandi. Asosiy komponentlar tahlili (PCA) natijalariga ko'ra HvSSRT markerlar polimorfizmi bo'yicha ikkita asosiy komponentlarga ajraladi ya'ni 1-bosh komponent (PC1) 93,52% ni, 2-asosiy komponent (PC2) 5,92% ni tashkil etdi. Shu bilan bir qatorda HvSSRT markerlarning xilma-xilligi polimorfizm darajasi bo'yicha 4 ta asosiy guruhga bo'linganligi aniqlandi.

Genetik masofa va dendrogramma asosida tanlash. MEGA 11 dasturi yordamida filogenetik daraxt (dendrogramma) tahlil qilinib, eng yaxshi ajratuvchi markerlar aniqlanadi. Amplifikatsiyalangan 98 ta HvSSRT marker ma'lumotlaridan

shakllangan filogenetik daraxt nazorat sifatida qabul qilinib, keyingi filogenetik munosabatlar tahlili amalga oshirildi. Keyingi filogenetik daraxtlar shakllantirilishida polimorfizm darajasi past bo'lgan markerlar soni qisqartirib borildi. Bu jarayon, filogenetik daraxt shakli nazorat daraxtiga nisbatan farq namoyon etmagunicha davom ettirildi. Takrorlashlar markerlar soni 15 taga yetgunicha amalga oshirildi va keyingi takrorlashlarda asosiy guruhlardagi o'zgarishlar keskin darajada kuzatilganligi aniqlandi.

Shu tariqa, ishonchlilik koeffitsiyenti yuqori bo'lgan 15 ta HvSSRT markerlari yordamida filogenetik daraxti shakllantirildi. Anor navlari o'rtasidagi farqlilikni aniqlash va navlarni identifikatsiya qilishda 98 ta mikrosatellit markerlar to'plami bera oladigan ma'lumotni taqdim qila oladigan 15 ta HvSSRT markerlar to'plamni qisqa vaqt ichida natijani qo'lga kiritishni va iqtisodiy tejamkorlikka erishishni ta'minlaydi.

Anor navlari genetik pasporti uchun tanlab olingan "Core set" markerlar yordamida ayrim anor navlarida markerlar verifikatsiyasi (tasdiqlash) bilan bog'liq tadqiqotlar o'tkazildi. Buning uchun mahalliy va xorijiy davlatlar (Turkmaniston, Afg'oniston, Ozorbayjon, AQSH) navlaridan iborat to'plam shakllantiriladi. To'plam 9 ta navdan iborat bo'lib, Turkmanistonning Kara-kalinskiy, Afg'onistonning Kandogar, Ozorbayjonning Gulyosha rozoviy va AQSH ning Wonderfull navlari hamda mahalliy Oqchil, Tuyatish va Qora qayum navlari tanlab olindi. O'z navbatida to'plamdagi Kandogar, Wonderfull, Oqchil va Tuyatish navlari nazorat navlari sifatida tekshirildi. Olingan genotipik ma'lumotlar asosida anor navlarining filogenetik daraxti tuzildi.



4-Rasm. "Core set" markerlar to'plamini yordamida shakllantirilgan filogenetik daraxt.

15 ta “Core set” markerlardan shakllantirilgan filogenetik daraxtda navlar ikkita asosiy guruhga joylashganligi kuzatildi. Birinchi guruhdan jami 5 ta mahalliy (Qora qayum, Oqchil, Tuyatish) va Turkmaniston (Sogdiana, Kara-kalinskiy) navlari joy oldi. Ikkinchi asosiy guruh esa 4 ta Ozorbayjon (Qirmizi kabux, Gulyosha rozoviy), Afg‘oniston (Kandogar) va AQSh (Wonderfull) navlarni o‘z ichiga oldi. Ikkinchi asosiy guruh ham o‘z navbatida 3 ta kichik guruhlarga tarmoqlanganligi kuzatildi (4-rasmga qarang).

Uchinchi bobning uchinchi bo‘limida tadqiqot navlarining genetik pasportini ishlab chiqishda 8 ta xromosomaga xos bo‘lgan, ishonchlilik darajasi yuqori bo‘lgan 15 ta “Core set” markerlarning molekulyar skrining natijalari (polimorfizm) asosida amalga oshirildi. Anor navlarining pasportini ishlab chiqishda, har bir markerning molekular og‘irligi namunalarda kelishi bilan tartiblandi hamda alifbo harflari va ketma-ketligida kodlandi. Markerlarning molekular og‘irligi asosida ishlab chiqilgan DNK kodlaridan foydalanib, kolleksiya namunalarining genetik passporti ishlab chiqildi (2-jadvalga qarang).

2-jadval

Qizil anor naviga berilgan genetik barkod

Nav nomi	Navga berilgan genetik kod	Molekulyar og‘irligi (juft asos)
Qizil anor	A ₂ , A ₅ , A ₈ , A ₁₀ , A ₁₁ , A ₁₄ , B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄ , B ₆ , B ₇ , B ₈ , C ₁ , C ₂ , C ₄ , C ₅ , C ₆ , C ₇ , D ₁ , D ₃ , D ₅ , D ₈ , E ₂ , E ₅ , F ₁ , F ₂ , F ₇ , G ₁ , G ₂ , G ₃ , H ₂ , H ₃ , H ₅ , I ₂ , I ₃ , I ₆ , J ₁ , J ₃ , K ₁ , K ₄ , K ₆ , L ₃ , L ₆ , M ₂ , M ₄ , M ₈ , N ₄ , O ₁ , O ₇ ,	A-HvSSRT_53 :A ₂ -350, A ₅ -286, A ₈ -188, A ₁₀ -159, A ₁₁ -151, A ₁₄ -122. B-HvSSRT_891 :B ₁ -355, B ₂ -287, B ₃ -276, B ₄ -238, B ₆ -225, B ₇ -214, B ₈ -195. C-HvSSRT_100 :C ₁ -380, C ₂ -288, C ₄ -230, C ₅ -190, C ₆ -171, C ₇ -143. D-HvSSRT_88 :D ₁ -495, D ₃ -336, D ₅ -267, D ₈ -160. E-HvSSRT_827 :E ₂ -238, E ₅ -180. F-HvSSRT_435 :F ₁ -205, F ₂ -175, F ₇ -85. G-HvSSRT_321 :G ₁ -163, G ₂ -145, G ₃ -137. H-HvSSRT_207 : H ₂ -210, H ₃ -188, H ₅ -180. I-HvSSRT_217 :I ₂ -257, I ₃ -150, I ₆ -132. J-HvSSRT_344 :J ₁ -210, J ₃ -182. K-HvSSRT_843 :K ₁ -268, K ₄ -236, K ₆ -220. L-HvSSRT_773 : L ₃ -276, L ₆ -244. M-HvSSRT_143 :M ₂ -260, M ₄ -216, M ₈ -91. N-HvSSRT_143 :N ₄ -180. O-HvSSRT_26 :O ₁ -340, O ₇ -182.

Dissertatsiyaning “**Anor navlarini in vitro sharoitida mikroklonli ko‘paytirish**” nomli to‘rtinchi bobida tadqiqot namunalarining August, Kazake-anar, Achiq-dona, Tuyatish kabi navlarining mikroklonli ko‘paytirish jarayonlari amalga oshirildi. To‘rtinchi bobning birinchi bo‘limida eksplantlar sirt sterilizatsiyasi amalga oshirilgan bo‘lib, anor navlari eksplantlari sirt sterilizatsiyasida 5 daq. H₂O₂ (3%) + 20 sek C₂H₅OH (96%) + 20 daq. NaClO (2%) + Twin-20 + H₂O kabi sirt sterilantlaridan foydalanish anor eksplantlarining omon qolish darajalarini 97-100% gacha oshirganligi aniqlandi. Anor eksplantlarni ozuqa muhitiga ekish va eksplantlar regeneratsiyasiga fitoregulyatorlar ta’sirini baholashda ikki xil ozuqa muhiti, fitoregulyatorlarning turi va konsentratsiyalari tajribalar orqali tanlab olindi. WPM ozuqa muhitida yetishtirilgan mikronovdalar MS muhitidagi mikronovdalarga nisbatan morfologik jihatdan biroz farq kuzatildi ammo statistik jihatdan sezilarli farqlar kuzatilmadi.

Ushbu bo‘limda MS va WPM ozuqa muhitlarida tadqiqot navlarining eksplantlari rizogeneziga supromolekulyar kompleks preparatining ikki xil konsentratsiyalari (0,15 mg/L, 0,17 mg/L) ta’siri o‘rganilgan. Har ikkala ozuqa

muhitlariga supramolekular kompleksning 0,15 mg/L konsntratsiyasining qo‘shilishi tajriba navlari eksplantlarida rizogenez darajalarini nazorat variantiga nisbatan 2-3 marta, 0,17 mg/L konsntratsiyasining qo‘llanishi esa 3-5 marta oshirganligi aniqlandi.

To‘rtinchi bobning ikkinchi bo‘limida tadqiqot navlarining regenerat mikroo‘simliklari transplantatsiyasi va akklimatizatsiyasi amalga oshirilgan bo‘lib, o‘tkazilgan tadbirlar natijasida fitotron sharoitida yetishtirilgan mikroo‘simliklar 90% dan yuqori omon qolish darajasini nomoyon qilganligi aniqlandi.

XULOSALAR

“Anorning (*Punica granatum* L.) mahalliy navlarini genetik tahlil qilish va *in vitro* usuli yordamida mikroklonli ko‘paytirish” mavzusidagi biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar natijasida quyidagi xulosalar taqdim etilgan:

1. Ushbu tadqiqotda foydalanilgan 100 ta mikrosatellit markerlarning 62 tasi yuqori polimorf (PIC > 0,5), 30 tasi o‘rtacha yuqori polimorf (0,25 > PIC < 0,5), 5 tasi past polimorf (PIC < 0,25) 1 tasi monomorf ekanligi, hamda 2 tasida to‘liq yoki qisman PZR mahsuloti namoyon etmaganligi aniqlandi.

2. Polimorfizm namoyon etgan markerlar 2 tadan 14 tagacha bo‘lgan allellarni amplifikatsiya etganligi aniqlandi. Ampifikatsiya kuzatilgan jami 98 ta markerlar yig‘indisi bo‘yicha allellarning umumiy soni 428 tani tashkil qildi.

3. Tadqiqot obyekti navlarining filogenetik munosabatlariga ko‘ra ushbu daraxtda tashqi guruhning (Tunisia) genetik masofasi 0,11 nisbiy birlikni tashkil etdi va 100% bootstrap qiymati bilan boshqa tadqiqot navlariga nisbatan yuqori darajada farq qilganligi aniqlandi va tadqiqot navlariga nisbatan 49% dan 56% gacha genetik o‘xshashlik darajalarini namoyon etdi.

4. Genetik jihatdan yaqinlik darajalariga ko‘ra mahalliy navlar 78% Afg‘oniston, 87% Ozarbayjon, 82% Tojikiston va 91% Turkmaniston genotiplariga o‘xshash ekanligi aniqlandi.

5. Ehtimoliy populyatsiyalarga ajralishiga ko‘ra, Tunisia navi alohida populyatsiyani, tadqiqot nav namunalari esa 6 ta kichik populyatsiyaga ajralganligi aniqlandi. Shu bilan birga mahalliy navlar alohida kichik populyatsiyani tashkil etdi.

6. Birinchi marta O‘zbekistonda *Punica granatum* L. turi uchun “Core set” markerlar to‘plami tanlab olindi va ularning paneli ishlab chiqildi hamda ular yordamida 23 ta mahalliy anor genotiplarining genetik pasporti ishlab chiqildi.

7. Genetik pasportlash uchun tanlab olingan 15 ta (HvSSRT-53, HvSSRT-891, HvSSRT-100, HvSSRT-88, HvSSRT-827, HvSSRT-435, HvSSRT-321, HvSSRT-207, HvSSRT-217, HvSSRT-344, HvSSRT-843, HvSSRT-773, HvSSRT-290, HvSSRT-143, HvSSRT-26) “Core set” markerlar yordamida mahalliy va xorijiy davlatlar (Turkmaniston, Ozorbayjon, Afg‘oniston, AQSH) navlari verifikatsiyasi amalga oshirildi va tasdiqlandi.

8. Ilk bor Supramolekulyar kompleks preparatining ta’siri ayrim anor mikronovdalari rizogeneziga tadbiiq etildi. Supramolekulyar kompleksning 0,15

mg/L konsentratsiyasi rizogenez jarayonini nazorat variantiga nisbatan 2-3 marta, 0,17 mg/L konsentratsiyasi esa 3-5 marta oshirganligi aniqlandi.

9. Regenerant o'simliklarni nosteril sharoitga ko'chirib o'tkazish (transplantatsiya) va iqlimlashtirish (akklimatizatsiya) tadbirlari natijasida regenerant o'simliklarning omon qolish darajasi 90% ni tashkil etdi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019. В.53.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ ГЕНЕТИКИ И
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

ЦЕНТР ГЕНОМИКИ И БИОИНФОРМАТИКИ

БОЛКИЕВ АБДУВАХИД АБДУЛЛАЕВИЧ

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕСТНЫХ СОРТОВ ГРАНАТА (*PUNICA
GRANATUM* L.) И ИХ МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ
МЕТОДОМ *IN VITRO***

03.00.14 -Геномика, протеомика и биоинформатика

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

Ташкент – 2025

Тема диссертации доктора философии (PhD) за зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве Высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером B2023.4.PhD/B1071.

Диссертационная работа выполнена в Центре геномики и биоинформатики.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.genetika.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель:	Убайдуллаева Хуршида Абдуллаевна доктор биологических наук., старший научный сотрудник
Официальные оппоненты:	Кушанов Фахриддин Нейматуллаевич доктор биологических наук., профессор Якубов Миракбар Даниярович доктор биологических наук., старший научный сотрудник
Ведущая организация:	Гулистанский государственный университет

Защита диссертации состоится ____ - _____ 2025 года в __⁰⁰ часов на заседании Ученого совета DSc.02/30.12.2019.B.53.01 при Институте генетики и экспериментальной биологии растений (Адрес: 111208, Ташкентская область, Кибрайский район, пос. Юкори-Юз, дом 266, Актовый зал института генетики и экспериментальной биологии растений. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-23-90; e-mail: igebr@academy.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в информационно-ресурсном центре Института генетики и экспериментальной биологии (зарегистрировано за № ____). Адрес: 111208, Ташкентская область, Кибрайский район. Пос. Юкори-Юз, дом 266. Тел: (+99871) 264-23-90

Автореферат диссертации разослан « ____ » _____ 2025 года.
(реестр протокола рассылки № от « ____ » _____ 2025 года).

А.А. Нариманов
Председатель ученого совета по присуждению ученых степеней, д.с.х.н., профессор

И.Дж. Курбанбаев
Ученый секретарь ученого совета по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

И.Т. Каххаров
Председатель научного семинара при ученом совете по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (Аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время в мире наблюдается усиление демографических факторов, в частности, стремительный рост численности населения, что приводит к увеличению потребления продуктов питания. Выращивание граната выращивается в относительно ограниченных аграрных зонах и занимает ограниченные площади в глобальном сельском хозяйстве. Общая площадь плантация граната в мире составляет около 500 тысяч гектаров, при этом годовой объём производства достигает 6 миллионов тонн.

В мировой практике сельского хозяйства, особенно в садоводстве, активно проводятся исследования по идентификации, описанию и сертификации генетических характеристик растений с использованием ДНК-маркеров. Эти исследования направлены на генетические различия сортов растений, определение их происхождения и наследственных признаков, а также на ускорение селекционного процесса и повышение его эффективности. В этом направлении особое внимание уделяется изучению генетической структуры и наследственного разнообразия популяций граната (*Punica granatum* L.), а также применению ДНК-маркеров в технологии микрклонального размножения *in vitro*.

В Республике Узбекистан особое внимание уделяется внедрению научных достижений и инновационных технологий с целью развития гранатоводства, увеличения производственных мощностей и обеспечения конкурентоспособности продукции. В частности, ведутся научные исследования по созданию высокоурожайных, устойчивых к болезням и пригодных к экспорту сортов на основе современных генетических и биотехнологических подходов. В этом направлении принимаются меры по отбору сортов, адаптированных к климатическим условиям каждой зоны, применению современных методов в селекции, а также совершенствованию технологий хранения и переработки продукции с приведением их в соответствие с международными стандартами. В пункте 30 Стратегии развития «Новый Узбекистан» на 2022–2026 годы, утверждённой Президентом Республики Узбекистан, поставлена задача — за счёт научно обоснованного интенсивного развития сельского хозяйства увеличить доходы дехкан и фермеров не менее чем в 2 раза и обеспечить ежегодный рост аграрного сектора на уровне не ниже 5 %. Исходя из этих задач, генетический анализ местных сортов граната (*Punica granatum* L.), адаптированных к почвенно-климатическим условиям республики, и их микрклональное размножение методом *in vitro* приобретают важное научно-практическое значение.

Настоящее диссертационное исследование в определённой степени служит реализации Постановления Кабинета Министров Республики Узбекистан от 4 октября 2018 года № 791 «О мерах по расширению выращивания граната и развитию отрасли в Ферганской области», а также задач, изложенных в пункте 5 Приложения 1 к Постановлению Кабинета

Министров Республики Узбекистан от 2 февраля 2023 года № 51 «Об утверждении Национальной программы развития семеноводства и питомниководства в Республике Узбекистан на 2023–2026 годы».

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и техники республики V- «Сельское хозяйство, биотехнологии, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. Используемые нами для оценки генетического разнообразия, структуры популяции и генетического разнообразия между культивируемыми и дикими генотипами в зародышевой плазме граната и для других исследований, микросателлитные (SSR) маркеры были разработаны и применяются учеными по всему миру. В частности, Wang и др. (2023) проанализировали генетическое разнообразие и популяционную структуру 266 генотипов в китайской гранатовой коллекции гермоплазмы с использованием 40 молекулярных маркеров SSR с высоким полиморфизмом.

Было проведено множество исследований, таких как комплексная характеристика и валидация хромосомо-специфических высокополиморфных SSR-маркеров из генома тунисского граната (Patil и др. 2021), изучение генома граната и биосинтеза пуникалагина (Qin и др. 2017), характеристика и разработка SSR-маркеров всего генома граната (Patil и др. 2020), изучение генетической изменчивости иранских гранатов (Noormohammadi и др. 2012; Madadi и др. 2017), оценка генетического разнообразия гранатов и структуры популяций с помощью гипервариабельных SSR-маркеров (Patil и др. 2020), молекулярная характеристика генотипов гранатов (Çetinkaya и др. 2019) и анализ генетического разнообразия линий зародышевой плазмы Национального исследовательского центра гранатов ICAR (Kadam и др. 2023).

Кроме того, мировыми учеными было проведено множество исследований, связанных с микроклональным размножением граната. Naik и др. (1999) изучали распространение боковых (листовых пазушных) почек зрелых гранатовых деревьев, размножение сорта граната Bhagava из экплантов апикальных и боковых почек (Patil и др. 2011), было проведено микроклональное размножение коммерчески выращиваемых иранских сортов Malas Saveh, Yusuf Khani (Valizadeh Kaji и др. 2013) и многие другие исследования (Deerika R & Kanwar K., 2010; Suhasi и др. 2017; Desai и др. 2018; Prajwala и др. 2021; Janani и др. 2024).

На сегодняшний день наши ученые добились положительных результатов в молекулярно-генетическом анализе ряда растений с использованием SSR-маркеров. В частности, И.Я. Абдурахмонов и др. (2004) проанализировали геномы видов хлопчатника *G. barbadense* L. и *G. hirsutum* L., определили генетическое расстояние между исследуемыми образцами и составили их генетический паспорт. И.Б. Салахутдинов и др. (2020) провели генетическую паспортизацию и инвентаризацию сортов винограда из узбекской ампелографической коллекции, а Ж.К. Норбеков и др. (2024) разработали генетический паспорт местных сортов пшеницы с использованием метода

ДНК-штрихкодирования. Однако генетическое разнообразие и молекулярный паспорт местных сортов граната учеными до сих пор не разработаны.

Нашими учеными проведены и опубликованы несколько исследований по культивированию сортов граната *in vitro*. В частности, Ф.Ш. Эргашева и др. (2017) проводили культивирование *in vitro* и получали культуру соматических тканей некоторых сортов граната, а также проведена разработка питательной среды для микрклонального размножения граната (Х.А. Убайдуллаева и др., Ж.Ж. Кодиров и др. 2023).

Связь диссертационного исследования с научно-исследовательскими работами научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках практического проекта «Создание технологии микрклонального размножения *in vitro* местных сортов граната (*Punica granatum* L.)» (2020-2022 гг.) плана НИР Центра геномики и биоинформатики № ФЗ-2019051016 и исследований лаборатории трансгеномики и культуры тканей.

Цель исследования. Определение генетического разнообразия местных сортов граната, установление филогенетических связей между сортами, разработка индивидуальных генетических паспортов сортов и проведение микрклонального размножения методом *in vitro*.

Задачи исследования:

отбор образцов для исследований из существующих в республике коллекций граната;

ПЦР-анализ и генотипирование исследуемых образцов с использованием микросателлитных маркеров;

создание панели маркеров с высоким полиморфизмом среди исследуемых образцов;

определение генетического разнообразия и филогенетических связей исследуемых сортов;

определение набора маркеров «Core set» и их валидация;

создание генетического паспорта исследовательских сортов;

микрклональное размножение исследовательских образцов *in vitro*;

проведение акклиматизационных мероприятий в регенеративных микрорастениях.

Объектом исследования. В качестве объекта исследования были отобраны 76 образцов граната из имеющихся коллекций граната на Сурхандарьинских научно-экспериментальных станциях НИИ садоводства, виноградарства и виноделия имени академика М. Мирзаева и НИИ генетических ресурсов растений в системе Национального центра знаний и инноваций в сельском хозяйстве.

Предметом исследования является анализ генетического разнообразия коллекционных сортов граната, отобранных с помощью микросателлитных маркеров, их филогенетического родства, а также разработка индивидуальных генетических паспортов сортов.

Методы исследования. В диссертационном исследовании использовались молекулярно-биологические, геномные (выделение геномной

ДНК, ПЦР-анализ, генотипирование) и биотехнологические (поверхностная стерилизация растительного материала, микроклональное размножение, акклиматизация регенерантов) методы, а также биоинформатика (определение филогенетического родства) и статистические методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые проведена оценка местных сортов граната на основе генетического анализа и разработана технология их микроклонального размножения методом *in vitro*;

при использовании микросателлитных маркеров изучено генетическое разнообразие и филогенетические связи местных сортов граната;

создана панель маркеров «Core set» с высоким уровнем полиморфизма среди исследуемых сортов;

на основании проверки доказано, что маркеры «Core set», используемые при генетической паспортизации, также показали высокий полиморфизм у других сортов;

впервые в Узбекистане на основе высокополиморфных маркеров разработан генетический паспорт местных сортов граната;

разработаны наиболее оптимальные методы микроклонального размножения некоторых местных сортов граната *in vitro* (поверхностная стерилизация, оптимальная питательная среда, вид и состав фиторегуляторов, акклиматизация);

впервые доказано положительное влияние супрамолекулярного комплексного препарата на ризогенез эксплантов в условиях *in vitro*.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

Проведено генотипирование местных сортов граната на основе микросателлитных (SSR) маркеров и определены их генетическое разнообразие и филогенетические связи;

создана панель маркеров с высоким полиморфизмом и на их основе разработаны генетические паспорта каждого сорта;

установлено, что филогенетические деревья, построенные с использованием «Core set» 15 микросателлитных (SSR) маркеров с эффективным числом аллелей, структурно близки между собой и что для идентификации сортов граната (местных, иностранных) достаточно небольшого числа маркеров;

практически обоснованы наиболее оптимальный состав и продолжительность стерилизации поверхностных стерилизаторов эксплантатов;

практическими экспериментами доказано влияние регуляторов роста на регенерацию, разрастание (пролиферацию) регенерирующих эксплантов микро-побегов и препарата супрамолекулярного комплекса на ризогенез;

разработаны оптимальные нормы ухода за регенеративными микро-растениями в условиях фитотрона и теплицы.

Достоверность результатов исследования подтверждается применением современных методов молекулярной биологии и геномики, применением при статистической обработке полученных цифровых данных таких

статистических программ, как дисперсионный анализ (ANOVA), Т-тест и Graphpad Prism 9.5.1, публикацией результатов исследований в отечественных и зарубежных журналах, их обсуждением на международных и республиканских научно-практических конференциях, размещением генетических паспортов местных сортов на сайте Центра геномики и биоинформатики www.genomics.uz, а также созданием коллекции граната в Спецсеменоводческом хозяйстве центра из генетически паспортизированных сортообразцов.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследований объясняется тем, что было определено генетическое разнообразие местных сортов граната, уровни полиморфизма, филогенетические связи, верификация микросателлитных маркеров и количество эффективных аллелей маркеров, а также разработаны наиболее оптимальные научные методы микрклонального размножения местных сортов *in vitro* (поверхностная стерилизация, оптимальная питательная среда, вид и состав фиторегуляторов, акклиматизация).

Практическая значимость результатов исследований обусловлена использованием генотипических данных и филогенетических связей, полученных с использованием микросателлитных (SSR) маркеров, в качестве селекционно-вспомогательного материала, разработкой генетического паспорта сортов с помощью молекулярной идентификации и практического микрклонального размножения местных сортов *in vitro*.

Внедрение результатов исследования. Полученные научные и практические результаты по генетическому анализу местных сортов граната (*Punica granatum* L.) и микрклональному размножению методом *in vitro*:

Научно-практические методы микрклонального размножения местных сортов граната в условиях *in vitro* были использованы при реализации прикладного проекта № FZ-2019051016 на тему «Создание технологии микрклонального размножения местных сортов граната (*Punica granatum* L.) *in vitro*» в 2020–2022 годах (справка Академии наук Республики Узбекистан № 4/1255-2646 от 28 ноября 2023 года). В результате с помощью микросателлитных маркеров были идентифицированы генотипы местных сортов граната и проведена их молекулярная паспортизация.

Микрклонально размноженные сорта граната Ачик-дона, Казаке-анар, Дашнабад, Туятиш были внедрены на площади 2 га на агрофирме ООО «Фергана анорчилик» в городе Кувасай, Ферганской области (справка Совета фермерских, дехканских хозяйств и владельцев приусадебных земель Республики Узбекистан № 01/03-2502 от 7 декабря 2023 года). В результате было установлено, что саженцы граната, выращенные методом *in vitro*, по сравнению с традиционными способами выращивания, обладают более высокой адаптивностью к внешним условиям, меньшей поражаемостью болезнями и вредителями, ускоренными темпами роста и развития, а также значительно повышенной репродуктивной активностью.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований обсуждались на 6 научно-практических конференциях, в том числе 3 международных и 3 республиканских.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ. В том числе 4 статьи опубликованы в научных изданиях, рекомендованных к публикации Высшей аттестационной комиссией (ВАК) при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан, из них 1 в международных и 3 в республиканских журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы и приложений. Объем диссертации составляет 107 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении к диссертации обосновывается актуальность и значимость исследовательской работы, описываются цели и задачи, объект и предмет работы, указывается на соответствие исследовательской работы приоритетным направлениям развития науки и техники республики, описывается научная новизна и практические результаты исследования, подчеркивается научно-практическая значимость полученных результатов, указывается внедрение результатов исследования в практику, приводятся сведения об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации под названием «**Генетическое разнообразие, молекулярно-генетические и биотехнологические исследования граната (*Punica granatum* L.)**» представлен обзор работ зарубежных и отечественных ученых, имеющих отношение к теме диссертационной работы, а именно морфобиологические признаки растений граната, систематика, гермоплазма, их генетическое разнообразие и филогенетические связи, типы и уровни полиморфизма определённые на основе молекулярных маркеров, связь морфологических признаков с генетическим разнообразием, генетические паспорта, а также отбор эксплантов при микроклональном размножении, поверхностная стерилизация эксплантов, искусственные питательные среды, регенерация эксплантов, пролиферация, влияние фиторегуляторов на ризогенез, этапы акклиматизации.

Во второй главе диссертации, озаглавленной «**Место, условия, материалы и методы исследования**», продолжительность исследования, место, условия, используемое оборудование, реагенты и реактивы, сортообразцы, набор маркеров HvSSRT, методы исследования (молекулярные, биотехнологические), методы молекулярного и микроклонального размножения в лабораторных условиях, такие как биоинформатические и статистические методы, используемые в анализе полученных результатов.

В третьей главе диссертации в первом разделе третьей главы под названием «**Определение филогенетических связей и разработка**

генетических паспортов сортов граната на основе их генетического полиморфизма» были проведены ПЦР-анализы с использованием микросателлитных (HvSSRT) маркеров для определения генетического полиморфизма в отобранных для исследования образцах сортов. Результаты ПЦР-анализа визуализировались с помощью метода гель-электрофореза (см. рисунки 1-2).

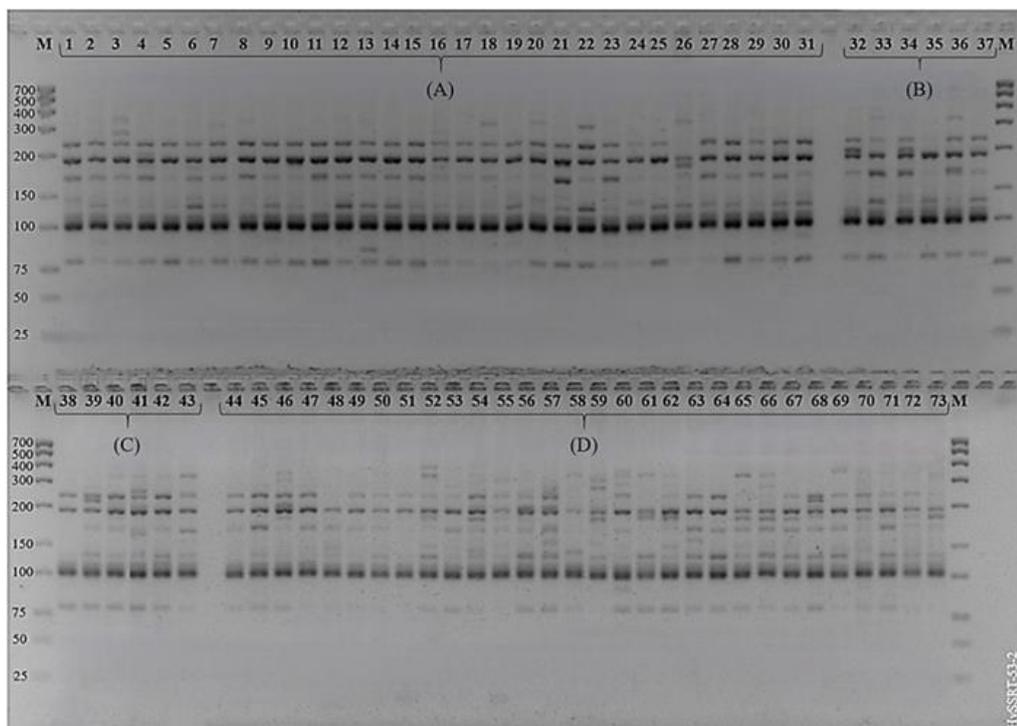


Рисунок 1. Электрофореграмма ПЦР-анализа исследуемых образцов, проведенного с использованием высокополиморфного праймера HvSSRT53. М-маркер молекулярной массы; 1-73 - образцы исследуемых сортов.

Из 100 микросателлитных (HvSSRT) маркеров, включенных в это исследование, 98 были полностью амплифицированы, а в 2 вариантах амплификация не наблюдается. Маркеры у которых произошла полная амплификация, были использованы для дальнейших исследований. Согласно результатам ПЦР-анализа, 62 из этих маркеров имели высокий полиморфизм ($PI > 0,5$), 30 - умеренный полиморфизм ($0,25 > PI < 0,5$), 5 - низкий полиморфизм ($PI < 0,25$), а 1 - мономорфный, и была разработана панель маркеров с высоким полиморфизмом. Общее число аллелей для 98 маркеров, у которых наблюдалась амплификация, составило 428. Общее число аллелей для каждого маркера составило в среднем 3,46. Было обнаружено, что маркеры, которые демонстрировали полиморфизм, амплифицируют от 2 до 14 аллелей.

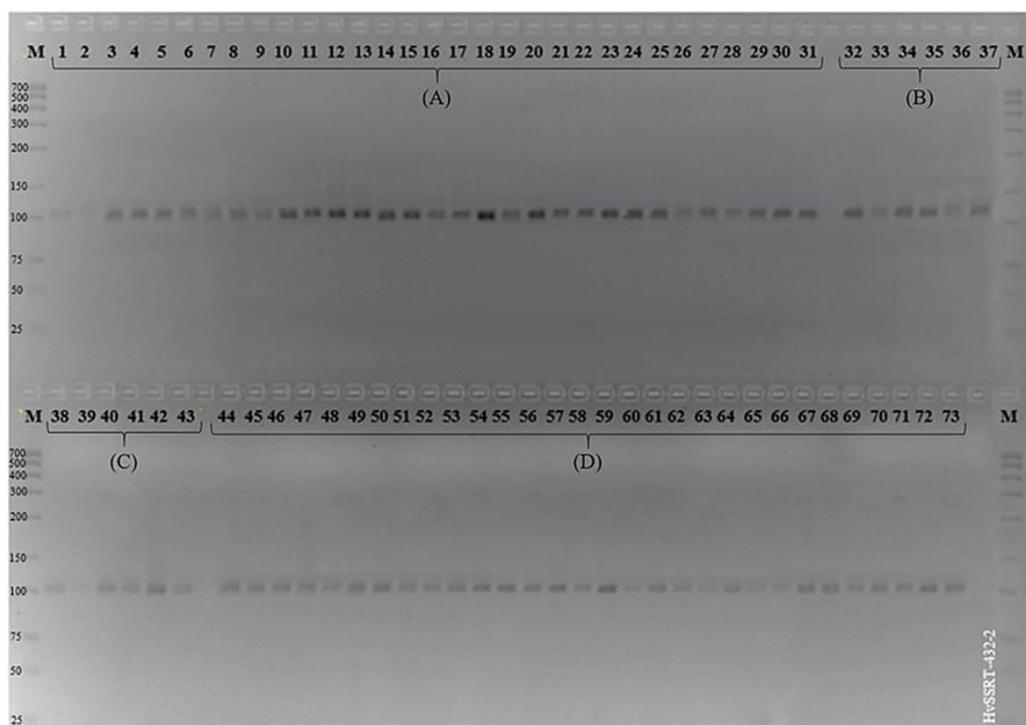


Рисунок 2. Электрофореграмма ПЦР-анализа, проведенного с использованием низкополиморфного праймера HvSSRT432 исследуемых образцов. М-маркер молекулярной массы; 1-73 - образцы исследуемых сортов.

Было отмечено, что значение PIC маркеров варьировало от 0,09 (HvSSRT-532) до 0,87 (HvSSRT-53), и в то же время вероятность гетерозиготности (0,10–0,88) и количество эффективных аллелей (1,11–8,34) также варьировали в зависимости от значения PIC (см. Таблицу 1).

Таблица 1

Количество аллелей, полиморфное информационное содержание (PIC), уровень гетерозиготности (He) и эффективное количество аллелей (Ne) маркеров

№	Маркеры	Кол-во аллелей	Размер аллеля	PIC	HE	NE	Рабочая тем-ра (°C)	Расположение на хромосоме
1	HvSSRT-53	14	122-380	0,87	0,88	8,34	56-58	I
2	HvSSRT-891	8	195-355	0,85	0,86	7,40	56	VIII
3	HvSSRT-100	10	125-380	0,83	0,85	6,73	58	I
4	HvSSRT-88	11	125-495	0,83	0,85	6,54	56-58	I
5	HvSSRT-827	6	175-254	0,79	0,82	5,45	56	VIII
6	HvSSRT-435	7	85-205	0,78	0,81	5,29	56	IV
7	HvSSRT-882	5	139-157	0,75	0,79	4,67	58-60	VIII
8	HvSSRT-321	6	129-163	0,75	0,78	4,56	56	III
9	HvSSRT-207	7	138-270	0,74	0,78	4,47	56	II
10	HvSSRT-217	6	132-337	0,74	0,77	4,42	56	II
11	HvSSRT-110	5	201-282	0,74	0,77	4,39	58	I
12	HvSSRT-344	7	123-210	0,72	0,76	4,19	56	III
13	HvSSRT-843	6	220-268	0,73	0,76	4,18	56	VIII
14	HvSSRT-773	6	244-395	0,72	0,76	4,09	55-56	VII
15	HvSSRT-81	5	205-384	0,71	0,75	4,08	56	I
16	HvSSRT-290	8	91-270	0,51	0,75	3,98	56	II
17	HvSSRT-143	6	175-240	0,70	0,74	3,82	56-58	I

№	Маркеры	Кол-во аллелей	Размер аллеля	PIС	HE	NE	Рабочая тем-ра (°C)	Расположение на хромосоме
18	HvSSRT-254	4	185-223	0,69	0,74	3,80	56	II
19	HvSSRT-26	9	162-340	0,67	0,74	3,78	56	I
20	HvSSRT-222	5	143-230	0,69	0,73	3,76	56-58	II
21	HvSSRT-322	5	124-191	0,68	0,73	3,72	58	III
22	HvSSRT-336	5	161-215	0,68	0,73	3,69	56	III
23	HvSSRT-823	5	156-182	0,68	0,73	3,66	56	VII
24	HvSSRT-111	7	133-239	0,66	0,72	3,56	58	I
25	HvSSRT-700	4	184-218	0,65	0,71	3,46	56-58	VI
26	HvSSRT-213	4	185-222	0,65	0,71	3,44	56	II
27	HvSSRT-487	4	100-150	0,65	0,71	3,42	56	IV
28	HvSSRT-835	6	122-147	0,65	0,71	3,42	56	VIII
29	HvSSRT-787	5	211-320	0,65	0,70	3,38	56	VII
30	HvSSRT-751	4	114-175	0,64	0,70	3,34	56	VII
31	HvSSRT-788	5	223-249	0,64	0,70	3,29	56	VII
32	HvSSRT-413	4	100-176	0,63	0,70	3,29	56	III
33	HvSSRT-102	7	128-201	0,64	0,69	3,25	56-58	I
34	HvSSRT-180	4	160-201	0,62	0,69	3,18	56-58	II
35	HvSSRT-831	4	107-159	0,63	0,68	3,16	56	VIII
36	HvSSRT-853	5	139-157	0,63	0,68	3,12	56	VIII
37	HvSSRT-188	5	124-213	0,61	0,68	3,09	56-58	II
38	HvSSRT-692	4	163-207	0,61	0,67	3,06	58	VI
39	HvSSRT-251	5	151-208	0,62	0,67	3,03	58	II
40	HvSSRT-64	4	170-390	0,60	0,67	3,02	58	I
41	HvSSRT-713	6	193-276	0,61	0,67	3,02	56	VI
42	HvSSRT-318	5	179-256	0,61	0,67	3,01	56	III
43	HvSSRT-187	4	159-184	0,61	0,67	3,01	56	II
44	HvSSRT-762	3	144-158	0,59	0,66	2,96	58	VII
45	HvSSRT-714	4	107-120	0,61	0,66	2,93	56	VI
46	HvSSRT-311	3	133-146	0,58	0,66	2,91	56-58	III
47	HvSSRT-389	5	100-231	0,59	0,65	2,88	56	III
48	HvSSRT-11	4	151-175	0,58	0,65	2,86	55-56	I
49	HvSSRT-680	3	155-178	0,56	0,64	2,78	58	VI
50	HvSSRT-313	5	95-138	0,57	0,64	2,77	56-58	III
51	HvSSRT-9	7	188-290	0,61	0,64	2,75	56	I
52	HvSSRT-628	5	197-232	0,56	0,63	2,69	56	V
53	HvSSRT-728	4	127-139	0,55	0,62	2,64	56	VI
54	HvSSRT-377	5	173-216	0,54	0,62	2,62	56	III
55	HvSSRT-349	3	135-162	0,52	0,60	2,50	56	III
56	HvSSRT-466	3	197-239	0,51	0,60	2,50	58	IV
57	HvSSRT-335	5	145-169	0,52	0,60	2,49	56	III
58	HvSSRT-225	3	87-108	0,50	0,58	2,40	56-57	II
59	HvSSRT-514	3	127-145	0,50	0,58	2,37	56	IV
60	HvSSRT-43	4	133-253	0,50	0,57	2,35	56	I
61	HvSSRT-736	3	178-205	0,51	0,57	2,34	58	VI
62	HvSSRT-210	5	120-281	0,47	0,57	2,32	56	II
63	HvSSRT-22	5	203-250	0,51	0,57	2,31	56	I
64	HvSSRT-665	3	150-172	0,48	0,54	2,20	55-56	VI
65	HvSSRT-536	3	92-123	0,45	0,54	2,20	56	IV
66	HvSSRT-59	3	152-181	0,47	0,54	2,17	56	I
67	HvSSRT-754	3	153-217	0,43	0,54	2,16	56	VII
68	HvSSRT-456	4	145-236	0,41	0,53	2,11	58	IV
69	HvSSRT-369	3	96-137	0,39	0,50	2,01	58	III
70	HvSSRT-137	2	240-266	0,38	0,50	2,00	58	I
71	HvSSRT-279	2	150-176	0,38	0,50	2,00	56	II

№	Маркеры	Кол-во аллелей	Размер аллеля	PIC	HE	NE	Рабочая тем-ра (°C)	Расположение на хромосоме
72	HvSSRT-439	3	168-241	0,45	0,50	2,00	56-58	IV
73	HvSSRT-465	2	143-166	0,38	0,50	2,00	58	IV
74	HvSSRT-589	2	152-181	0,38	0,50	2,00	56	V
75	HvSSRT-711	2	146-166	0,38	0,50	2,00	56	VI
76	HvSSRT-746	2	177-189	0,38	0,5	2,00	55-56	VII
77	HvSSRT-818	2	160-195	0,38	0,5	2,00	56	VII
78	HvSSRT-697	2	104-115	0,37	0,49	1,97	56	VI
79	HvSSRT-820	2	113-158	0,37	0,49	1,96	58	VII
80	HvSSRT-517	3	162-189	0,39	0,49	1,95	56	IV
81	HvSSRT-104	3	94-106	0,40	0,47	1,89	56-58	I
82	HvSSRT-147	3	124-133	0,38	0,46	1,84	56	I
83	HvSSRT-39	2	182-202	0,35	0,45	1,82	56	I
84	HvSSRT-117	2	144-165	0,34	0,44	1,79	58	I
85	HvSSRT-463	3	199-224	0,37	0,42	1,72	56	IV
86	HvSSRT-342	5	157-255	0,39	0,42	1,71	58	III
87	HvSSRT-122	6	118-225	0,37	0,40	1,68	58	I
88	HvSSRT-437	2	137-141	0,31	0,39	1,63	56	IV
89	HvSSRT-834	3	122-130	0,34	0,38	1,61	56	VIII
90	HvSSRT-145	3	138-150	0,32	0,35	1,53	58	I
91	HvSSRT-668	3	188-200	0,27	0,29	1,42	56	VI
92	HvSSRT-24	4	168-210	0,26	0,28	1,39	58	I
93	HvSSRT-555	2	167-169	0,20	0,23	1,30	56-58	V
94	HvSSRT-609	2	154-171	0,19	0,21	1,27	58	V
95	HvSSRT-475	2	148-151	0,17	0,19	1,23	56	IV
96	HvSSRT-432	3	127-151	0,18	0,19	1,23	56	IV
97	HvSSRT-359	2	134-143	0,09	0,10	1,11	58	III
98	HvSSRT-532	1	134-134	0	0	1,00	56	IV
99	HvSSRT-512	0	0	0	0	0	58	III
100	HvSSRT-520	0	0	0	0	0	56	III

В качестве основной панели для генетических исследований и отбора были выбраны 62 маркера с высоким полиморфизмом. 30 маркеров с умеренным полиморфизмом были сохранены в качестве резерва и отобраны для дальнейшего анализа. Эта панель маркеров SSR может эффективно использоваться в селекционных программах, генетических исследованиях и дифференциации популяций (см. Таблицу 1).

В первом разделе этой главы на основе данных о генетическом полиморфизме сортов образцов граната был проведен анализ филогенетических связей исследуемых образцов, определены их генетические сходства и различия (см. рисунок 3). Согласно полученным результатам, установлено, что филогенетическое дерево разделилось на две основные группы. Первая основная группа состояла из одного генотипа, то есть сорта Tunisia, выбранного в качестве внешней группы. Генетическое расстояние этого сорта составило 0,11, и было отмечено, что он сильно отличается от других исследуемых сортов с бутстрап-значением 100%. Вторая основная группа, как было отмечено, содержала сорта, участвовавшие в исследовании, и, в свою очередь, была разделена на две подгруппы. Генетическое расстояние этой группы составило 0,15 при 100% бутстрап-нагрузке (см. рисунок 3).

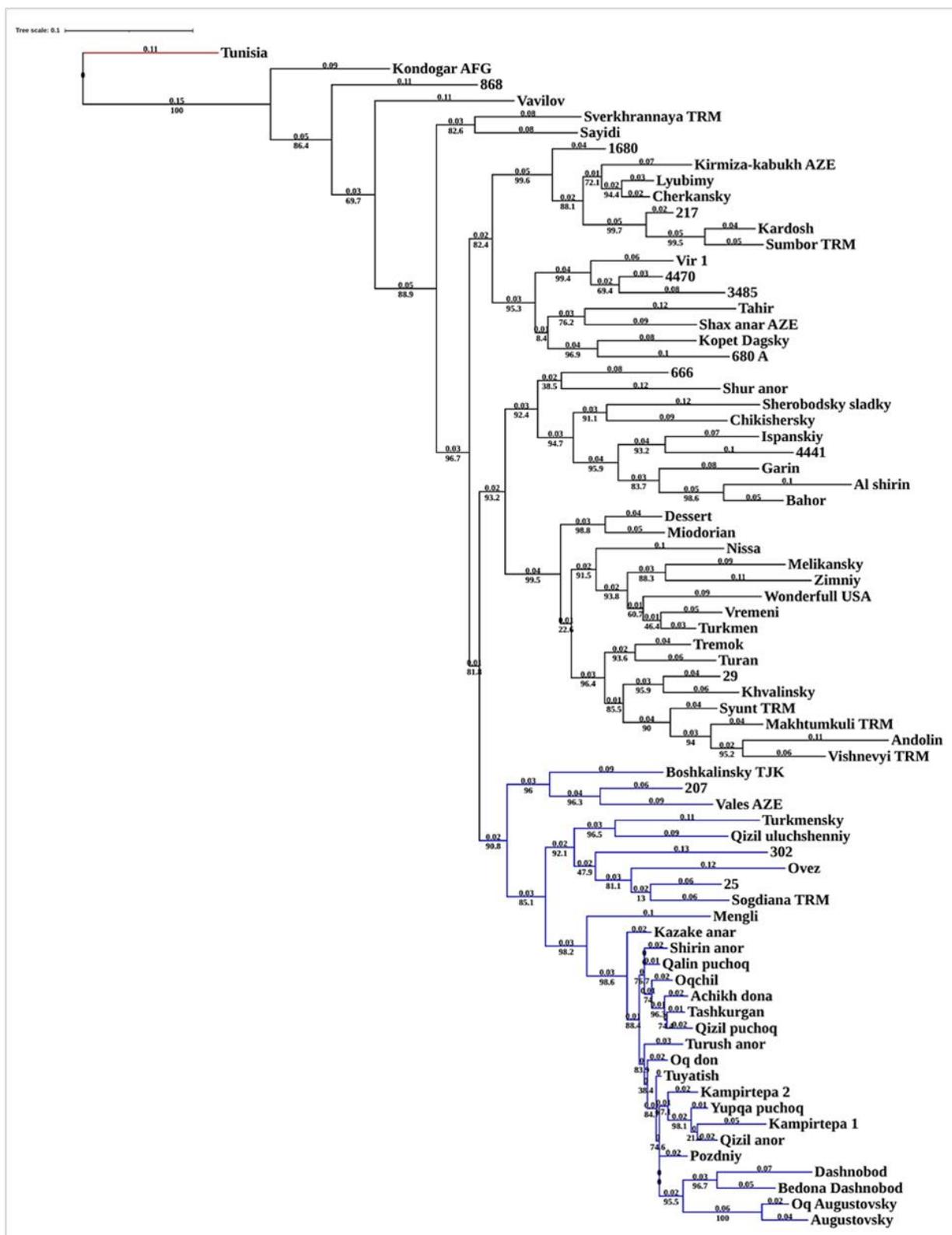


Рисунок 3. Генетические дистанции и бутстреп-значения эволюционного родства исследовательских сортов

В то же время местные генотипы образовали отдельную подгруппу с генетическим расстоянием 0,02 с генотипами, принадлежащими регионам Азербайджана, Таджикистана и Туркменистана с бутстреп-нагрузкой 90,8%. Этот результат доказывает, что местные сорта были интродуцированы из

соседних регионов. Согласно дендрограмме, сорта Dashnabod и Bedona Dashnabod генетически очень близки друг к другу, то есть генетическое расстояние между двумя генотипами составило 0,03 с бутстреп-нагрузкой 96,7%. В то же время генетическое расстояние между сортами Augustovskiy и Oq Augustovskiy составило 0,06 с бутстреп-нагрузкой 100%, что указывает на то, что эти сорта могут быть генетически очень близкими генотипами или единым генотипом (см. Рисунок 3).

На основе данных микросателлитных маркеров был проанализирован процент генетического сходства матрицы генотипов граната с помощью программы Clustal X2. Согласно этому анализу, сорт Tunisia, который был выбран в качестве внешней группы, показал уровень генетического сходства от 49% до 56% по сравнению с исследуемыми сортами. Таким образом, уровни генетического сходства между местными сортами и зарубежными сортами показали разные показатели. В частности, местный сорт Qizil anar показал самый высокий уровень генетического сходства с местным сортом Yurqa ruchoq – 97%, с сортами Kampirtepa 1 и Kampirtepa 2 – 93% и 94% соответственно, а также с сортами Augustovskiy и Oq Augustovskiy – 87% и 89%. Согласно полученным данным и результатам анализа, сорт Tunisia (внешняя группа) показал самый низкий уровень генетического сходства по сравнению с исследуемыми сортами. В то же время было установлено, что генетическое родство местных сортов составляет до 78% с афганскими генотипами, до 87% с азербайджанскими генотипами, 82% с таджикскими генотипами и самый высокий процент составляет 91% с туркменскими генотипами. Эти уровни генетического родства, в свою очередь, указывают на то, что местные сорта были интродуцированы и локализованы через туркменский регион.

Во втором разделе третьей главы был идентифицирован набор маркеров «Core set» и проведена его верификация. В данном исследовании идентификация набора маркеров «Core set» проводилась в следующие этапы:

Экспериментальный отбор. Для определения генетического разнообразия сортов граната были проведены эксперименты с использованием 100 SSR-маркеров. Проверены результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР) и спектры электрофореза. На основании полученных результатов создана панель маркеров «Core set».

Статистический отбор. С помощью программы R-studio (2023.12.0+369) в результате анализа главных компонент (PCA) по числу аллелей маркеров, отражающих степень полиморфизма, полиморфную информативность (PIC), вероятность гетерозиготности (He) и число эффективных аллелей (Ne), определялось число маркеров с числом эффективных аллелей. По результатам анализа главных компонент (PCA) маркеры HvSSRT были разделены на два основных компонента в соответствии с их полиморфизмом, а именно, 1-й главный компонент (PC1) составил 93,52%, а 2-й главный компонент (PC2) – 5,92%. При этом было обнаружено, что разнообразие маркеров HvSSRT было разделено на 4 основные группы в соответствии со степенью полиморфизма.

Отбор на основе генетического расстояния и дендрограммы. С помощью программы MEGA 11 был проанализирован филогенетическое дерево (дендрограмма) и выявлены наилучшие разделяющие маркеры. Филогенетическое дерево, сформированное из амплифицированных данных 98 маркеров HvSSRT, было взято в качестве контроля, и был проведен дальнейший анализ филогенетических отношений. При формировании последующих филогенетических деревьев было сокращено количество маркеров с низкой степенью полиморфизма. Этот процесс продолжали до тех пор, пока форма филогенетического дерева не показывала никакой разницы по сравнению с контрольным деревом. Повторные анализ проводили до тех пор, пока число маркеров не достигало 15, и было обнаружено, что при последующих повторениях изменения в основных группах наблюдались на резком уровне. Таким образом, было сформировано филогенетическое дерево с использованием 15 маркеров HvSSRT с высоким коэффициентом надежности. Использование набора из 15 маркеров HvSSRT для определения различий между сортами граната и идентификации сортов может предоставить ту же информацию, что и набор из 98 микросателлитных маркеров, и гарантирует получение результатов в короткие сроки, а также представляет экономическую эффективность.

Были проведены исследования по верификации (валидации) маркеров у некоторых сортов граната с использованием маркеров «Core set», отобранных для генетического паспорта сортов граната. Для этого составили набор сортов из местных и зарубежных стран (Туркменистан, Афганистан, Азербайджан, США).

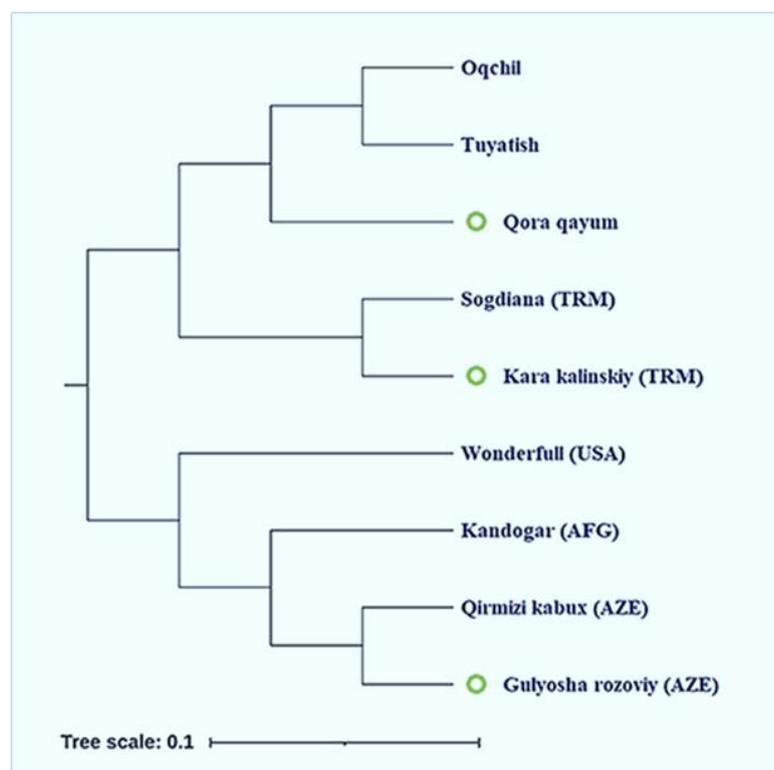


Рисунок 4. Филогенетическое дерево, построенное с использованием основного набора маркеров.

Коллекция состояла из 9 сортов, среди которых сорта Kara-kalinskiy из Туркменистана, Kandogar из Афганистана, Gulyosha rozoviyu из Азербайджана и Wonderfull из США, а также местные сорта Oqchil, Tuyatish и Qora qayum. В свою очередь, сорта коллекции Kandogar, Wonderfull, Oqchil и Tuyatish были проанализированы в качестве контрольных сортов. На основании полученных генотипических данных построено филогенетическое дерево сортов граната.

В филогенетическом дереве, с сформированным из 15 маркеров «Core set», отмечено, что сорта расположились в двух основных группах. В первую группу вошли в общей сложности 5 местных (Qora qayum, Oqchil, Tuyatish) и туркменских (Sogdiana, Kara-kalinskiy) сортов. Во вторую основную группу вошли 4 азербайджанских (Qirmizi kabux, Gulyosha rozoviyu), афганский (Kandogar) и американский (Wonderfull) сорта. В свою очередь, отмечено, что вторая основная группа делится на 3 подгруппы (см. Рисунок 4).

В третьем разделе третьей главы представлен результат проведения разработки генетического паспорта исследуемых сортов на основе результатов молекулярного скрининга (полиморфизма) 15 маркеров «Core set», специфичных для 8 хромосом с высоким уровнем надежности. При разработке паспорта сортов граната молекулярная масса каждого маркера была отсортирована по встречаемости в образцах и закодирована последовательно в алфавитном порядке. Генетический паспорт образцов коллекции был разработан с использованием ДНК-кодов, полученных на основе молекулярной массы маркеров (см. Таблицу 2).

Таблица 2

Генетический баркод, присвоенный сорту Qizil anar

Название сорта	Код присвоенный сорту	Молекулярный вес (параоснований)
Qizil anar	A ₂ , A ₅ , A ₈ , A ₁₀ , A ₁₁ , A ₁₄ , B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄ , B ₆ , B ₇ , B ₈ , C ₁ , C ₂ , C ₄ , C ₅ , C ₆ , C ₇ , D ₁ , D ₃ , D ₅ , D ₈ , E ₂ , E ₅ , F ₁ , F ₂ , F ₇ , G ₁ , G ₂ , G ₃ , H ₂ , H ₃ , H ₅ , I ₂ , I ₃ , I ₆ , J ₁ , J ₃ , K ₁ , K ₄ , K ₆ , L ₃ , L ₆ , M ₂ , M ₄ , M ₈ , N ₄ , O ₁ , O ₇ ,	A-HvSSRT_53: A ₂ -350, A ₅ -286, A ₈ -188, A ₁₀ -159, A ₁₁ -151, A ₁₄ -122. B-HvSSRT_891: B ₁ -355, B ₂ -287, B ₃ -276, B ₄ -238, B ₆ -225, B ₇ -214, B ₈ -195. C-HvSSRT_100: C ₁ -380, C ₂ -288, C ₄ -230, C ₅ -190, C ₆ -171, C ₇ -143. D-HvSSRT_88: D ₁ -495, D ₃ -336, D ₅ -267, D ₈ -160. E-HvSSRT_827: E ₂ -238, E ₅ -180. F-HvSSRT_435: F ₁ -205, F ₂ -175, F ₇ -85. G-HvSSRT_321: G ₁ -163, G ₂ -145, G ₃ -137. H-HvSSRT_207: H ₂ -210, H ₃ -188, H ₅ -180. I-HvSSRT_217: I ₂ -257, I ₃ -150, I ₆ -132. J-HvSSRT_344: J ₁ -210, J ₃ -182. K-HvSSRT_843: K ₁ -268, K ₄ -236, K ₆ -220. L-HvSSRT_773: L ₃ -276, L ₆ -244. M-HvSSRT_143: M ₂ -260, M ₄ -216, M ₈ -91. N-HvSSRT_143: N ₄ -180. O-HvSSRT_26: O ₁ -340, O ₇ -182.

В четвертой главе диссертации под названием «Микроклональное размножение сортов граната *in vitro*» были представлены процессы микроклонального размножения исследовательских образцов, таких как August, Kazake-anar, Achiq-dona, Tuyatish. В первом разделе четвертой главы была представлено проведение поверхностной стерилизации эксплантов, и было установлено, что использование таких поверхностных стерилизаторов, как 5 мин. H₂O₂ (3%) + 20 сек. C₂H₅OH (96%) + 20 мин. NaClO (2%) + Twin-20 + H₂O увеличило выживаемость эксплантов граната до 97-100%. При посадке эксплантов граната в питательную среду и оценке влияния фиторегуляторов

на регенерацию эксплантов, экспериментальным путем были выбраны две различные питательные среды, виды и концентрации фиторегуляторов. Микро-ростки, выращенные на среде WPM, показали небольшое морфологическое различие по сравнению с микро-ростками, выращенными на среде MS, но статистически значимых различий не наблюдалось. В этом разделе представлены результаты изучения влияния двух концентраций препарата супрамолекулярного комплекса (0,15 мг/л, 0,17 мг/л) на ризогенез эксплантов в средах MS и WPM. Было обнаружено, что добавление концентрации 0,15 мг/л супрамолекулярного комплекса к обеим средам увеличивало уровень ризогенеза в эксплантах исследовательских сортов в 2-3 раза по сравнению с контрольным вариантом, а использование концентрации 0,17 мг/л увеличивало уровень ризогенеза в исследовательских сортах в 3-5 раз по сравнению с контрольным вариантом. Во втором разделе четвертой главы представлены результаты пересадки и акклиматизации регенерированных микро-растений исследуемых сортов и в результате проведенных мероприятий установлено, что микро-растения, выращенные в условиях фитотрона, демонстрируют приживаемость более 90%.

ВЫВОДЫ

В результате исследований, проведенных по диссертационной теме «Генетический анализ местных сортов граната (*Punica granatum* L.) и микроклональное размножение методом *in vitro*», представленной на соискание ученой степени доктора философии по биологическим наукам, сделаны следующие выводы:

1. Из 100 микросателлитных маркеров, использованных в этом исследовании, 62 оказались высокополиморфными ($PIC > 0,5$), 30 были умеренно полиморфными ($0,25 > PIC < 0,5$), 5 были низкополиморфными ($PIC < 0,25$), 1 был мономорфным и для 2-х из них не было обнаружено или было обнаружено частичное отсутствие продукта ПЦР.

2. Было обнаружено, что маркеры, демонстрирующие полиморфизм, амплифицировали от 2 до 14 аллелей. Общее число аллелей для 98 маркеров, где наблюдалась амплификация, составило 428.

3. Согласно филогенетическим связям исследуемых сортов, генетическое расстояние внешней группы (Tunisia) в этом дереве составило 0,11 относительных единиц и, как было обнаружено, сильно отличается от других исследуемых сортов со значением бутстрепа 100%, а также показало уровни генетического сходства от 49% до 56% по сравнению с исследуемыми сортами.

4. Установлено, что по степени генетического сходства местные сорта на 78% схожи с генотипами Афганистана, на 87% – Азербайджана, на 82% – Таджикистана и на 91% – Туркменистана.

5. В результате деления на вероятные популяции было установлено, что сорт Tunisia образовал отдельную популяцию, а образцы

исследуемого сорта разделились на 6 субпопуляций. В то же время местные сорта образовали отдельную небольшую популяцию.

6. Впервые в Узбекистане для вида *Punica granatum* L. был выбран «Core set» набор маркеров и разработана их панель, с их помощью разработан генетический паспорт 23 местных генотипов граната.

7. Был подобран «Core set» из 15 маркеров (HvSSRT-53, HvSSRT-891, HvSSRT-100, HvSSRT-88, HvSSRT-827, HvSSRT-435, HvSSRT-321, HvSSRT-207, HvSSRT-217, HvSSRT-344, HvSSRT-843, HvSSRT-773, HvSSRT-290, HvSSRT-143, HvSSRT-26) который использован для генетической паспортизации и верификация местных сортов и сортов из зарубежных стран (Туркменистан, Азербайджан, Афганистан, США).

8. Впервые исследовано действие препарата «Супрамолекулярный комплекс» на ризогенез некоторых микропобегов граната. Установлено, что концентрация «Супрамолекулярного комплекса» равная 0,15 мг/л усиливала процесс ризогенеза в 2-3 раза по сравнению с контрольным вариантом, а концентрация 0,17 мг/л – усиливала в 3-5 раз.

9. В результате пересадки и акклиматизации растений-регенерантов к нестерильным условиям приживаемость растений-регенерантов составила 90%.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.02/30.12.2019. B.53.01 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREES AT THE INSTITUTE OF GENETICS AND
PLANT EXPERIMENTAL BIOLOGY**

CENTER OF GENOMICS AND BIOINFORMATICS

BOLKIYEV ABDUVAKHID ABDULLAYEVICH

**GENETIC ANALYSIS OF LOCAL VARIETIES OF POMEGRANATE
(*PUNICA GRANATUM* L.) AND THEIR MICROCLONAL PROPAGATION
BY *IN VITRO* METHOD**

03.00.14 - Genomics, proteomics and bioinformatics

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

Tashkent – 2025

The title of doctor of sciences dissertation (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2023.4.PhD/B1071.

The dissertation has been completed at the Center of Genomics and Bioinformatics.

Abstract of dissertation is available in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) in the website of Scientific Council (www.genetika.uz) and in “Ziyonet” informational educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor: **Ubaydullayeva Khurshida Abdullayevna**
Doctor of Biological Sciences., Senior Researcher

Official opponents: **Kushanov Fakhridin Ne'matullayevich**
Doctor of Biological Sciences., Professor

Yakubov Mirakbar Daniyarovich
Doctor of Biological Sciences., Senior Researcher

Leading organization: Gulistan State University

The defence of the dissertation will take place on __th **September** 2023 at __⁰⁰ at the meeting of Scientific council DSc.02/30.12.2019. B.53.01 at the Institute Genetics and Plant Experimental Biology (Address: 111226, Tashkent region, Kibray district, Yuqori-yuz, Conference hall of the palace of the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology. Tel.: (+99871) 264-23-90; fax (+99871) 264-23- 90; E-mail:igebr@academy.uz.

Dissertation is registered in Information-resource Centre of Institute of Genetics and Plant Experimental Biology (registered under no_____). Address:111226, Tashkent region, Kibray district, Yuqori-yuz. Tel.: (+99871) 264-23-90; fax (+99871) 264-23-90; E-mail: igebr@academy.uz).

The abstract of dissertation sent out on « ____ » _____ 2025 y
Protocol at the register № dated « ____ » _____ 2025 y

A.A. Narimanov
Chairman of academic degree
granting scientific council,
Dr.Agr.Sci., professor

I.Dj. Kurbanbaev
Secretary of academic degree
granting scientific council,
Dr.Bio.Sci., professor

I.T. Khaxxorov
Chairman of the scientific seminar
at the academic degree granting
scientific council, Dr.Bio.Sci.,
professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The purpose of the research is to identify the genetic diversity of local pomegranate varieties and phylogenetic relationships between them, to create of a unique genetic passport for each variety, and the application of the *in vitro* method for microclonal propagation.

The object of the research, a total of 76 pomegranate samples were selected from existing pomegranate collections at the Surkhandarya Scientific and Experimental Stations of the Academician M. Mirzayev Research Institute of Horticulture, Viticulture and Winemaking and the Scientific and Research Institute of Plant Genetic Resources within the system of the National Center for Knowledge and Innovation in Agriculture.

The scientific novelty of the research is as follows:

for the first time, local pomegranate varieties were evaluated based on genetic analysis, and a application of microclonal propagation of pomegranate materials through the *in vitro* method was developed;

the genetic diversity and phylogenetic relationships among local pomegranate varieties were established using microsatellite markers;

a “core set” marker panel of highly polymorphic markers among the studied pomegranate varieties was developed;

the “core set” markers used for genetic passportization, based on verification, demonstrated high levels of polymorphism in other pomegranate varieties;

for the first time in Uzbekistan, a genetic passport for local pomegranate varieties was developed based on highly polymorphic markers;

the most optimal methods for microclonal propagation of some local pomegranate varieties *in vitro* (surface sterilization, optimal nutrient medium, type and composition of phytohormones, acclimatization) were developed;

the stimulating effect of a supramolecular complex agent on pomegranate explants during rhizogenesis was scientifically confirmed and described for the first time.

Implementation of research results. Based on the scientific and practical results obtained on genetic analysis of local varieties of pomegranate (*Punica granatum* L.) and microclonal propagation using the *in vitro* method:

The scientific and practical methods of microclonal propagation of local pomegranate varieties under *in vitro* conditions were applied during the implementation of the applied project No. FZ-2019051016 titled “Development of a microclonal propagation technology for local pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties *in vitro*” in 2020–2022 (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-2646 dated November 28, 2023). As a result, microsatellite markers were used to identify the genotypes of local pomegranate varieties and developed their molecular passportization.

The microclonally propagated pomegranate varieties Achikh-dona, Kazake-anar, Dashnabad, and Tuyatish were planted on a 2-hectare at the agricultural enterprise LLC “Fergana Anorchilik” in Kuvasay city, Fergana region (certificate of the Council of Farmers, Dehkan Farms and Landowners of the Republic of

Uzbekistan No. 01/03-2502 dated December 7, 2023). It was found that pomegranate seedlings propagated via the *in vitro* method showed greater adaptability to environmental factors, lower susceptibility to diseases and pests, accelerated growth and development rates, and significantly enhanced reproductive activity compared to those grown by traditional methods.

Dissertation structure and volume. The content of the dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, a list of literatures and applications. The volume of the thesis is 107 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

LIST OF PUBLISHED WORKS

I Bo'lim (I Частъ; Part I)

1. Ubaydullaeva Kh.A., Bolkiyev A.A., Abdullaev A.N., Asrorov A.M., Abdullaev S.A., Eshmurzaev J.B., Babadjanova F.I., Azimov A.A., Buriev Z.T. Optimization of Development of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Varieties from Microclonal Propagation // Asian Journal of Plant Sciences. – 2023. – Vol. 22(2). – P. 344–356. (**Impact Factor 2023:0.75**)
2. Bolkiyev A.A., Abdullaev S.A., Sulstonova Sh.A., Abdullaev A.N., Eshmurzaev J.B., Obidov N.Sh., Ubaydullaeva X.A. Адаптация микроклонов гранат (*Punica granatum* L.), выращенных *in vitro*, к почвенным условиям // Научный вестник НамГУ. – 2020. – №10.–С. 143–148. (03.00.00. №17).
3. Bolkiyev A.A., Ubaydullaeva X.A, Buriev Z.T, Abdullaev A.N, Eshmurzaev J.B, Babadjanova F.I, Arzikulov I.A, Mirzaev A.E. Mahalliy anor (*Punica granatum* L.) navlari eksplantlarning regeneratsiyasi (kurtaklar organogenezi) ga fitogormonlarning ta'siri // NamDU ilmiy axborotnomasi. – 2022. №11.–В. 384–391. (03.00.00. №17).
4. Bolkiyev A.A., Ubaydullaeva X.A. Anorning mahalliy "Kazake-anar" navi meristema eksplantlariga fitoregulyatorlar ta'sirini baholash // NamDU ilmiy axborotnomasi. – 2023.–№8. –В. 180–189. (03.00.00. №17).

II Bo'lim (II Частъ; Part II)

5. Bolkiyev A.A., Ubaydullaeva X.A., Buriev Z.T., Rakhmanov B.K., Abdullaev S.A., Sulstonova Sh.A., Usmonov D.E. Genetic analysis of local pomegranate (*Punica granatum* L.) collections in Uzbekistan // Международная научная конференция молодых учёных «наука и инновации»: сборник научных трудов: 25 ноября, 2021 года. С. 20–22.
6. Bolkiyev A.A., Abdullaev S.A., Sultanova Sh.A., Eshmurzaev J.B., Rakhmanov B.K., Abdullaev A.N., Ubaydullaeva Kh. A. Selection and sterilization of local pomegranate (*Punica granatum* L.) *in vitro* explants // 7th International Conference of Pakistan Phytopathological Society November 21–23, 2021. Pp. 192.
7. Bolkiyev A.A., Rakhmanov B.K., Abdullaev S.A., Ubaydullaeva Kh.A. Use of growth regulators by *in vitro* propagation of pomegranate (L.) // Биотехнология: взгляд в будущее: Материалы VIII междунар. науч.-практ. конф. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2022. С. 79–80.

8. Bolkiyev A.A., Ubaydullayeva X.A., Alikulov S.M., Mirzayev A.E., Abdullayev S.A., Usmonov D.E. O‘zbekistonda mavjud mahalliy anor (*Punica granatum* L.) kolleksiyalarini genetik tahlil qilish // Genetika, genomika va biotexnologiyaning zamonaviy muammolari” respublika ilmiy anjumanining tezislar to‘plami. Toshkent. 2021. B. 30–31.
9. Bolkiyev A.A., Usmonov D.E., Raxmanov B.K., Abdulkarimov Sh.S., Ubaydullaeva X.A., Buriev Z.T. Anor (*Punica granatum* L.) o‘simligida DNK markerlari yordamida o‘tkazilgan genetik tadqiqotlar va ularning tahlili // Genetika, genomika va biotexnologiyaning zamonaviy muammolari” respublika ilmiy anjumanining tezislar to‘plami. Toshkent. 2023. B. 26–27.
10. Bolkiyev A.A., Abdullaev S.A., Babadjanova F.I., Eshmurzaev J.B., Abdullaev A.N., Ubaydullaeva X.A. Anor (*Punica granatum* L.) to‘qimalari kulturasini va biotexnologiyasi // Genetika, genomika va biotexnologiyaning zamonaviy muammolari” respublika ilmiy anjumanining tezislar to‘plami. Toshkent. 2023. B. 254–257.

Avtoreferat “.....” jurnali tahririyatida
tahrirdan o‘tkazildi

Bosishga ruxsat etildi: __ __ 2025-yil.
Bichimi _____ «Times New Poman»
garniturada bosma usulida bosildi.
Shartli bosma tobog‘i __. Adadi: __. Buyutma № __
MCHJ «_____» bosmaxonasida chop etildi.
Manzil:.....