**BOTANIKA INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI DSc.02/30.12.2019.B.39.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**BOTANIKA INSTITUTI**

**JAMALOVA DILAFRUZ NE'MATILLA QIZI**

# *FERULA TADSHIKORUM* PIMENOV VA *FERULA MOSCHATA* (H.REINSCH) KOSO-POL. NING *IN VITRO* SHAROITIDA BIOLOGIYASI

**03.00.05 – Botanika**

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

**TOSHKENT – 2025**

**UO‘K: 581.143.6:581.52:577.164.2 (043.3)**

**Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi**
**Оглавления автореферата диссертации доктора философии (PhD)**
**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)**

**Jamalova Dilafruz Ne’matilla qizi**
*Ferula tadshikorum* Pimenov va *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol. ning *in vitro* sharoitida biologiyasi ……3

**Жамалова Дилафруз Неъматилла кизи**
Биология *Ferula tadshikorum* Pimenov и *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol. в условиях *in vitro*……22

**Jamalova Dilafruz Ne’matilla qizi**
Biology of *Ferula tadshikorum* Pimenov and *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol. *in vitro* conditions ……43

**E’lon qilingan ishlar ro‘yhati**
Список опубликованных работ
List of published works……46

**BOTANIKA INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI DSc.02/30.12.2019.B.39.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**BOTANIKA INSTITUTI**

**JAMALOVA DILAFRUZ NE'MATILLA QIZI**

# *FERULA TADSHIKORUM* PIMENOV VA *FERULA MOSCHATA* (H.REINSCH) KOSO-POL. NING *IN VITRO* SHAROITIDA BIOLOGIYASI

**03.00.05 – Botanika**

**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 B2022.2.PhD/B720 raqam bilan ro'yxatga olingan.**

Dissertatsiya ishi Botanika institutida bajarilgan.

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

| | |
|---|---|
| **Ilmiy rahbar:** | **Mustafina Feruza Usmanovna**<br>biologiya fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim |
| **Rasmiy opponentlar:** | **Ubaydullayeva Xurshida Abdullayevna**<br>biologiya fanlari doktori, professor |
| | **Adilov Behzod Abdullayevich**<br>biologiya fanlari doktori, katta ilmiy xodim |
| **Yetakchi tashkilot:** | **Jizzax davlat pedagogika universiteti** |

Dissertatsiya himoyasi Botanika instituti huzuridagi DSc.02/30.12.2019.B.39.01 raqamli Ilmiy kengashning 2025-yil 8 - avgust kuni soat $14^{00}$ dagi majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 100125, Toshkent shahri, Do'rmon yo'li ko'chasi, 32-uy. Botanika instituti majlislar zali. Tel.: (+99871) 262-37-95, faks (+99871) 262-79-38, E-mail: botany@academy.uz).

Dissertatsiya bilan Botanika instituti Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (72-raqami bilan ro'yxatga olingan). Manzil: 100125, Toshkent shahri, Do'rmon yo'li ko'chasi, 32-uy. Tel.: (+99871) 262-37-95.

Dissertatsiya avtoreferati 2025-yil 24- iyul kuni tarqatildi.
(2025-yil 24- iyuldagi 11-raqamli reestr bayonnomasi)

**K.Sh. Tojibayev**
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi, b.f.d., akademik

**A.V. Maxmudov**
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash ilmiy kotibi, PhD., katta ilmiy xodim

**H.F. Shomurodov**
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash qoshidagi ilmiy seminar raisi, b.f.d., professor

## KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)

**Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati.** So‘nggi yillarda noyob, yo‘qolib ketayotgan hamda yo‘qolib ketish xavfi ostida turgan dorivor o‘simliklarni ommaviy ko‘paytirish va saqlashga qaratilgan to‘qimalarni yetishtirish usullariga qiziqish ortib bormoqda. Zamonaviy biotexnologiya tezlashtirilgan klonlash, genotiplarni saqlash, shuningdek, o‘simliklarning genetik modifikatsiyasi, ko‘p miqdorda yaxshilangan xususiyatlarga ega tabiiy biologik faol birikmalarni olish uchun gen ekspressiyasini boshqarish kabi imkoniyatlarni yaratadi. O‘simliklarni ko‘paytirishning biotexnologik usullarini ishlab chiqish, genetik banklar va hujayra kulturalari kolleksiyalarini yaratish tabiatda tarqalgan noyob va yo‘qolib ketish xavfi ostida turgan turlarning genofondini saqlashda muhim rol o‘ynaydi.

So‘nggi yillarda O‘zbekiston Respublikasida qishloq xo‘jaligini rivojlantirish, atrof-muhitni muhofaza qilish, tabiiy resurslardan oqilona foydalanish, biologik xilma-xillikni saqlash va noyob o‘simlik turlarini saqlashga qaratilgan muhim chora-tadbirlar ko‘rilmoqda. Ushbu jarayonning muhim tarkibiy qismi hosildorlikni oshirish, agrosanoat majmuasini barqaror rivojlantirish va ekotizimlarni tiklashda muhim rol o‘ynaydigan biotexnologik tadqiqotlarni qo‘llab-quvvatlashdir.

[1]O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020 yil 10 apreldagi PQ-4670-sonli qarori yovvoyi holda o‘suvchi dorivor o‘simliklarni muhofaza qilish, ularni yetishtirish, qayta ishlash va mavjud resurslardan oqilona foydalanish bo‘yicha chora-tadbirlarni belgilaydi. Ushbu qaror farmasevtika va qishloq xo‘jaligi sohasidagi biotexnologik tadqiqotlarning ahamiyatini ta’kidlaydi, chunki gen muhandisligi va o‘simliklarni yetishtirishning zamonaviy usullari nafaqat noyob turlarni saqlab qolish, balki ularning iqtisodiy qiymatini ham oshirishga imkon beradi.

Bundan tashqari, [2]O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 26.11.2020 yildagi PQ-4901-sonli qarori dorivor o‘simliklarni yetishtirish va qayta ishlash, ularning urug‘chiligini yo‘lga qo‘yishni rivojlantirish bo‘yicha ilmiy tadqiqotlar ko‘lamini kengaytirishga oid chora-tadbirlar to‘g‘risidagi qarori dorivor o‘simliklarni ilmiy asosda yetishtirish va qayta ishlash, ulardan oqilona foydalanishning yagona strategiyasini shakllantirish va amalga oshirish, respublika hududidagi yovvoyi holda o‘suvchi dorivor o‘simliklar areallarini o‘rganish va zaxiralarini aniqlash, mavjud bioresurslar genofondini saqlash, onalik plantatsiyalarini tashkil etish, urug‘lik materiallarini yetishtirish va tayyorlash, ko‘paytirish, kolleksion ko‘chatxonalar tashkil etish hamda ularning xomashyolarini qayta ishlash bilan bog‘liq ilmiy va amaliy tadqiqotlarni olib

---

[1] O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020-yil 10-apreldagi “Yovvoyi holda o‘suvchi dorivori o‘simliklarni muxofaza qilish, madaniy holda yetishtirish, qayta ishlash va mavjud resurslardan oqilona foydalanish chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi PQ-4670-son Qarori

[2] O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining qarori, 26.11.2020 yildagi PQ-4901-sonli Dorivor o‘simliklarni yetishtirish va qayta ishlash, ularning urug‘chiligini yo‘lga qo‘yishni rivojlantirish bo‘yicha ilmiy tadqiqotlar ko‘lamini kengaytirishga oid chora-tadbirlar to‘g‘risida”gi Qarori

borish, dorivor o‘simliklar kimyoviy tarkibini o‘rganish, mahsulotini standartlash va sertifikatlashga qaratilgan.

Barqaror rivojlanish kontekstida O‘zbekiston florasining noyob tabiiy resurslarini muhofaza qilish va saqlashga alohida e‘tibor qaratilmoqda. Mamlakatda o‘simliklarning xilma — xilligi o‘sib bormoqda va bugungi kunga kelib, 4,3 mingdan ortiq tur mavjud bo‘lib, ularning 750 tasi dorivorlik xususiyatini namoyon etadi. Ulardan 112 turi ilmiy tibbiyotda, 70 turi esa farmatsevtika sanoatida faol qo‘llaniladi. Dorivor o‘simliklardan olingan mahsulotlar eksporti 2019 yilda 48 million AQSh dollarini tashkil etdi, bu esa ushbu yo‘nalishning yuqori salohiyatidan dalolat beradi. O‘simlik farmasevtikasining iqtisodiy ahamiyatiga qaramay, dorivor o‘simlik materiallarini saqlash, yetishtirish va qayta ishlash bo‘yicha kompleks chora-tadbirlarni amalga oshirish orqali samarali qo‘shilgan qiymat zanjirini shakllantirish zarurati mavjud. Ayniqsa, kovrak kabi noyob va yo‘qolib ketish xavfi ostida turgan o‘simlik turlarini saqlab qolish uchun biotexnologiyadan foydalanish muhimdir.

Ilgari turlarning xilma-xilligini saqlashning asosiy usullari urug‘chilik banklarida germplazmani saqlash va botanika bog‘larida tirik kolleksiyalarni yaratishni o‘z ichiga olgan. Biroq, *in vitro* sharoitida dorivor o‘simliklarni yetishtirish biotexnologiyasi tobora dolzarb bo‘lib, u o‘simliklarni saqlab qolish va ulardan barqaror foydalanishni ta‘minlash uchun yangi zamin yaratmoqda. So‘nggi yillarda O‘zbekistonda har yili katta hajmda eksport qilinadigan *F. foetida* va *F. tadshikorum* kabi turlarning ildizlaridan qatronlar (smola) ayniqsa jadal yig‘ilmoqda. Biroq, bu o‘simliklarning tabiiy populyatsiyalaridan foydalanishning avj olishi ko‘plab turlarning yo‘q bo‘lib ketish xavfiga olib keldi, chunki ular urug‘lash bosqichiga yetib bormay terib ketilishi tufayli kamayib ketishga moyil. *F. tadshikorum* va *F. moschata* kabi turlar uchun o‘simliklarni *in vitro* sharoitida ommaviy ko‘paytirish uchun samarali biotexnologik yechimlarni yaratish ularni saqlash va tabiiy populyatsiyalarini tiklash uchun ayniqsa dolzarb bo‘lib qoladi. Shu munosabat bilan, *F. assa-foetida*, *F. gummosa*, *F. jaeschkeana*, *F. orientalis* va *F. ferulaeoides* kabi ba’zi *Ferula* turkumi turlarini *in vitro* usulida ko‘paytirish uchun protokollar allaqachon ishlab chiqilgan. Biroq, *F. tadshikorum* va *F. moschata* turlarining mikroklonal ko‘payishi muammosi hali hal qilinmagan. Ushbu masalalarni hal etish davlat tashabbuslari bilan birgalikda mamlakatimizning tabiiy dorivor resurslarini muhofaza qilish va tiklash yo‘lidagi muhim qadamlardan biri bo‘ladi.

Shunday qilib, davlat tomonidan qabul qilingan qarorlar biotexnologik tadqiqotlarni rivojlantirish va ularni iqtisodiyot va ekologiyaning strategik yo‘nalishlariga integratsiya qilish zarurligini anglashni taqozo etadi. Ushbu sohadagi ilmiy tashabbuslarni qo‘llab-quvvatlash nafaqat barqaror rivojlanishga erishishga, balki mamlakatni innovatsion taraqqiyotning yangi bosqichiga olib chiqishga imkon beradi. Zamonaviy biotexnologik yondashuvlarni qo‘llashning eng dolzarb yo‘nalishlaridan biri tabiiy resurslarni, xususan dorivor o‘simliklarni saqlash va ulardan oqilona foydalanishdir.

**Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining asosiy ustuvor yo‘nalishlariga mosligi.** Mazkur tadqiqot ishi respublika fan va texnologiyalarni rivojlanishining V. “Qishloq xo‘jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi” ustuvor yo‘nalishiga muvofiq bajarilgan.

**Muammoning o‘rganilganlik darajasi.** Bugungi kunga kelib, *Ferula* turkumi turlariga, shu jumladan mikroklonal ko‘paytirish protokollarini ishlab chiqishga doir ko‘plab tadqiqotlar amalga oshirilgan. Birinchi *in vitro* regeneratsiyasi Bernard va boshqalar (2007) tomonidan *F. gummosa* uchun yaratilgan bo‘lib va bu ish ushbu turdagi biotexnologiya sohasidagi keyingi ishlar uchun asos bo‘ldi. *In vitro* mikroklonal ko‘paytirish protokollari *F. ferulaeoides* (Steud.) Korov. (Suran va boshq., 2016), *F. assa-foetida* L. (Hassani va boshq., 2008; Zare va boshq., 2010; Roozbeh va boshq., 2012; Otroshy va boshq., 2013), *F. gummosa* Boiss. (Bernard va boshq., 2007), *F. jaeschkeana* Vatke (Sharma va Khajuria, 2020) va *F. orientalis* L. (Tuncer, 2017) kabi turlar uchun ishlab chiqilgan. Biroq, *F. tadshikorum* va *F. moschata* turlarining *in vitro* sharoitida morfogenezi ilgari o‘rganilmagan bo‘lib, mazkur tadqiqotning yangiligini ta’kidlaydi.

*Ferula* turkumi turlarini kimyoviy tarkibini o‘rganishga qaratilgan tadqiqotlar, jumladan, Xalilova va Saidxodjayev (1996), Sharopov va boshqalar (2019), Veselovskaya va boshq. (1984), Rahmonov (2017), Sagdullayev (2018), Xodjimatov (1989), Egamberdiyeva va boshq. (2017), Sayfiddinova va boshq. (2023), shuningdek, xorijiy olimlar Batra va boshq. (2017), Gonzalez va boshq. (1995), Zhou va boshq. (2000) tomonidan amalga oshirilgan bo‘lib, ushbu tadqiqotlarning barchasi tabiiy sharoitda o‘sgan o‘simliklarga tegishli. Biroq, hozirgi kunga qadar *in vitro* sharoitida ikkilamchi metabolitlarning tarkibini o‘rganish, shu jumladan kallus kulturalari, regenerantlar va boshqa turdagi to‘qimalarning fitokimyoviy tarkibini tahlil qilish bo‘yicha ma’lumotlar mavjud emas. Bu, ayniqsa, o‘simliklarning *in vitro* farmakologik salohiyatini baholash va biologik faol moddalarning barqaror manbaalarini ishlab chiqishda bunday tadqiqotlarning ahamiyatini hisobga olgan holda, ilmiy bo‘shliqni keltirib chiqaradi.

**Tadqiqotning dissertatsiya bajarilayotgan ilmiy-tadqiqot muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog‘liqligi.** Dissertatsiya ishi O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi botanika institutining A-FA-2021-146 “*In vitro* usullardan foydalangan holda dorivor o‘simliklar turlarini ko‘paytirish va tashkil etish texnologiyasini ishlab chiqish” (2021-2023-yillar) amaliy loyihasi doirasida amalga oshirildi.

**Tadqiqotning maqsadi**: Ikki kamyob tur— *Ferula tadshikorum* va *Ferula moschata* ni klonal mikroko‘paytirishning samarali tizimini ishlab chiqish, *in vitro* sharoitda morfogenetik jarayonlarni o‘rganish, shuningdek to‘qima kulturalaridagi biologik faol moddalar tarkibini aniqlash.

**Tadqiqot vazifalari:**

1.Populyatsiyalar, ozuqa muhiti, ekzogen omillarning ta‘siri va eksplantlar turiga qarab kallus to‘qimalarida morfogenez induksiyasining qonuniyatlarini

aniqlash;

2. *In vitro* kulturalarida o‘rganilayotgan turlar har xil eksplantlarining (unib chiqqan urug‘ segmentlari, zigotik embrionlar) morfogenetik potensialini aniqlash;

3. Gormonal, trofik va fizik omillarning ularning mikroko‘payishiga ta’sirini aniqlash. Ushbu turlarning turli xil eksplantlaridan *in vitro* aseptik kulturalarni olish sharoitlarini optimallashtirish;

4.Tojik kovragi va sumbul kovrak ning ildiz otish va steril bo‘lmagan *ex vitro* sharoitiga moslanishining optimal rejimlarini aniqlash;

5.Tojik kovragi va sumbul kovrakning klonal mikroko‘paytirish protokollarini optimallashtirish;

6.Yuqori miqdordagi BFM saqlovchi potensial donorlarni tanlab olish maqsadida, klonal liniyalarning BFM tarkibini aniqlash;

**Tadqiqot obyekti:** *Ferula* L. turkumining (Apiaceae) dorivor va O‘zbekiston Respublikasi Qizil kitobiga (2019) kiritilgan *Ferula tadshikorum* Pimenov va *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol. turlari.

**Tadqiqot predmeti**: biotexnologiya, fitokimyo, morfologiya, shuningdek, *Ferula* turkumi turlarini muhofaza qilish va saqlashning ilmiy asoslari.

**Tadqiqot usullari.** Ajratilgan o‘simlik to‘qimalari va organlarini yetishtirish bo‘yicha eksperimental ishlar Butenko (1964), shuningdek aseptik kulturalarni olish va saqlash, kallus hosil bo‘lishini induksiya qilish va *in vitro* regeneratsiyaga zamonaviy yondashuvlarning asosini tashkil etuvchi Kalinin va boshqalar (1980) tomonidan ishlab chiqilgan klassik usullarga muvofiq amalga oshirildi.

Biologik faol moddalarni (BFM) o‘rganish metabolitlarning aniq miqdoriy va sifat ko‘rsatkichlarini ta’minlaydigan yuqori samarali suyuqlik xromatografiya (YuSSX) usullari yordamida amalga oshirildi.

*In vitro* kulturalarida olingan tuzilmalar morfologiyasini tahlil qilish va *in vitro* kulturalarida o‘rganilgan turlarning morfogenez jarayonlarini kuzatish Z. P. Pausheva (1988) usuli bo‘yicha stereomikroskop yordamida amalga oshirildi.

**Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:**

Ilk bor *Ferula tadshikorum* va *F. moschata* turlarni *in vitro* kulturasiga kiritish uchun qo‘llanilgan eksplantlarning morfogenetik potensiali aniqlandi;

Gormonal, trofik va fizik omillarning klonal mikroko‘paytirishga ta’siri yoritib berildi;

Ilk bor *F. tadshikorum* va *F. moschata* turlari uchun sterilizatsiya bosqichlari, optimal eksplantlar va ekish sharoitlarini tanlashni o‘z ichiga olgan *in vitro* kulturasiga kiritish protokollari ishlab chiqildi va eksperimental ravishda asoslandi;

Birinchi marta biologik faol moddalar (BFM) tarkibiga asoslangan klonal liniyalarni tanlash va qiyosiy tahlil qilish amalga oshirildi, bu esa *in vitro* sharoitida keyingi yetishtirish va tadqiq qilish uchun istiqbolli liniyalarni aniqlashga imkonini berdi.

**Tadqiqotning amaliy natijalari.** Ishlab chiqilgan mikroklonlash protokollari asosida 2 ta ixtiro darajasidagi guvohnoma olingan. Ushbu protokollar kovrakni sanoat hajmida keng miqyosda ko‘paytirish uchun qo‘llanilishi mumkin, bu esa farmasevtika korxonalarini barqaror va ekologik toza xom ashyo bilan ta‘minlaydi.

Bu nafaqat tabiiy populyatsiyalarga yukni kamaytiradi, balki fitofarmasevtikani rivojlantirish va o‘simlik dori-darmonlarini kengaytirishga yordam beradigan kovrak asosidagi dori vositalarini ishlab chiqarish narxini pasaytiradi.

Turkum turlarining 130 ta gerbariy namunalari asosidagi ma’lumotlar bazasi Bioxilma-xillik bo‘yicha ma’lumotlarning global tizimiga (www.gbif.org, GBIF) joriy etilgan;

**Tadqiqot natijalarining ishonchliligi** zamonaviy usullarning qo‘llanilganligi va ular asosida olingan ma’lumotlarning tahlil qilinganligi, respublika va xalqaro miqyosdagi ilmiy-amaliy konferensiyalarda muhokama qilinganligi hamda yetakchi ilmiy nashrlarda chop etilganligi bilan asoslanadi.

**Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.**

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati *Ferula* L. turkumining *F. tadshikorum* va *F. moschata* qimmatli dorivor turlarini mikroklonlash uchun ixtisoslashgan ozuqa muhitni ishlab chiqilganligi, ozuqa muhitlari zamburug‘li, bakterial, virusli, mikoplazma va nematod infeksiyalaridan xoli bo‘lgan genetik jihatdan bir xil ekish materiali olishni ta’minlaydi, bu ularning genetik xilma-xilligi va turg‘unligini saqlashga yordam beradi. Bundan tashqari, taklif qilingan usullar turli xil fitogormonlar va boshqa o‘sish regulyatorlarining morfogenez, regeneratsiya va biologik faol moddalar sintezi jarayonlariga ta’sirini o‘rganishga imkon beradi. Ushbu ikki turni *in vitro* sharoitida ko‘paytirish orqali O‘zbekistonda tarqalgan boshqa Ferula turkumi kamyob turlari uchun *in vitro* usulida ko‘paytirishni ilmiy asoslari yaratiladi. Turli fitogormonlar ta’sirida o‘simliklarda mavjud ikkilamchi metabolitlar sintezini boshqarish mexanizmlari yaratiladi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati ekish materialini yetishtirish va ishlab chiqarish maydonlaridan foydalanishni optimallashtirish uchun yil davomida samarali yetishtirish texnologiyalarini yaratilganligi bilan izohlanadi. Ishlab chiqilgan mikroklonlash protokollari kovrakni sanoat miqyosida ko‘paytirish uchun qo‘llanilishi mumkin, bu esa farmasevtika korxonalarini barqaror va ekologik toza xom ashyo bilan ta’minlaydi.

**Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi.** “*Ferula tadshikorum* Pimenov va *Ferula moschata* (H. Reinsch) Koso-Pol. ning *in vitro* sharoitida biologiyasi” ni o‘rganish natijasida olingan ilmiy natijalar asosida:

o‘simliklarning *in vitro* sharoitida klonal mikroko‘paytirish bo‘yicha olingan natijalar Toshkent Botanika bog‘i faoliyatiga joriy etilgan (O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasining 2024-yil 6-noyabrdagi №4/1255-2470-sonli ma’lumotnomasi). Bu esa, *in vitro* sharoitida klonal mikroko‘paytirsh orqali o‘simliklarning ko‘chatlarini yetkazib berish imkonini bergan;

o‘simliklarning 130 gerbariy namunalari bo‘yicha ma’lumotlar bazasi Global bioxilma-xillik ma’lumotlari tizimiga (www.gbif.org, GBIF) joriy etilgan (Global bioxilma-xillik ma’lumotlari bazasining 2025-yil 13-maydagi guvohnomasi). Natijada, o‘simliklarning O‘zbekistonda tarqalish hududlari bo‘yicha ma’lumotlarni xalqaro miqyosda olish imkonini bergan.

**Tadqiqot natijalarini aprobatsiya qilish.** Mazkur tadqiqot natijalari 4 ta xalqaro va 3 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida ma'ruza qilingan va muhokamadan o'tkazilgan.

**Tadqiqot natijalarini nashr etish.** Dissertatsiya mavzusi bo'yicha 15 ta ilmiy ish, shu jumladan Scopus bazasida indekslangan jurnallarda 3 ta maqola, xorijiy nashrlarda 2 ta maqola va O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining doktorlik dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etishga tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 3 ta maqola, shuningdek, xalqaro konferensiyalarda 5 ta va respublika ilmiy konferensiyalarida 2 ta ma'ruza tezislari chop etilgan. Bundan tashqari, Ixtiro turidagi 2 ta guvohnoma olingan.

**Dissertatsiya hajmi va tuzilishi.** Dissertatsiya tarkibi kirish, 4 ta bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati va ilovadan iborat. Dissertatsiya hajmi 116 betni tashkil etadi.

## DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

**Kirish** qismida mavzuning dolzarbligi va zarurati asoslangan, tadqiqotning maqsad va vazifalari, obyekti va predmeti tasniflangan, Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mosligi ko'rsatilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning ilmiy va amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarining amaliyotga joriy qilinishi, nashr etilgan ishlar hamda dissertatsiya tuzilishi bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan.

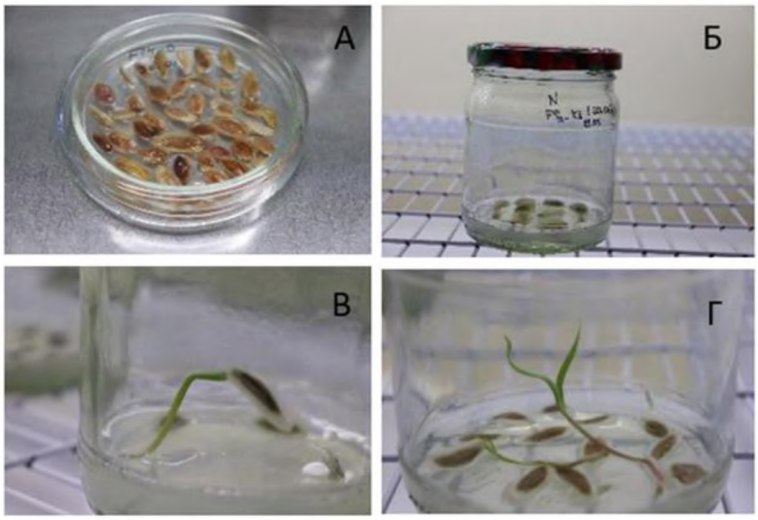
Dissertatsiyaning **"*Ferula* L. turkumi turlari biotexnologiyasini o'rganilish tarixi"** deb nomlangan birinchi bobida *Ferula* turkumi turlarida olib borilgan biotexnologik tadqiqotlar, *in vitro* sharoitida o'simliklardagi morfogenez bosqichlari, jumladan kallusogenez, somatik embriogenez, organogenez bosqichlarining o'ziga xos xususiyatlari haqida ma'lumotlar keltirilgan. *Ferula* turkumining biotexnologik yo'l bilan ko'paytirilishi ilk bor 2008 yilda Eronda Bernard tomonidan amalga oshirilgan bo'lib, ushbu taqdqiqotlarda *Ferula* turkumi turlari uchun somatik embriogenez jarayoni xosligi haqidagi g'oyalar ilgari surilgan. Bundan tashqari, morfogenez jarayonlariga ekzogen o'sish regulyatorlarining ta'siri haqidagi ma'lumotlar keltirib o'tilgan. Umuman olganda, turkum turlarini *in vitro* sharoitida klonal mikroko'paytirish ishlarining aksariyati Eronlik tadqiqotchilarga tegishli bo'lib, qisman Hindiston va Turkiyada ham bunday tadqiqotlar olib borilgan.

Dissertatsiyaning **"Tadqiqot obyektlari va metodlari"** deb nomlangan ikkinchi bobida tadqiqot ob'yekti sifatida olingan dorivor va bugungi kunga kelib soni kamayib borayotgan tojik kovragi va sumbul kovrakning botanik tavsifi, kimyoviy tarkibi, dorivorlik xususiyatlari haqida ma'lumotlar keltirilgan. Metodlar qismida esa tadqiqot davomida amalga oshirilgan barcha eksperimental usullar haqida batafsil to'xtatlib o'tilgan. Bunda daladan keltirilgan eksplantlarni turli xil sterillash bosqichlari va turlari, turli ozuqa muhitlari va ularga qo'shilgan fitogormonlar kombinatsiyasining 183 dan ortiq turi, o'rganilayotgan obyektlarni *in vitro* kulturasiga kiritish bosqichlari, olingan regenerant o'simliklarni ildizlatish va *ex vitro* sharoitiga moslashtirish jarayonlari, morfogenezning kallusogenez

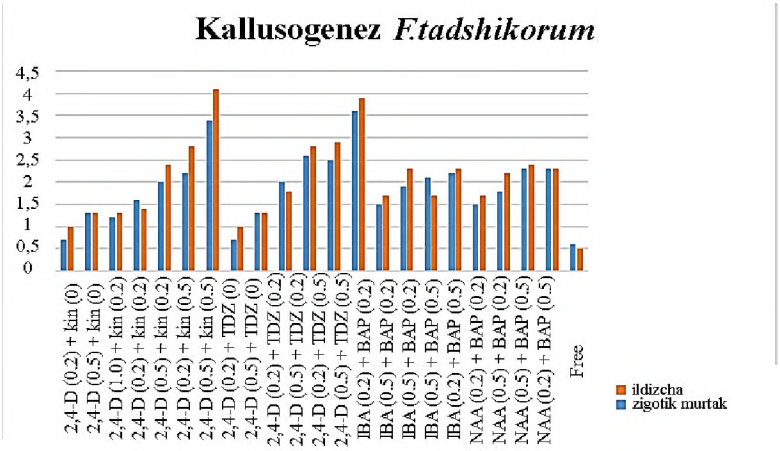
hamda organogenez bosqichida ulardagi biologik faol moddalarni ekstraksiya qilish usullari hamda miqdoriy tahlil qilish usullari haqida ma'lumotlar berib o'tilgan. Bunda foydalanilgan turli ozuqa muhitlari ichida eng maqbuli Murasiga va Skug (MS), ya'ni morfogenez jarayonining barcha bosqichlarida ham birdek qo'llay olish mumkin bo'lgan ozuqa muhiti ekanligi, qolgan ozuqa muhitlari, masalan WPM faqat daraxt turlar uchun, DKW ozuqa muhiti esa organogenezni jadal kuchaytirib, o'rganilayotgan obyekt turlarda anomal regenerantlar hosil bo'lishiga olib kelishi holatlarini namoyon etdi. Fitogormonlar kombinatsiyasida ham o'ziga xosliklar kuzatilib, kallusogenez uchun 2,4- dixlorfenoksisirka kislotasining past konsentratsiyasi, somatik embrionlar hosil bo'lishi uchun kinetin, somatik embrionlarning o'simlikka aylanish bosqichida esa aksincha kinetinni muhitdan chiqarish, regenerant o'simlik olish uchun esa gormonsiz ozuqa muhiti, ildizlatish uchun esa indolilmoy kislotasi, nozik regenerant o'simliklarni bo'yiga o'sishi va baquvvatlashishi uchun esa benzilaminopurinning past konsentratsiyalari maqbul ekanligi aniqlandi. Somatik embrionlar hosil bo'lishi dastlab hosil bo'lgan kallus to'qimalarni 7-10 kun davomida qorong'uda saqlash orqali kuchliroq stimullanishi kabi jarayonlar aniqlandi.

Dissertatsiyaning **"*Ferula* L. turkumi kamyob va endem turlarining to'qima va organlarining morfogenetik potensiali hamda *in vitro* regenerant o'simliklarining xususiyatlari"** deb nomlangan uchinchi bobi turlarni *in vitro* sharoitida ko'paytirishda ularda kechadigan turli morfogenez jarayonlari, jumladan kallus hosil bo'lishidan boshlab, regenerant o'simlik hosil bo'lishigacha bo'lgan bosqichlardagi o'zgarishlar, ularga turli omillarning ta'siri haqidagi ma'lumotlarni o'z ichiga olgan. Ushbu bob bir necha bo'limlardan iborat. Eksplant sifatida asosan urug' olinganligi sababli, turlarning *in vitro* sharoitida urug' unuvchanligi o'rganilganda, *F. tadshikorum* turining ikkita populyatsiyasidan (FT1 va FT3_K) terib keltirilgan urug'lar 55-60% unuvchanlikni namoyon etdi. *F.moschata* turining *in vitro* sharoitidagi urug' unuvchanligi turli sterilizatsiya, stratifikatsiya jarayonlarini qo'llaganda ham ijobiy natija bermadi. Shu uchun bu turda eksplant sifatida kelgusida urug' murtagidan foydalanildi (1-rasm).

Uchinchi bobning ikkinchi bo'limi ikki turning kallusogenez jarayonlari hamda ushbu jarayonga fitogormonlarning ta'sirini aniqlashga bag'ishlangan. *F. tadshikorum* da eksplant sifatida ham unib chiqqan urug'ning turli segmentlari hamda urug' murtagi ishlatilganligi uchun, kallusogenez jarayoni hamda kallusdan keying jarayonlarda farqlar kuzatildi. Unib chiqqan urug'ning faqatgina ildizcha va gipokotilning bazal qismida kallusogenez jarayoni kuzatilib, urug'pallada hech qanday morfogenez kuzatilmadi. Eksplant ekilgandan 7-10 kun ichida kallus hosil bo'lishi kuzatilib, bunda MS ozuqa muhitida 2,4-D (0.5 mg/l) + Kin (0.5 mg/l) va 2,4-D (0.5 mg/l) + TDZ (0.5 mg/l) fitogormonlar kombinatsiyasi eng yaxshi ko'rsatkichni namoyon etib, tegishlicha 3,4±0,30 va 3,6±0,26 (zigotik embrion), 4,1±0,18 va 3,9±0,18 (ildizcha va gipokotilning bazal qismi) ni tashkil etdi (2-rasm).




**1-rasm.** *Ferula tadshikorum.* Unib chiqqan urug‘ segmentlaridan eksplant sifatida foydalanish (gipokotil, urug’pallabarg, ildizcha) A. Urug‘larni 25 % li Murasige va Skug (1962) ozuqa muhitiga +5°C sharoitda sovutkichda 1-4 hafta davomida qorong‘uda saqlash. Б. Urug‘larni 50% li MS (1962) muhitiga o‘tkazishda 24±2°C haroratda kultural xonaga joylashtirish В. Г. Unib chiqqan urug‘lar




**2-rasm.** Fitogormonlarning turli xil kombinatsiyalarida zigotik embrionlarda va ildizchada kallus hosil bo‘lish intensivligini taqqoslash

*F.moschata* turida kallusogenez jarayoni zigotik embrionlarda 8-10 kunda kuzatilib, 12-14 chi kunlarga kelib yetuk zigotik embrionlarning 90 % ida kallusogenez induksiyasi kuzatildi. 2,4-D ni 0,5 mg/l konsentratsiyasida qo‘llash kallus hosil bo‘lish jarayonini samarali rag‘batlantirdi. 2,4-D (0,5 mg/l) ni TDZ (0,5 mg/l) bilan birgalikda qo‘llanilganda eksplantlarning 60-70 foizida kallus massasi (5,8 ± 0,38) oshdi (2-jadval). Shakllangan kalluslar oq rangga, yumshoq tuzilishga va nomorfogen xususiyatga ega edi. Ushbu bosqichda embriogen kalluslar atigi 12,5 % ni tashkil etgan. Fitogormonlarning turli kombinatsiyalaridan olingan kalluslar morfologik jihatdan bir-biridan farq qiladi. 2,4-D (0,2–0,5 mg/l) past konsentratsiyalarda kallus to‘qimasi oq, och sariq yoki och yashil rangga ega bo‘lgan. TDZ (0,2–0,5 mg/l) qo‘shilishi kallus massasining sezilarli darajada oshishiga olib keldi, morfogen va embriogen tuzilmalarning shakllanishini

rag‘batlantirdi. TDZ hujayra bo‘linishini va kallus to‘qimalarining shakllanishini boshqa sitokininlarga qaraganda samaraliroq qo‘zg‘atadi. Past konsentratsiyalarda u fotosintetik faollikni oshiradi, natijada kallus och yashil rangga ega bo‘ladi. Kinetin bilan birgalikda kalluslar embriogen elementlarni namoyish etdi, ammo massa bo‘yicha tdz qo‘shilishi bilan hosil bo‘lgan kalluslar kinetinli kombinatsiyalarga nisbatan ustunlik qiladi (1-jadval).

**1-jadval**

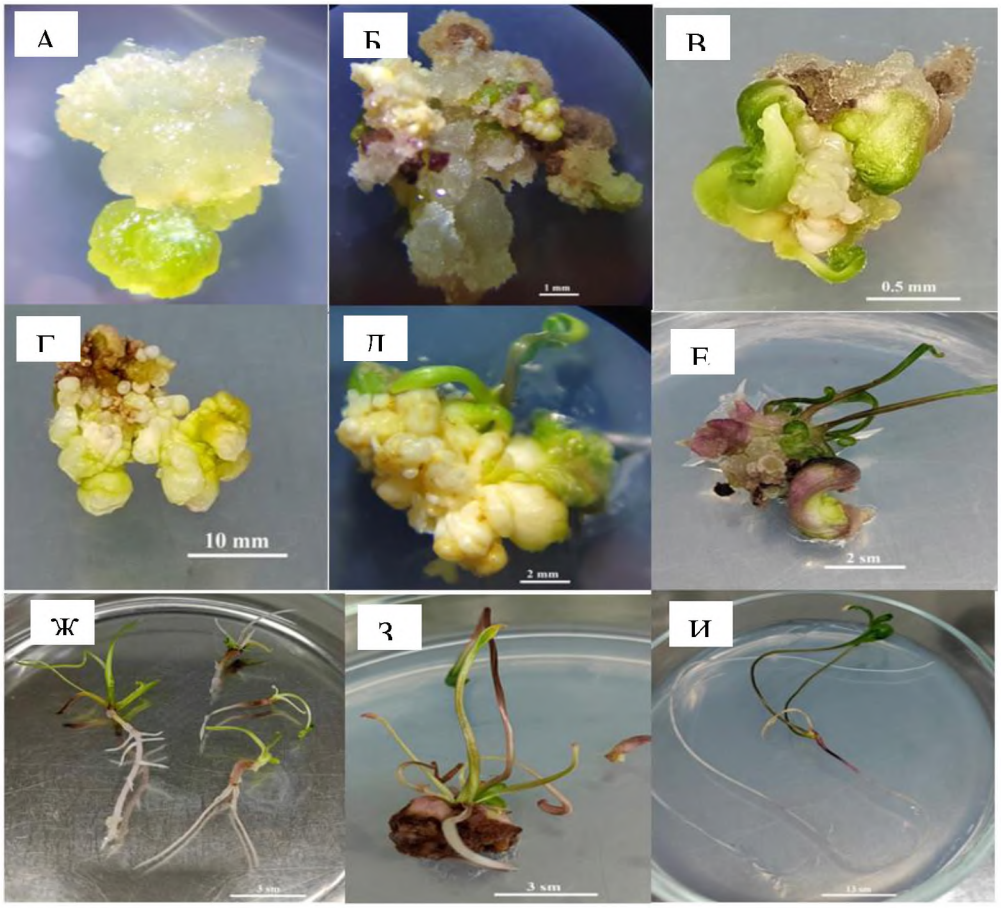
***F. moschata* da ayrim o‘simlik gormonlarining kallusogenez, bilvosita somatik embriogenez va ikkilamchi somatik embriogenezga ta’siri**

| Fitogormonlar | O‘rtacha kallusogenez ko‘rsatkichi | O‘rtacha bilvosita somatoembriogenez ko‘rsatkichi | O‘rtacha ikkilamchi somatoembriogenez ko‘rsatkichi |
|---|---|---|---|
| 2,4-D (0,2) | 1,3±0,15$^{(a)}$ | 0,4±0,16$^{(a)}$ | 1,2±0,16$^{(a)}$ |
| 2,4-D (0,5) | 3,3±0,55$^{(b)}$ | 1,1±0,18$^{(b)}$ | 1,2±0,16$^{(a)}$ |
| 2,4-D (1,0) | 1,6±0,16$^{(a)}$ | 0,4±0,16$^{(a)}$ | 0,2±0,16$^{(a)}$ |
| 2,4-D (0,2)+kin (0,2) | 2,3±0,21$^{(ab)}$ | 0,8±0,13$^{(a)}$ | 2±0,16 $^{(b)}$ |
| 2,4-D (0,5)+kin (0,2) | 2,9±0,37$^{(b)}$ | 1,7±0,26$^{(b)}$ | 2,9±0,16$^{(c)}$ |
| 2,4-D (0,2)+kin (0,5) | 2,9±0,23$^{(b)}$ | 1,8±0,20$^{(b)}$ | 2,7±0,21$^{(c)}$ |
| 2,4-D (0,5)+kin (0,5) | **5,2±0,35$^{(c)}$** | **4,8±0,32$^{(c)}$** | 2,5±0,34$^{(d)}$ |
| 2,4-D (0,2) | 2±0,29$^{(ab)}$ | 0,6±0,16$^{(a)}$ | 0,9±0,23$^{(a)}$ |
| 2,4-D (0,5) | 2±0,25$^{(ab)}$ | 1,6±0,16$^{(b)}$ | 1,9±0,17$^{(b)}$ |
| 2,4-D (0,2)+TDZ (0,2) | 3±0,40$^{(b)}$ | 2,1±0,23$^{(b)}$ | 1,8±0,25$^{(b)}$ |
| 2,4-D (0,5)+TDZ (0,2) | 3,2±0,32$^{(b)}$ | 2,4±0,22$^{(b)}$ | 4,9±0,45$^{(e)}$ |
| 2,4-D (0,2)+TDZ (0,5) | 3±0,21$^{(b)}$ | 2,6±0,22$^{(b)}$ | 2,1±0,27$^{(c)}$ |
| 2,4-D (0,5)+TDZ (0,5) | **5,8±0,38$^{(c)}$** | 3,3±0,26$^{(c)}$ | 4,1±0,31$^{(d)}$ |
| IBA (0,2)+BAP (0,2) | 2,7±0,33$^{(ab)}$ | 0,7±0,15$^{(a)}$ | 4,5±0,22$^{(e)}$ |
| IBA (0,5)+BAP (0,2) | 2,8±0,25$^{(ab)}$ | 0,6±0,16$^{(a)}$ | 3,7±0,36$^{(d)}$ |
| IBA (0,5)+BAP (0,5) | 4±0,33$^{(bc)}$ | 1,2±0,13$^{(b)}$ | **5±0,39$^{(f)}$** |
| IBA (0,2)+BAP (0,5) | 2,8±0,20$^{(ab)}$ | 0,9±0,18$^{(a)}$ | 2,8±0,25 $^{(c)}$ |
| NAA (0,2)+BAP (0,2) | 3±0,36$^{(b)}$ | 0,2±0,13$^{(a)}$ | 1,9±0,23$^{(b)}$ |
| NAA (0,5)+BAP (0,2) | 3,2±0,25$^{(b)}$ | 0$^{(a)}$ | 1,2±0,13$^{(a)}$ |
| NAA (0,5)+BAP (0,5) | 3,2±0,29$^{(b)}$ | 0$^{(a)}$ | 2,4±0,30 $^{(b)}$ |
| NAA (0,2)+BAP (0,5) | 2,4±0,16$^{(ab)}$ | 0$^{(a)}$ | 1,4±0,22$^{(a)}$ |
| Nazorat guruh (fitogormonlarsiz) | 0,7±0,15$^{(a)}$ | 0$^{(a)}$ | **6,2±0,44$^{(g)}$** |

Uchinchi bobning uchinchi va to‘rtinchi bo‘limlari har ikkala turning morfogenez yo‘llari, kallusogenezdan regenerant o‘simlik paydo bo‘lgungacha bo‘lgan bosqichlarni o‘z ichiga olgan.

***F. tadshikorumda* bilvosita organogenez va somatik embriogenez.** *F. tadshikorumda* hosil bo‘lgan kalluslarda morfogenez ikki xil yo‘l bilan kechdi: bilvosita somatik embriogenez va bilvosita organogenez. 8-10 haftalik kalluslar turli ozuqa muhitlari va fitogormonlar kombinatsiyasiga ko’chirib o‘tkazilganda, kinetinli kombinatsiyalardan olingan kalluslarda somatik embrionlar hosil bo‘la boshladi. Aksincha TDZ li kombinatsiyalardan hosil bo‘lgan kalluslarda organogenez elementlari, ya’ni novda shakllana boshlanganini ko‘rish mumkin.

Bunda IMK (0,5)+BAP (0,5) kombinatsiyasi organogenezni stimullovchi optimal variant ekanligi namoyon bo‘ldi. BAP ning bu konsentratsiyadan oshirilishi, anomal o‘simtalar hosil bo‘lishiga olib keldi. Hosil bo‘lgan o‘simtalarni kallusdan ajratib gormonlarsiz ozuqa muhitiga ko‘chirilganda bu o‘simtalar tez rivojlanishi kuzatildi.




**3-rasm.** *F. tadshikorum*: bilvosita somatik embriogenez va bilvosita organogenez. A. morfogen kallus; Б. kallus yuzasida somatoembrioidlarning shakllanishi. В. organogen tuzilmalarni shakllanishi. Г. morfogen kallus yuzasida globulyar somatoembrionlar. Д va Е. novdalar paydo bo‘lishi. Ж. somatik embrionlardan hosil bo‘lgan regenerant o‘simliklar. З kallus to‘qimasidan o‘simtalarning paydo bo‘lishi. И. regenerant o‘simliklar.

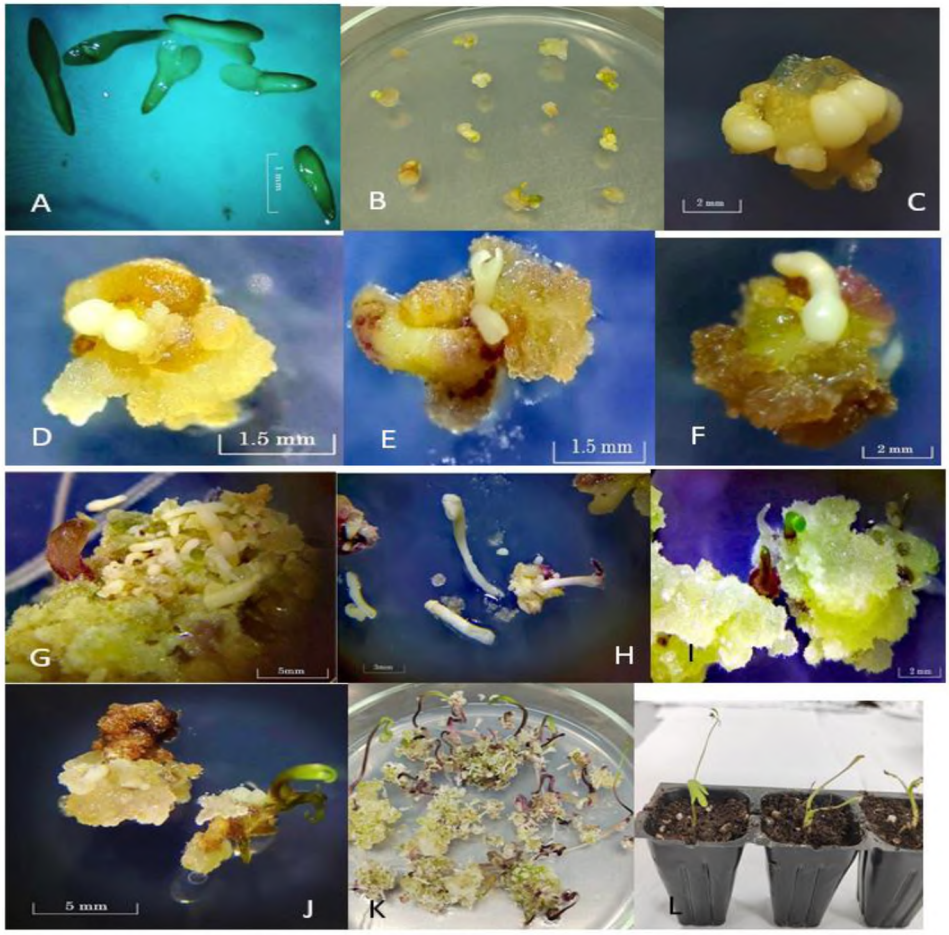
Bilvosita organogenez (kallus orqali) yo‘li bilan hosil bo‘lgan o‘simliklarni ildizlatish uchun auksinlarning turli kombinatsiyalari qo‘llanilib, ulardan eng maqbuli IMK ning past konsentratsiyalari va MS ozuqa muhitining 50 % li fitogormonlarsiz muhiti ekanligi aniqlandi (3-rasm).

*F.tadshikorumda* bilvosita somatik embriogenez eksplant ekilgandan boshlab 3-4 oylarda kuzatila boshlandi. Kinetinli kombinatsiyalardan hosil bo‘lgan kalluslarda embrioidlar paydo bo‘la boshlagach, ular fitogormonlarsiz ozuqa muhitiga ko‘chirib o‘tkazilganda, globulyar shakldan yuraksimon, torpedasimon va oxiri urug‘palla shakliga o‘tib o‘simtalarga aylanishi kuzatildi. Shu o‘rinda aytib o‘tish kerakki, agar kalluslardan hosil bo‘lgan embrionlarni uzoq vaqat qayta qayta 2,4-D gormonli kombinatsiyalarga ko‘chirib o‘tkazilsa, embrionlarning qayta

kallusga aylanishi kuzatila boshlaydi. Somatik embrionlarga o‘zining to‘rttala rivojlanish stadiyasini bosib o‘tib, o‘simlikka aylanishi uchun muhitdan gormonlarni olib tashlash maqbul variantdir. Kulturalar 24°C haroratda, nisbiy namlik 40%, 16/8 soat (yorug‘lik/ qorong‘ulik) fotoperiodda va yorug‘lik 1000-1300 lyuksda yetishtirilgan.

*F.tadshikorumda* kuzatilgan ushbu ikki morfogenez yo‘li orqali hosil bo‘lgan regenerantlar bir biridan tuzilishi, jarayonni borish davomiyligi bilan farq qiladi. Bilvosita organogenezdan hosil bo‘lgan regenerantlarning yer ustki qismi ildiz tizimiga nisbatan kuchliroq rivojlanib, regeneratsiya chastotasi 42 ± 0,19 % ni tashkil etib, o‘rtacha 7-8 oyni o‘z ichiga oladi. Bu jarayondan farqli o‘laroq, bilvosita somatik embriogenez bipolyar struktura hosil qilish bilan namoyon bo‘lib, hosil bo‘lgan regenerant o‘simliklar ham novda, ham ildiz tizimiga ega. Bu jarayon uchun o‘rtacha 5-6 oy sarflanadi va hosil bo‘lgan regenerantlar bilvosita organogenezdan hosil bo‘lgan o‘simliklarga nisbatan kichikroq bo‘ladi. Regeneratsiya chastotasi bitta kallusga nisbatan 20 ± 1,7 % ni tashkil etdi. Organogenez yo‘li bilan olingan o‘simliklar tabiiy sharoitda ikki yillik yuvenil o‘simliklarga to‘g‘ri keladi, balandligi 4-5 sm ga yetadi va haqiqiy yashil barglarni hosil qildi. Shu bilan birga, bilvosita somatik embriogenez natijasida hosil bo‘lgan o‘simliklar bir yillik yuvenil o‘simliklarga o‘xshab, generativ ko‘chatlarga mos keladi, balandligi 2-3 sm bo‘lib, urug‘pallabarglari mavjudligi bilan ajralib turadi.

***F. moschatada* bilvosita somatik embriogenez va ikkilamchi somatik embriogenez.** Ushbu turda ham somatik embrionlar hosil bo‘lishi uchun 2,4-D, kinetinning 0,5 mg\l konsentratsiyalari maqbul variant ekanligi tadqiqotlarda namoyon bo‘ldi. Hosil bo‘lgan kalluslarning sirt yuzasida globulyar embrionlarning paydo bo‘lishi 51 % ni tashkil etdi, bu ko‘rsatkich esa *F. tadshikorumga* nisbatan (20 %) ikki baravar yuqori ekanligini ko‘rsatadi. Kinetinning 0,2 mg\l dan past konsentratsiyasida somatoembriogenez induksiyasi kuzatilmadi. Birinchi yoki uchinchi ko‘chirib o‘tkazishda ozuqa muhitida somatik embrionlarning turli bosqichlardagi rivojlanish shakllari kuzatildi: sharsimon, yuraksimon, torpedosimon va urug‘pallasimon. Sferik bosqichda (20-23-kun) embrionlar yumaloq, biroz yassilangan shaklga, zich tuzilishga va oq rangga ega bo‘lib, ularning o‘lchamlari 100-150 mkm ni tashkil etdi Yuraksimon shaklidagi bosqichda (25-30-kun) hajmi 200-300 mkm gacha o‘sdi, tuzilishi zich bo‘lib qoldi, to‘qimalarning differensiatsiyasi boshlandi. Torpedosimon bosqichda (30-35-kun) embrionlar cho‘zilib, uzunligi 400-600 mkm ga etdi, xarakterli cho‘zinchoq shaklga ega bo‘ldi, apikal va bazal zonalarning shakllanishi bilan aniq qutblanishni ko‘rsatdi, bu morfogenez jarayonlarining kuchayganligini ko‘rsatadi. Shunday qilib, somatik embrionlarning rivojlanishi aniq morfologik bosqichlardan o‘tdi, ularning har biri o‘ziga xos tuzilish va o‘lcham xususiyatlari bilan ajralib turardi va kinetinning optimal kontsentratsiyasi (0,5 mg/l) somatik embrionlarning muvaffaqiyatli induksiyasi va rivojlanishida muhim rol o‘ynadi.




**4-rasm.** *F. moschata:* bilvosita somatik embriogenez. A. yetuk zigotik embrionlar (eksplant sifatida); B. zigotik embrionlarda kallus induksiyasi; C, D, E, F. bilvosita somatik embriogenezning induksiyasi va turli shakldagi somatik embrionlarning shakllanishi; G. gormonsiz MS muhitida ikkilamchi somatik embrionlar; H. izolyatsiyalangan alohida somatik embrionlar; I, J, K., somatik embrionlardan rivojlangan o‘simlik; L. tuproq, qum, vermikulit va kokos qipiqlarinio‘z ichiga olgan plastik stakanlardagi regenerant o‘simlik (1:1:1:1).

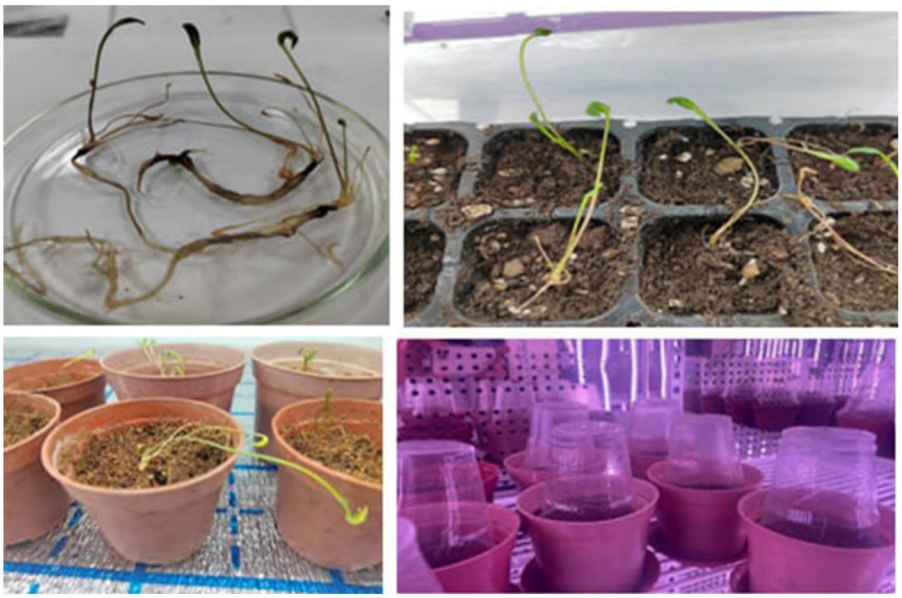
Beshinchi ko‘chirib o‘tkazilishda somatik embrionlarning o‘simliklarga aylanishi kuzatila boshlandi, bunda fitogormonlar kombinatsiyasi hamda gormonlardan holi MS ozuqa muhitlarida tajribalar olib borildi. Bu bosqichda embrionlarning 42,1% i regenerantlarga aylanishi kuzatildi. Embriogen kallusni IMK (0,5 mg/l) va BAP (0,2-0,5 mg/l) bilan birgalikdagi muhitga o‘tkazishda o‘simliklar hosil bo‘lishi kuzatilgan, biroq abnormal o‘simliklar paydo bo‘lishi ham qayd etilgan. BAP kontsentratsiyasining pasayishi regenerativ o‘simliklarning rivojlanishini sekinlashtirdi, kontsentratsiyaning oshishi esa abnormal o‘simliklar sonining ko‘payishiga olib keldi. Oddiy regenerant o‘simliklarning shakllanishi asosan gormonlarsiz MS muhitida yoki past konsentratsiyali MS muhitida (0,2–0,5 mg/l) IMK va BAP kombinatsiyasida sodir bo‘lgan.

Shuni ta‘kidlash kerakki, somatik embrionlar shakllanishi bosqichida ikkilamchi somatik embrionlar (ISE) ham sezilarli darajada kuzatilgan (4G, 4H rasmlar). Hammasi gormonsiz muhitga o‘tkazilgandan so‘ng, jadal tarzda regenerant o‘simliklar (6,2 ± 0,44) hosil bo‘lgan, bu ikkilamchi somatik embrionlarning yuqori regenerativ qobiliyatini ko‘rsatadi. Ikkilamchi somatik

embrionlar birlamchiga nisbatan tezda o‘simlikka aylana olish qobiliyatini namoyon etadi.

*In vitro* sharoitida klonal ko‘paytirilgan o‘simliklarni tuproq sharoitiga, ya’ni nosteril *ex vitro* sharoitiga moslashtirish eng asosiy va murakkab bosqichlardan biridir. Shu jumladan, tadqiqot obyektlarining probirkalardagi regenerant o‘simliklari turli xil kombinatsiya va sharoitlarda tuproqqa ko‘chirib o‘tkazildi.

Ildiz tizimi yaxshi rivojlangan va barglari bo‘lgan regenerantlar agar qoldiqlaridan tozalanib, 1:1:1 nisbatda tuproq, vermikulit va perlit aralashmasidan tashkil topgan tuproq substratini o‘z ichiga olgan plastik stakanlarga ko‘chirildi. Dastlab, namlik 70-80% bo‘lgan sharoitda saqlandi. Biroq, ko‘chatlarning aksariyati 7-10 kundan keyin nobud bo‘ldi. Yashovchanlik va tuproqqa moslashishni kuchytirish maqsadida bir necha xil usullar sinovdan o‘tkazildi, jumladan, tuproq substratining tarkibi va sug‘orish tartibini o‘zgartirish, steril qum qo‘shish, tuproq va regenerantlarni turli fungitsid preparatlari bilan davolash. 1:1:1:1 nisbatda tuproq, qum, vermikulit va kokos qipiqlaridan iborat substratdan foydalanish eng samarali usul bo‘ldi. 2,5 oydan so‘ng, moslashtirilgan o‘simliklar issiqxonaga ko‘chirildi. Barcha sharoitlar yaratilgandan so‘ng o'simliklarning yashovchanlik darajasi 60-65% ga yetdi (5-rasm).



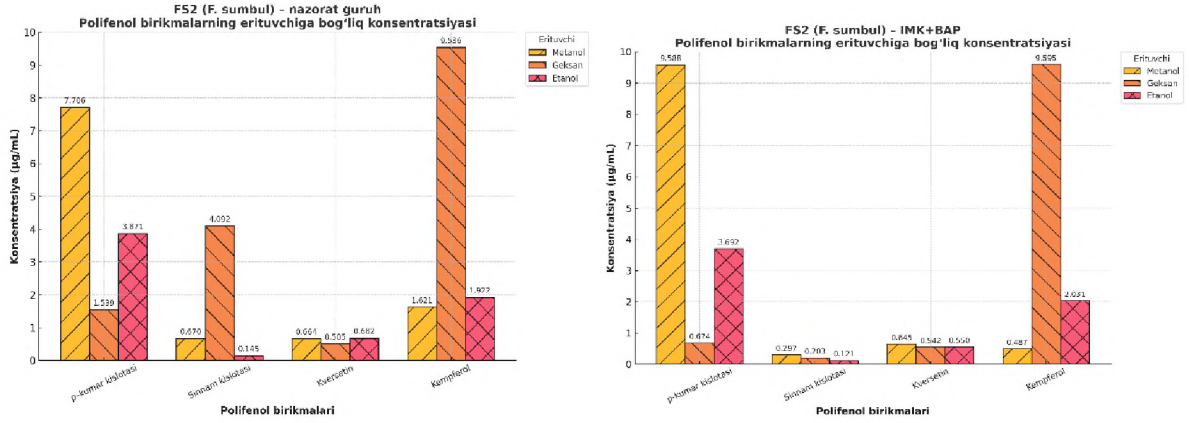
**5-rasm.** Tuproq, qum, vermikulit va kokos qipiqlarini (1:1:1:1) o‘z ichiga olgan plastik stakanlarda sog‘lom regenerant o‘simlik

Dissertatsiyaning **“*In vitro* sharoitida turli liniyalardagi kallus to‘qimalari va mikroklonlarni biologik faol moddalari tarkibini o‘rganish”** deb nomlangan to‘rtinchi bobi olingan kallus to‘qimalari hamda regenerantlardagi biologik faol moddalarni o‘rganish, tabiiy muhitda o‘sgan o‘simlik tarkibi bilan solishtirish, bundan tashqari antioksidant faollikni aniqlashga bag‘ishlangan. Kamyob dorivor turlarni biotexnologik yo‘l bilan ko‘paytirishdan asosan ikki maqsad ko‘zlanadi. Birinchidan, o‘simliklarni yil davomida uzluksiz ko‘paytirish va tabiiy populyatsiyalariga qaytarish, ikkinchidan *in vitro*da ko‘paytirilgan

regenerant o‘simliklardan o‘sib borayotgan farmasevtik ehtiyojni qondirish uchun manbaa sifatida foydalanish. Shu uchun ham *in vitro* sharoitida olingan o‘simliklardagi biologik faol moddalarni miqdoriy o‘rganish ishning asosiy etaplaridan biridir.

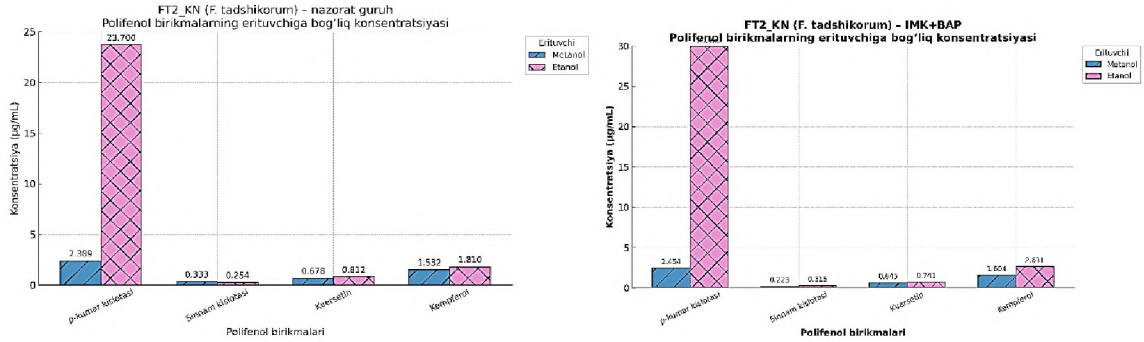
Tadqiqot natijalari shuni ko‘rsatdiki, IMK va BAP gormonlarining past konsentratsiyasida o‘stirilgan o‘simliklar tabiatda o‘sgan o‘simliklarga qaraganda flavonoidlarning, ayniqsa kempferol va p-kumar kislotasining yuqori miqdori bilan ajralib turadi. *F. tadshikorum* turli ekstraktlarida p-kumar kislotasining sezilarli miqdori (etanol ekstraksiyasida 29,9 mkg /ml) va *F. moschata* ning metanol ekstraksiyasida p-kumar kislotasining maksimal konsentratsiyasi 9,58 mkg /ml ga yetdi, geksanli ekstraksiyasida esa kempferol (9,59 mkg / ml) yuqori miqdorda ajralganligini ko‘rish mumkin.

Biroq, gormonsiz muhitda o‘stirilgan o‘simliklarda bu birikmalarning konsentratsiyasi pastroq bo‘lib, p-kumar kislota miqdori 7,706 mkg / ml ni tashkil etdi va kempferol miqdori o‘xshash natijani berdi. (6 -rasm).



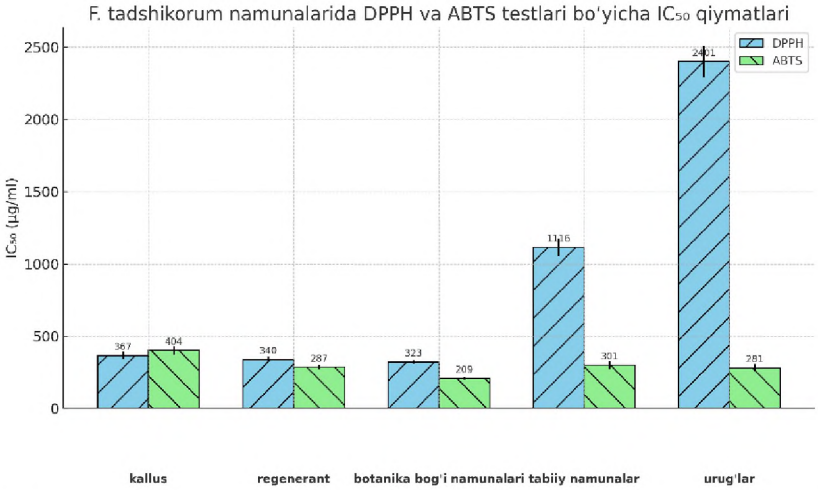

**6-rasm.** *F. moschata*da turli xil erituvchilar (metanol, geksan va etanol) da olingan *in vitro* regenerant o‘simliklarida to‘rtta standartni (quersetin, kaempferol, p-kumar va sinnam kislotalar) miqdoriy tahlil qilish. A. fitogormonlarsiz MS ning ozuqa muhitida. B. IMK (0,5 mg/l) + BAP (0,5 mg/l) kombinatsiyadagi MS ozuqa muhitida

*F. tadshikorum* ning kallus va regenerant o‘simliklari aralashmasining metanol va etanolli ekstraktlarida ushbu to‘rtta modda miqdoriy analiz qilinganda etanolli ekstraktda p-kumar kislotasining yuqori miqdorda (29,9 mkg / ml) ajralishi kuzatildi. Kversetin va sinn kislotasi ikkala turdagi ekstraktlarda ham oz miqdorda mavjud bo‘lib, kempferol (2,63 mkg / ml) esa metanolga nisbatan etanol ekstraktida sezilarli darajada yuqori konsentratsiyalarda ajralib chiqdi. Tajribalarda tabiiy muhitda o‘sgan o‘simliklarda bu birikmalarning konsentratsiyasi pastroq bo‘lib, p-kumar kislotasi 23,7 mkg / ml, kaempferol 1,81 mkg / ml ni namoyon etdi (7-rasm).




**7-rasm.** *F. tadshikorumda* turli xil erituvchilar (metanol, geksan va etanol) da olingan *in vitro* regenerant o‘simliklarida to‘rtta standartni (quersetin, kaempferol, p-kumar va sinnam kislotalar) miqdoriy tahlil qilish. A. fitogormonlarsiz MS ning ozuqa muhitida. B. IMK (0,5 mg/l) + BAP (0,5 mg/l) kombinatsiyadagi MS ozuqa muhitida

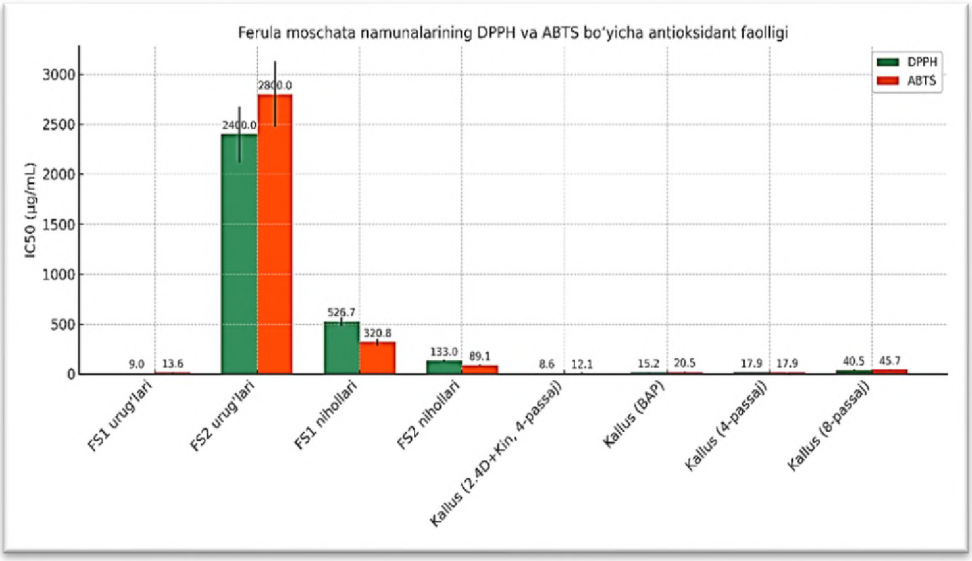
Tadqiqot natijalari shuni ko‘rsatdiki, antioksidant faollik *F. tadshikorum*ning o‘sish sharoitlari va material turiga qarab sezilarli darajada farq qiladi: kallus kulturalari eng yuqori antioksidant faollikni ko‘rsatdi (IC50 = 366,92 mkg / ml), regenerant o‘simliklar ikkinchi eng kuchli antioksidant faollikni namoyon etdi (IC50 = 339,61 mkg / ml), botanika bog‘idan terilgan o‘simlik materiallari tabiiy muhitda o‘sgan namunalardan yaxshiroq ekanligi aniqlandi (IC50 = 322.84 mkg / ml), tabiatda yovvoyi holda o‘sayotgan o‘simliklar bu faollikka nisbatan ancha yomon ko‘rsatkichlarga ega ekanligi aniqlandi (IC50 = 1115,81 mkg / ml), urug‘lar esa antioksidant faollik jihatidan eng past ko‘rsatkichni namoyon etdi (IC50 = 2401,49 mkg /ml). Ushbu natijalar kallus kulturalari va regenerant o‘simliklarning antioksidant manbaalari sifatida istiqbolli ekanligini ta‘kidlaydi, urug‘lar va yovvoyi o‘simliklar esa antioksidant faollikka nisbatan ancha kuchsiz namunalar ekanligi namoyon bo‘ldi (8-rasm).




**8-rasm.** Har bir guruh uchun o‘rtacha qiymatlar (urug‘lar, regenerant o‘simliklar, kallus): DPPH antioksidant faolligi ($IC_{50}$), ABTS antioksidant faolligi ($IC_{50}$)

*F. moschata* turida *in vitro*da olingan kalluslar ozuqa muhitining fitogormonal tarkibi va ko‘chirib o‘tkazishlar soniga qarab keng ko‘lamli faollikni namoyon etdilar. DPPH bo‘yicha 2,4-D+Kin (4- ko‘chirib o‘tkazish, jigarrang) va BAP

bo‘lgan kombinatsiyalarda hosil bo‘lgan kalluslar urug‘larga (FS1) qaraganda yuqori antioksidant faollikni namoyon etdi. Biroq, ABTS bo‘yicha faqat 2,4-D+Kin (4-ko‘chirib o‘tkazish, jigarrang) kalluslar (17,91 mkg /ml) urug‘larga yaqin ko‘rsatkichni namoyon etdi. Kallus ekstraktining ajralishi urug‘lar va regenerant o‘simliklarga qaraganda 2-3 baravar yuqori. Olingan natijalar shuni ko‘rsatdiki, fitogormonlar antioksidantlarning biosintezini sezilarli darajada oshiradi, ayniqsa dastlabki ko‘chirib o‘tkazishlarda. 4chi ko‘chirib o‘tkazishdagi kalluslarda antioksidant faollik maksimal, 8 chi ko‘chirib o‘tkazishdagi kallus kulturalarida esa kamayib boradi (ehtimol, ikkilamchi metabolitlarning biosintezi emas, balki proliferatsiya yo‘nalishi bo‘yicha “burilish”). Kallus kulturalari ayniqsa optimal yetishtirish sharoitida biotexnologiyaning istiqbolli obyekti bo‘lib xizmat qiladi (9-rasm).




**9-rasm.** Har bir guruh uchun o‘rtacha qiymatlar (urug‘lar, regenerant o‘simliklar, kallus): DPPH antioksidant faolligi ($IC_{50}$), ABTS antioksidant faolligi

Fitogormonlar ayniqsa subkulturaning dastlabki bosqichlarida antioksidant biosintezini sezilarli darajada kuchaytiradi. Kallus kulturalarining maksimal antioksidant faolligi to‘rt marta ko‘chirib o‘tkazishdan so‘ng kuzatiladi, sakkiz marta ko‘chirib o‘tkazilganda esa, ehtimol, ikkilamchi metabolitlarning biosintezi ustidan proliferatsiyaning ustunligi tufayli kamayadi. Kallus ekinlari yuqori ekstraksiya xususiyati tufayli biotexnologik tadqiqotlarning istiqbolli obyekti hisoblanib, ekstraksiya jarayoni urug‘lar va ko‘chatlarnikidan 3-4 baravar yuqori.

## XULOSALAR

1. *Ferula tadshikorum* ning barcha populyatsiyalaridan yig‘ilgan urug‘lari uchun unib chiqish darajasi 55-60 % ni tashkil etdi. Shu bilan birga, Surxondaryo viloyatidagi Kukkardansay populyatsiyasining urug‘ eksplantlarigina *in vitro* sharoitida morfogenezni namoyon etdi. *Ferula moschata* uchun *in vitro* sharoitida

urug‘larning juda past unib chiqishi aniqlandi, bu esa ushbu turning urug‘dan unib chiqqan o‘simtalari biotexnologik ko‘paytirish uchun eksplantlar sifatida foydalanishga imkon bermaydi.

2. *Ferula tadshikorum* va *Ferula moschata* turlari uchun kallus induksiyasining samaralari shartlari aniqlandi: kallusogenez 2,4-D (0,5 mg/l) va kinetin (0,5 mg/l) bilan to‘yintirilgan Murasige va Skug (MS) ozuqa muhitida muvaffaqiyatli amalga oshirildi. Tidiazuron (TDZ) ning 0,2–0,5 mg/l konsentratsiyasi kallus massasining oshishiga olib keldi. *F. tadshikorumda* kallus gipokotilning bazal qismida, ildizchada, hamda zigotik murtaklarda ham shakllangan, *F. moschatada* esa kallusogenez faqat zigotik murtaklarda kuzatilgan. Har ikkala tur uchun muqobil eksplantlar aniqlangan.

3. *Ferula tadshikorumni* zigotik embrionlardan Murasige va Skuga (1962) ozuqa muhitida bilvosita organogenez orqali mikroklonal ko‘paytirish imkoni yaratildi va regeneratsiya uchun 7-8 oy talab etilib, kallusga nisbatan regeneratsiya chastotasi 42 ± 0,19% ni tashkil etdi. Shuningdek, ushbu turning bilvosita somatik embriogenez jarayoni aniqlandi, bunda regeneratsiya 5-6 oy davom etib, 20 ± 1,7% ni tashkil etdi. Bilvosita somatik embriogenezda regeneratsiya samaradorligi bilvosita organogenezga nisbatan past ekanligi aniqlandi.

4. *Ferula moschata in vitro* morfogenezi bilvosita somatik embriogenez orqali sodir bo‘lishi aniqlandi. Bu jarayon Murasige va Skuga (1962) ozuqa muhitida kuzatilib, regeneratsiya chastotasi kallusga nisbatan 62±0,44 ni tashkil etib, o‘rtacha 5-6 oy ni o‘z ichiga oladi. Turning o‘ziga xos xususiyati gormonsiz muhitda ikkilamchi somatik embrionlarni hosil qilish qobiliyati bo‘lib, ular yuqori regeneratsiya xususiyatiga ega bo‘lib, juda tez o‘simlikka aylanadi.

5. *In vitro* regenerant o‘simliklarning tuproq sharoitlariga moslashishi bosqichma-bosqich gormonsiz muhitga o‘tishni talab qildi, so‘ngra 1:1:1:1 nisbatda tuproq, qum, vermikulit va kokos qipiqlaridan tashkil topgan substratga ko‘chirildi. Optimal namlik darajasi va substrat tarkibiga rioya qilgan holda, *ex vitro* sharoitida regenerantlarning yashovchanligi 60-65% ga yetdi.

6. *In vitro* olingan kallus kulturalari va regenerant o‘simliklarni kimyoviy tarkibini tahlil qilish natijasida ikkala turning flavonoid darajasi fitogormonlarning past konsentratsiyasida o‘stirilgan regenerantlarda tabiiy sharoitdagi o‘simliklarga nisbatan yuqori ekanligi aniqlandi. Erituvchilarning tabiati ham alohida flavonoidlarni ajratib olishning turli xil samaradorligini ta’minlashi aniqlandi, bu esa biologik faol birikmalar olish shartlarini tanlashda hisobga olinishi kerak.

7. *In vitro* sharoitida olingan *F. tadshikorum* va *F. moschata* kallus kulturalarining antioksidant faolligi yuqori samaradorlikni ko‘rsatdi. DPPH va ABTS testlarida eng yuqori faollik ko‘rsatkichlari *F. tadshikorum* (Hisor tog‘lari, Yuqori Machay) va *F. moschata* (Turkiston tizmasi, Qashqa-su) populyatsiyalari urug‘laridan olingan namunalarda qayd etilgan. Bu kallus kulturalaridan biologik faol moddalarning muqobil manbai sifatida foydalanish imkoniyatini beradi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019.B.39.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БОТАНИКИ**

**ИНСТИТУТ БОТАНИКИ**

**ЖАМАЛОВА ДИЛАФРУЗ НЕЪМАТИЛЛА КИЗИ**

# БИОЛОГИЯ *FERULA TADSHIKORUM* PIMENOV И *FERULA MOSCHATA* (H.REINSCH) KOSO-POL. В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

**03.00.05 – Ботаника**

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

**Ташкент – 2025**

**Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2022.2.PhD/B720.**

Диссертация выполнена в институте ботаники

Автореферат диссертации на трёх языках (узбекский, русский и английский (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета (www.botany.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (ziyonet.uz).

| | |
|---|---|
| **Научный руководитель:** | **Мустафина Феруза Усмановна**<br>доктор философии по биологическим наукам, старший научный сотрудник |
| **Официальные оппоненты:** | **Убайдуллаева Хуршида Абдуллаевна**<br>доктор биологических наук, профессор |
| | **Адилов Бехзод Абдуллаевич**<br>доктор биологических наук, старший научный сотрудник |
| **Ведущая организация:** | **Джизакский государственный педагогический университет** |

Защита диссертации состоится 8 августа 2025 года в $14^{00}$ часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.B.39.01 при Институте ботаники (Адрес: 100125, г.Ташкент, ул. Дурмон йули, дом 32. Актовый зал Института ботаники. Тел.: (+99871) 262-79-38, e-mail: botany@academy.uz.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института ботаники (зарегистрировано за № 72). Адрес: 100125, г.Ташкент, ул. Дурмон йули, дом 32. Тел.: (+99871) 262-37-95.

Автореферат диссертации разослан 24 июля 2025 года.
(реестр протокола рассылки № 11 от 24 июля 2025 года

**К.Ш. Тожибаев**
Председатель научного совета по присуждению учёных степеней, д.б.н., академик

**А.В. Махмудов**
Ученый секретарь Научного совета по присуждению учёных степеней, PhD, старший научный сотрудник

**Х.Ф. Шомуродов**
Председатель Научного семинара при Научном совете по присуждению учёных степеней, д.б.н., профессор

## ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD)

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В последние годы растет интерес к методам культивирования тканей, направленным на массовое размножение и сохранение редких, исчезающих и находящихся под угрозой исчезновения лекарственных растений. Современная биотехнология предоставляет возможности для ускоренного клонирования, сохранения генотипов, а также для генетической модификации растений, регулирования экспрессии генов с целью получения природных биологически активных соединений с улучшенными свойствами в большем количестве. Разработка биотехнологических методов размножения растений, создание генетических банков и коллекций клеточных культур играют важную роль в сохранении генофонда дикорастущих редких и исчезающих видов.

В последние годы в Республике Узбекистан принимаются важные меры, направленные на развитие сельского хозяйства, охрану окружающей среды, рациональное использование природных ресурсов, поддержание биоразнообразия и сохранение редких видов растений. Важной составляющей этого процесса является поддержка исследований в области биотехнологии, которая играет ключевую роль в повышении урожайности, устойчивом развитии агропромышленного комплекса и восстановлении экосистем.

[1] Постановление Президента Республики Узбекистан № ПП-4670 от 10 апреля 2020 года определяет меры по охране дикорастущих лекарственных растений, их культивированию, переработке и рациональному использованию имеющихся ресурсов. Данный документ подчеркивает значимость биотехнологических исследований в сфере фармацевтики и аграрного сектора, поскольку современные методы генной инженерии и культивирования растений позволяют не только сохранить редкие виды, но и повысить их экономическую ценность.

Кроме того, [2] Постановление Президента Республики Узбекистан от 26.11.2020 N PQ-4901 “О мерах по расширению масштабов научных исследований по выращиванию и переработке лекарственных растений, развитию семеноводства лекарственных растений” формирование и реализация единой стратегии выращивания и переработки лекарственных растений на научной основе, их рационального использования, внедрение новых методов выращивания дикорастущих лекарственных растений на территории республики изучение ареалов и выявление запасов, сохранение генофонда имеющихся биоресурсов, организация материнских плантаций направлена на проведение научных и практических исследований, связанных

[1] Постановление Президента Республики Узбекистан, от 10.04.2020 г. № ПП-4670 О мерах по охране, культурному выращиванию, переработке дикорастущих лекарственных растений и рациональному использованию имеющихся ресурсов

[2] Постановление Президента Республики Узбекистан от 26.11.2020 № ПП-4901 “О мерах по расширению масштабов научных исследований по выращиванию и переработке лекарственных растений, развитию их семеноводства”

с выращиванием и подготовкой семенного материала, размножением, организацией коллекционных питомников и переработкой их сырья, изучение химического состава лекарственных растений, стандартизацию и сертификацию продукции.

Особое внимание в контексте устойчивого развития заслуживает защита и сохранение уникальных природных ресурсов флоры Узбекистана. В стране растет богатое разнообразие растений — более 4,3 тыс. видов, среди которых 750 обладают лекарственными свойствами. Из них 112 видов находят применение в научной медицине, а 70 активно используются в фармацевтической промышленности. Экспорт продукции, полученной из лекарственных растений, в 2019 году составил 48 млн долларов США, что свидетельствует о высоком потенциале этого направления. Несмотря на экономическое значение растительной фармацевтики, существует насущная необходимость формирования эффективной цепочки добавленной стоимости через внедрение комплексных мер по сохранению, культивированию и переработке лекарственного растительного сырья. Особенно важным становится использование биотехнологий для сохранения редких и исчезающих видов растений, таких как ферула.

Ранее основные методы сохранения видового разнообразия включали хранение зародышевой плазмы в банках семян и создание живых коллекций в ботанических садах. Однако биотехнология культивирования лекарственных растений в условиях *in vitro* становится все более актуальной, открывая новые горизонты для сохранения этих растений и обеспечения их устойчивого использования. Особенно интенсивно в последние годы в Узбекистане собираются смолы из корней растений таких видов, как *F. foetida* и *F. tadshikorum*, ежегодно вывозимые в больших объемах. Однако усиленное использование природных популяций этих растений привело к угрозе исчезновения многих видов, поскольку они подвержены истощению из-за отсутствия семенного восполнения. Для таких видов, как *F. tadshikorum* и *F. moschata*, создание эффективных биотехнологических решений для массового размножения этих растений *in vitro* становится особенно актуальным для их сохранения и восстановления природных популяций. В связи с этим, уже разработаны протоколы для культивирования *in vitro* некоторых видов ферулы, таких как *F. assa-foetida*, *F. gummosa*, *F. jaeschkeana*, *F. orientalis* и *F. ferulaeoides*. Однако еще предстоит решить задачу микроклонального размножения видов *F. tadshikorum* и *F. moschata*. Решение этих вопросов в сочетании с государственными инициативами станет важным шагом на пути к защите и восстановлению природных лекарственных ресурсов нашей страны.

Таким образом, принятые государством решения демонстрируют осознание необходимости развития биотехнологических исследований и их интеграции в стратегические направления экономики и экологии. Поддержка научных инициатив в этой области позволяет не только достичь устойчивого развития, но и вывести страну на новый уровень инновационного прогресса.

Одним из наиболее актуальных направлений применения современных биотехнологических подходов является сохранение и рациональное использование природных ресурсов, в частности лекарственных растений.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики:** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологии Республики Узбекистан V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

**Степень изученности проблемы.** На сегодняшний день накоплен значительный объем исследований, посвященных видам рода *Ferula*, в том числе разработке протоколов микроклонального размножения. Первая система *in vitro*-регенерации была создана Bernard et al. (2007) для *F. gummosa* и стала основой для последующих работ в области биотехнологии этого рода. Протоколы микроклонального размножения *in vitro* разработаны для некоторых высокоценных лекарственных видов ферулы, например, *F. ferulaeoides* (Steud.) Korov. (Suran et al., 2016), *F. assa-foetida* L. (Hassani et al., 2008; Zare et al., 2010; Roozbeh et al., 2012; Otroshy et al., 2013), *F. gummosa* Boiss. (Bernard et al., 2007), *F. jaeschkeana* Vatke (Sharma and Khajuria, 2020) и *F. orientalis* L. (Tuncer, 2017). Однако для *F. tadshikorum* и *F. moschata* морфогенез в условиях *in vitro* ранее не изучался, что подчеркивает новизну настоящего исследования.

Проведён ряд химических исследований, посвящённых видам рода Ferula, в том числе с участием таких исследователей, как Халилова и Саидходжаев (1996), Шаропов и др. (2019), Веселовская и др. (1984), Рахманов (2017), Сагдуллаев (2018), Ходжиматов (1989), Эгамбердиева и др. (2017), Сайфиддинова и др. (2023), а также зарубежных авторов — Batra et al. (2017), Gonzalez et al. (1995), Zhou et al. (2000). Все эти исследования касались видов, произрастающих в дикой природе. Однако на сегодняшний день отсутствуют данные об изучении состава вторичных метаболитов в условиях *in vitro*, включая анализ фитохимического профиля каллусных культур, регенерантов и других типов тканей, полученных при культивировании. Это создаёт научный пробел, особенно с учётом важности таких исследований для оценки фармакологического потенциала *in vitro* растений и разработки устойчивых источников биологически активных веществ.

**Связь темы диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена работа.** Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ по прикладному проекту Института ботаники Академии наук Республики Узбекистан A-FA-2021-146 «Разработка технологии организации и размножения видов лекарственных растений с использованием методов *in vitro*» (2021–2023 гг.).

**Цель исследования:** Разработка эффективной системы клонального микроразмножения двух редких видов — *Ferula tadshikorum* и *Ferula*

*moschata*, исследование морфогенетических процессов в условиях *in vitro*, а также определение содержания биологически активных веществ в культурах тканей.

**Задачи исследований:**

1. Выявление закономерности индукции морфогенеза в каллусных тканях в зависимости от популяций, питательной среды, действия экзогенных факторов и типа эксплантов.
2. Выявление морфогенетического потенциала различных типов эксплантов (сегменты проросших семян, зиготические зародыши) исследуемых видов в культуре *in vitro*.
3. Определение влияния гормональных, трофических и физических факторов на их микроразмножение. Оптимизация условий получения асептической культуры *in vitro* для различных типов эксплантов данных видов.
4. Определение оптимальных режимов укоренения и адаптации пробирочных растений ферулы таджиков и ферулы мускатной к нестерильным условиям *ex vitro*.
5. Оптимизация протоколов клонального микроразмножения ферулы таджиков и ферулы мускатной.
6. Изучение содержания БАВ клональных линий с целью отбора потенциальных доноров с высоким содержанием БАВ.

**Объектами исследования являются** два лекарственные и краснокнижные виды рода *Ferula* L.: *Ferula tadshikorum* Pimenov, *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol.

**Предметом исследования** являются биотехнология, фитохимия, морфология, а также научные основы охраны и сохранения видов рода *Ferula*.

**Методы исследования.** Экспериментальные работы по культивированию изолированных тканей и органов растений проводились по классическим методикам, разработанным Бутенко (1964), а также Калининой и соавт. (1980), которые легли в основу современных подходов к получению и поддержанию асептических культур, индукции каллусообразования и регенерации *in vitro*.

Исследование биологически активных веществ (БАВ) проводилось с применением методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), обеспечивающей точную количественную и качественную характеристику метаболитов.

Анализ морфологии структур, полученных при культивировании *in vitro*, и изучение процессов морфогенеза исследуемых видов в культуре in vitro осуществлялись по методике З.П. Паушевой (1988) с использованием стереомикроскопа.

**Научная новизна исследования заключается в следующем:**

Определен морфогенетический потенциал эксплантатов, используемых для введения объектов исследования в культуру *in vitro*

Изучалось влияние гормональных, трофических и физических факторов на клональное микроразмножение.

Впервые для видов *Ferula tadshikorum* и *F. moschata* разработаны и экспериментально обоснованы протоколы введения в культуру *in vitro*, включая этапы стерилизации, выбор оптимальных эксплантов и условий культивирования.

Впервые осуществлён отбор и сравнительный анализ клональных линий на основе содержания биологически активных веществ (БАВ), что позволило идентифицировать перспективные линии для дальнейшего культивирования и исследования в условиях *in vitro*.

**Практические результаты исследования** На основе разработанных протоколов микроклонирования получены 2 патента в типе Изобретения. Разработанные протоколы микроклонирования могут быть применены для масштабного размножения *Ferula* в промышленных объемах, обеспечивая фармацевтические предприятия стабильными и экологически чистыми поставками сырья. Это не только снизит нагрузку на природные популяции, но и удешевит производство лекарственных препаратов на основе ферулы, способствуя развитию фитофармацевтики и расширению ассортимента растительных лекарственных средств.

База данных, основанная на 130 гербарных образцах видов рода, внедрена в Глобальную информационную систему по биоразнообразию (www.gbif.org).

**Достоверность результатов исследования** обусловлена использованием современных методов и анализом полученных данных, которые были представлены и обсуждены на республиканских и международных научно-практических конференциях, а также опубликованы в ведущих научных изданиях.

**Научно-практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования заключается в том, что разработаны специализированные питательные среды для микроклонирования ценных лекарственных видов рода *Ferula* L: *Ferula tadshikorum* и *F. moschata*, обеспечивающие получение генетически идентичного посадочного материала, питательные среды которого свободны от грибковых, бактериальных, вирусных, микоплазменных и нематодных инфекций, что способствует сохранению их генетического разнообразия и устойчивости. Кроме того, предложенные методы позволяют изучить влияние различных фитогормонов и других регуляторов роста на процессы морфогенеза, регенерации и синтеза биологически активных веществ. Путем разведения этих двух видов *in vitro* создаются научные основы разведения *in vitro* для других видов рода *Ferula*, распространенных в Узбекистане. Под действием различных фитогормонов создаются механизмы контроля синтеза вторичных метаболитов, присутствующих в растениях.

Практическая значимость результатов исследования объясняется созданием эффективных круглогодичных технологий выращивания

посадочного материала и оптимизации использования производственных площадей. Разработанные протоколы микроклонирования могут быть применены для промышленного воспроизводства ферул, обеспечивая фармацевтические предприятия устойчивым и экологически чистым сырьем.

**Внедрение результатов исследования.** на основе научных результатов, полученных в результате исследования "Биология *Ferula tadshikorum* Pimenov и *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol. в условиях *in vitro*":

полученные результаты по клональному микроразмножению растений в условиях *in vitro* внедрены в деятельность Ташкентского Ботанического сада (справка № 4/1255-2470 Академии наук Республики Узбекистан от 6 ноября 2024 года). Это позволило получить саженцы растений путем клонального микроразмножения в условиях *in vitro*;

база данных из 130 гербарных образцов растений включена в глобальную систему данных о биоразнообразии (Global Biodiversity Information Facility, www.gbif.org) (Сертификат глобальной базы данных по биоразнообразию от 13 мая 2025 г.). Это обеспечило международный доступ к сведениям о местонахождениях *F. tadshikorum* и *F. moschata* на территории Узбекистана.

**Апробация результатов исследования.**

Результаты данного исследования были представлены и обсуждены на четырех международных и трёх республиканских научно-практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, включая 3 статьи в журналах, индексируемых в базе Scopus, 2 статьи в зарубежных изданиях, и 3 статьи в научных изданиях, рекомендованных для публикации основных научных результатов докторских диссертаций Высшей аттестационной комиссии Республики Узбекистан, а также 5 тезиса на международных и 2 — на республиканских научных конференциях. Кроме того, получено 2 патента типа Изобретения.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 116 страницах.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обоснована актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи, охарактеризованы объекты исследования, выявлено соответствие данных исследований приоритетным направлениям развития науки и технологии республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрыта научная и практическая значимость полученных результатов, приведены внедрение в практику результатов исследования, а также сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **«История изучения биотехнологии видов рода *Ferula* L.»,** представлены сведения о биотехнологических исследованиях, проводимых на видах рода *Ferula*, особенностях стадий морфогенеза у растений в условиях *in vitro,* включая каллусогенез, соматический эмбриогенез, стадии органогенеза.

Размножение биотехнологическим путем рода *Ferula* была впервые проведена Бернардом в Иране в 2008 году, и в этих исследованиях были выдвинуты идеи о специфичности процесса соматического эмбриогенеза для видов рода *Ferula*. Кроме того, приводятся данные о влиянии экзогенных регуляторов роста на процессы морфогенеза. В целом, большая часть исследований по микроклональному размножению видов рода *in vitro* принадлежит иранским исследователям, и отчасти такие исследования также проводились в Индии и Турции.

Во второй главе диссертации, озаглавленной **«Объекты и методы исследования»,** приводятся сведения о ботаническом описании, химическом составе, лечебных свойствах *F. tadshikorum* и *F.moschata*, полученных в качестве объекта исследования и численность которых на сегодняшний день сокращается. В разделе «методы» подробно рассказываются экспериментальные методы, применявшихся в ходе исследования. Приведена информация о методах которые включает в себе различные этапы и виды стерилизации полевых эксплантатов, более 183 видов комбинаций различных питательных сред и добавленных к ним фитогормонов, этапы введения исследуемых объектов в культуру *in vitro*, процессы укоренения и адаптации полученных регенерирующих растений к условиям *ex vitro*, методы извлечения из них биологически активных веществ на стадии каллусогенеза и органогенеза морфогенеза, а также количественный анализ. При этом среди различных используемых питательных сред наиболее предпочтительной является среда Мурасиге и Скуга (МС). Данную питательную среду можно одинаково применять на всех этапах процесса морфогенеза, в то время как остальные питательные среды, такие как WPM, предназначены только для древесных видов, DKW вызывает образование аномальных регенерантов у видов, ускоряя органогенез. Специфичность морфогенетического ответа также проявляется при использовании различных комбинаций фитогормонов: низкая концентрация 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты способствует индукции каллусогенеза; кинетин используется для инициирования соматического эмбриогенеза; напротив, на стадии развития соматических эмбрионов в полноценные растения его исключение из питательной среды оказывается необходимым. Для получения регенерантов применяется гормонально-необогащённая среда, а на этапе укоренения эффективным оказывается добавление индолилмасляной кислоты. Однако установлено, что низкие концентрации бензиламинопурина оптимальны для роста и укрепления молодых регенерирующих растений. Кроме того, выявлено, что процессы соматического эмбриогенеза значительно

усиливаются при предварительном культивировании сформировавшегося каллуса в темноте в течение 7–10 суток.

Третья глава, оглавленная «**Морфогенетический потенциал органов и тканей редких и эндемичных видов рода *Ferula* L. и особенности регенерации растений *in vitro***», содержит описание различных процессов морфогенеза, наблюдаемых при in vitro размножении изучаемых видов. Рассматриваются стадии развития - от каллусообразования до формирования регенерирующих растений - а также влияние на них различных факторов. Глава включает несколько разделов. В большинстве описанных исследований микроклонального размножения видов рода *Ferula* L. в качестве экспланта использовались семена. При изучении всхожести семян *F. tadshikorum* в условиях *in vitro* было установлено, что образцы, собранные из двух популяций (FT1 и FT3_K), демонстрировали всхожесть в условиях лаборатории на уровне 55–60 % (рис. 1). Семена *F. moschata* не прорастали даже при применении различных методов стерилизации и стратификации. В связи с этим в последующих экспериментах в качестве эксплантов использовались зиготические эмбрионы.

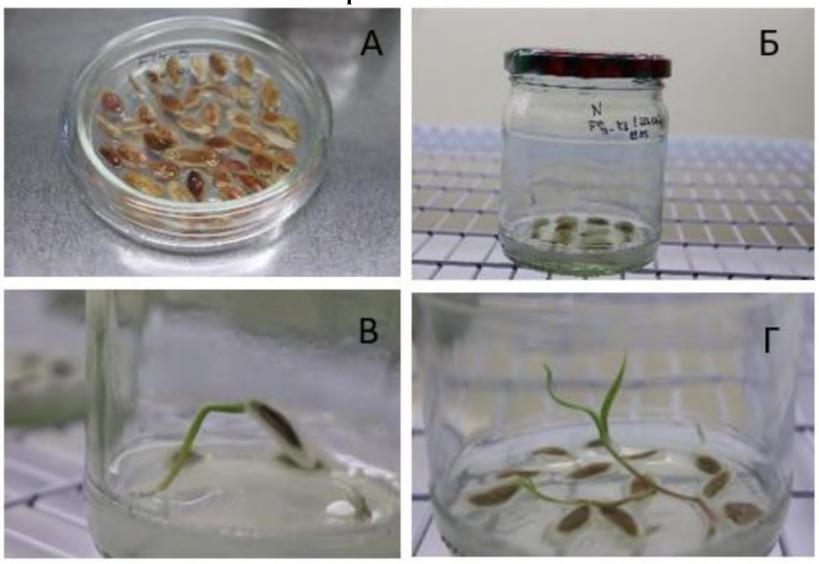



**Рисунок 1.** *Ferula tadshikorum.* Использование в качестве экспланта сегментов проросшего семени (гипокотиль, семядоли, корешок): А. Размещение семян на 25% питательной среде МС (1962) в условиях +5°С в холодильнике сроком 1-4 недели. Б. Размещение семян в банке с 50% питательной средой МС (1962) в культуральной комнате в условиях температурного режима 24±2°С. В. Г. Проросшие семена

Второй раздел третьей главы посвящён изучению процессов каллусогенеза у двух видов *Ferula*, а также оценке влияния различных фитогормонов на данный процесс. У *F. tadshikorum* были выявлены различия не только в индукции каллусообразования, но и в последующих стадиях морфогенеза, что связано с использованием различных типов эксплантов — сегментов проросших семян и зрелых зиготических зародышей.

Каллусогенез наблюдался исключительно на корешке проросшего семени и базальной части гипокотиля; в области семядолей морфогенетической активности не было. В течение 7–10 суток после

введения экспланта в культуру происходило формирование каллусной ткани. Наиболее высокие показатели каллусообразования были достигнуты при использовании комбинаций 2,4-Д (0,5 мг/л) + Кин (0,5 мг/л) и 2,4-Д (0,5 мг/л) + ТДЗ (0,5 мг/л) на питательной среде МС. При этом средние значения каллусогенеза на эксплант составили $3{,}4 \pm 0{,}30$ и $3{,}6 \pm 0{,}26$ для зиготических зародышей; $4{,}1 \pm 0{,}18$ и $3{,}9 \pm 0{,}18$ — для корешков и базальной части гипокотиля соответственно (рис. 2).

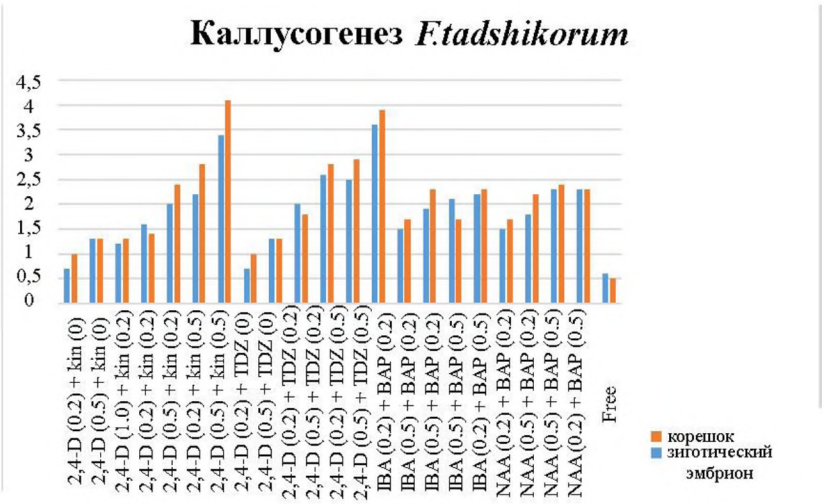



**Рисунок 2.** Сравнение интенсивности каллусообразования на зиготических эмбрионах и на корешках при различных комбинациях фитогормонов

У вида *F. moschata* процесс каллусогенеза наблюдался на зиготических эмбрионах на 8–10-е сутки культивирования, при этом к 12–14-му дню индукция каллусообразования отмечалась у 90 % зрелых зиготических эмбрионов. Применение 2,4-Д в концентрации 0,5 мг/л эффективно стимулировало формирование каллусной ткани. Совместное использование 2,4-Д (0,5 мг/л) и ТДЗ (0,5 мг/л) способствовало увеличению биомассы каллуса (см. табл. 2). Образовавшиеся каллусы имели белую окраску, мягкую консистенцию и, в большинстве случаев, неморфогенный характер. Доля эмбриогенных каллусов на этом этапе составляла лишь 12,5 %. Каллусы, полученные при различных комбинациях фитогормонов, существенно различались по морфологическим признакам. При использовании низких концентраций 2,4-Д (0,2–0,5 мг/л) каллусная ткань приобретала белую, светло-жёлтую или светло-зелёную окраску.

Добавление ТДЗ (0,2–0,5 мг/л) вызывало значительное увеличение массы каллуса и способствовало образованию морфогенных и эмбриогенных структур. ТДЗ проявлял более высокую эффективность в индукции клеточного деления и каллусообразования по сравнению с другими цитокининами. В низких концентрациях он повышал фотосинтетическую активность, что приводило к формированию каллуса светло-зелёной окраски. При совместном применении ТДЗ с Кин в каллусной ткани выявлялись эмбриогенные структуры, однако масса каллуса, образованного при

использовании ТДЗ, значительно превышала таковую при добавлении кинетина (табл.1).

**Таблица 1**

**Влияния некоторых регуляторов роста растений на непрямой соматический эмбриогенез, каллусогенез и количество вторичных соматических эмбрионов *F.moschata***

| Фитогормоны | Средние показатели каллусогенеза на эксплант (зиготические зародыши) | Средные показатели непрямого соматоэмбриогенеза *на каллус* | Средние показатели вторичного соматоэмбриогенеза на каллус |
|---|---|---|---|
| 2,4-Д (0,2) | 1,3±0,15$^{(a)}$ | 0,4±0,16$^{(a)}$ | 1,2±0,16$^{(a)}$ |
| 2,4-Д (0,5) | 3,3±0,55$^{(b)}$ | 1,1±0,18$^{(b)}$ | 1,2±0,16$^{(a)}$ |
| 2,4-Д (1,0) | 1,6±0,16$^{(a)}$ | 0,4±0,16$^{(a)}$ | 0,2±0,16$^{(a)}$ |
| 2,4-Д (0,2)+Кин (0,2) | 2,3±0,21$^{(ab)}$ | 0,8±0,13$^{(a)}$ | 2±0,16 $^{(b)}$ |
| 2,4-Д (0,5)+Кин (0,2) | 2,9±0,37$^{(b)}$ | 1,7±0,26$^{(b)}$ | 2,9±0,16$^{(c)}$ |
| 2,4-Д (0,2)+Кин (0,5) | 2,9±0,23$^{(b)}$ | 1,8±0,20$^{(b)}$ | 2,7±0,21$^{(c)}$ |
| 2,4-Д (0,5)+Кин (0,5) | **5,2±0,35$^{(c)}$** | **4,8±0,32$^{(c)}$** | 2,5±0,34$^{(d)}$ |
| 2,4-Д (0,2) | 2±0,29$^{(ab)}$ | 0,6±0,16$^{(a)}$ | 0,9±0,23$^{(a)}$ |
| 2,4-Д (0,5) | 2±0,25$^{(ab)}$ | 1,6±0,16$^{(b)}$ | 1,9±0,17$^{(b)}$ |
| 2,4-Д (0,2)+ТДЗ (0,2) | 3±0,40$^{(b)}$ | 2,1±0,23$^{(b)}$ | 1,8±0,25$^{(b)}$ |
| 2,4-Д (0,5)+ТДЗ (0,2) | 3,2±0,32$^{(b)}$ | 2,4±0,22$^{(b)}$ | 4,9±0,45$^{(e)}$ |
| 2,4-Д (0,2)+ТДЗ (0,5) | 3±0,21$^{(b)}$ | 2,6±0,22$^{(b)}$ | 2,1±0,27$^{(c)}$ |
| 2,4-Д (0,5)+ТДЗ (0,5) | **5,8±0,38$^{(c)}$** | 3,3±0,26$^{(c)}$ | 4,1±0,31$^{(d)}$ |
| ИМК(0,2)+БАП (0,2) | 2,7±0,33$^{(ab)}$ | 0,7±0,15$^{(a)}$ | 4,5±0,22$^{(e)}$ |
| ИМК(0,5)+БАП (0,2) | 2,8±0,25$^{(ab)}$ | 0,6±0,16$^{(a)}$ | 3,7±0,36$^{(d)}$ |
| ИМК(0,5)+БАП (0,5) | 4±0,33$^{(bc)}$ | 1,2±0,13$^{(b)}$ | 5±0,39$^{(f)}$ |
| ИМК(0,2)+БАП (0,5) | 2,8±0,20$^{(ab)}$ | 0,9±0,18$^{(a)}$ | 2,8±0,25 $^{(c)}$ |
| НУК(0,2)+БАП (0,2) | 3±0,36$^{(b)}$ | 0,2±0,13$^{(a)}$ | 1,9±0,23$^{(b)}$ |
| НУК(0,5)+БАП (0,2) | 3,2±0,25$^{(b)}$ | 0$^{(a)}$ | 1,2±0,13$^{(a)}$ |
| НУК(0,5)+БАП (0,5) | 3,2±0,29$^{(b)}$ | 0$^{(a)}$ | 2,4±0,30 $^{(b)}$ |
| НУК(0,2)+БАП (0,5) | 2,4±0,16$^{(ab)}$ | 0$^{(a)}$ | 1,4±0,22$^{(a)}$ |
| Контрольная группа (без фитогормонов) | 0,7±0,15$^{(a)}$ | 0$^{(a)}$ | **6,2±0,44$^{(g)}$** |

Третий и четвёртый разделы третьей главы посвящены изучению путей морфогенеза у обоих исследуемых видов, включая последовательные стадии от индукции каллусогенеза до формирования растений регенерантов.

**Непрямой органогенез и соматический эмбриогенез у *F.tadshikorum.*** В каллусах, полученных у *F. tadshikorum*, морфогенез реализовывался двумя основными путями: посредством непрямого соматического эмбриогенеза и непрямого органогенеза. При переносе 8-10ти недельного каллусов на различные питательные среды с добавлением различных комбинаций фитогормонов было установлено, что в каллусах, индукция которых происходила с использованием Кин, формировались соматические эмбрионы. В отличие от этого, в каллусах, полученных с добавлением ТДЗ, наблюдалось образование элементов органогенеза - в частности, формирование побегов. Оптимальной для стимуляции органогенного

морфогенеза оказалась комбинация ИМК (0,5 мг/л) и БАП (0,5 мг/л). Повышение БАП выше этой концентрации привело к образованию аномальных проростков.

При выделении сформировавшихся проростков из каллусной ткани и их последующем субкультивировании на безгормональную питательную среду отмечалось их активное развитие. Для укоренения растений, формирующихся посредством непрямого органогенеза, применялись различные комбинации ауксинов. Наиболее эффективными оказались либо низкие концентрации ИМК, добавленные в 50 % питательной среды МС, либо половинная среда МС без фитогормональных добавок (рис. 3).

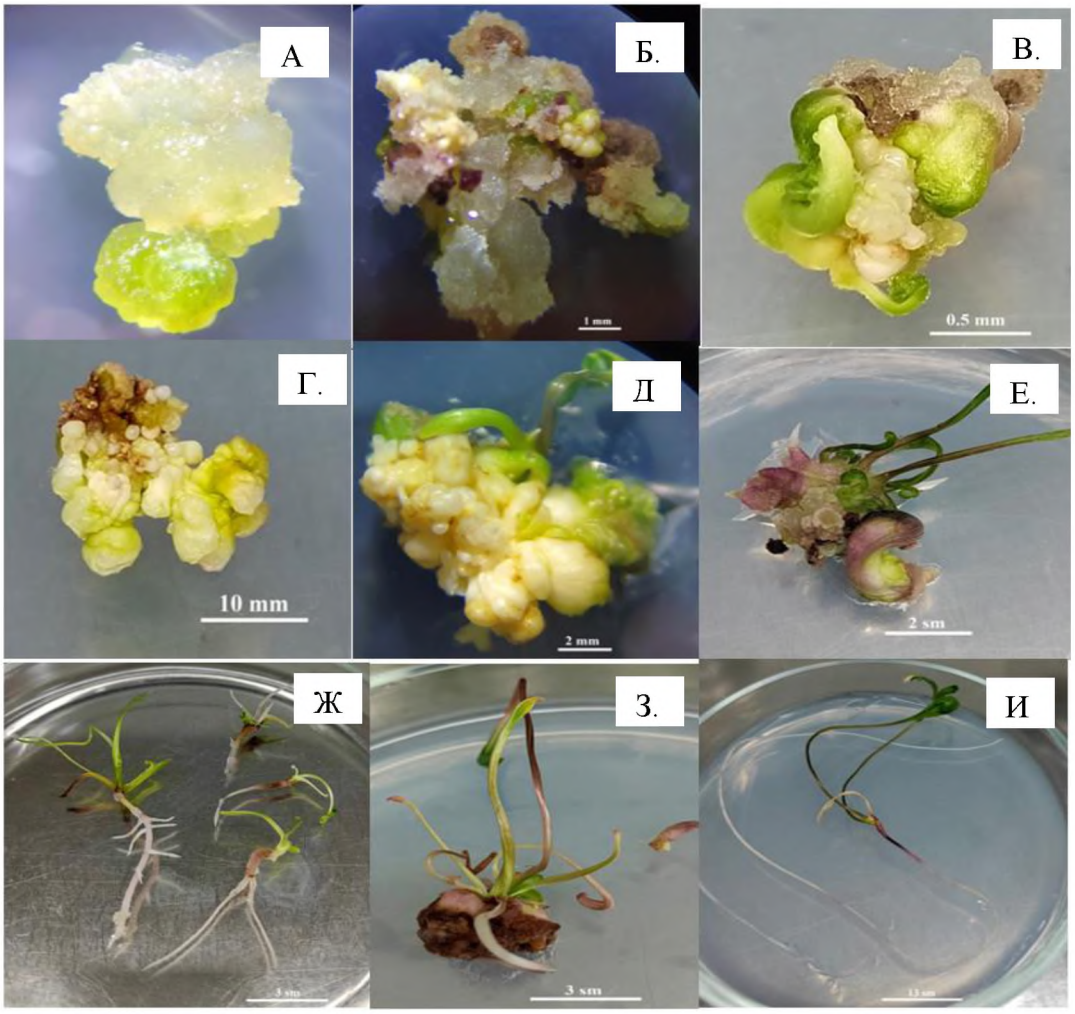



**Рисунок 3.** *F. tadshikorum*: непрямой соматический эмбриогенез и непрямой органогенез. А. Морфогенный каллус. Б. Формирование соматических эмбрионов на каллусе. В. Формирование эмбриогенных структур. Г. Глобулярные соматоэмбрионы на поверхности эмбриогенного каллуса. Д, Е. Появление побегов. Ж. Растения регенеранты, сформировавшиеся из соматических эмбрионов. З. Появление побегов из морфогенных каллусных тканей. И. Растения, регенерированные путем непрямого органогенеза

В ходе исследования установлено, что непрямой соматический эмбриогенез у *F. tadshikorum* начинал проявляться через 3–4 месяца после введения эксплантов — зиготических эмбрионов — в культуру. При

формировании соматических эмбрионов в каллусной ткани, индуцированной с использованием комбинаций фитогормонов, было выявлено, что при переносе на безгормональную питательную среду эмбрионы последовательно проходили стадии развития: от шаровидной к сердцевидной, затем к торпедовидной и, в конечном итоге, к семядольной форме.

Следует отметить, что при длительном культивировании соматических эмбрионов, сформировавшихся из каллусной ткани, на средах, содержащих 2,4-Д, наблюдается их обратная трансформация в каллус. Оптимальным условием для полноценного развития эмбрионов является удаление фитогормонов из питательной среды, что позволяет им последовательно пройти все четыре стадии развития и сформироваться в полноценные растения. Культивирование проводилось при температуре 24± °С, относительной влажности 40 %, фотопериоде 16/8 часов (свет/темнота) и уровне освещённости 1000–1300 лк.

Растения-регенеранты, сформированные двумя различными путями морфогенеза, выявленными у *F. tadshikorum*, различаются по морфологическим характеристикам и продолжительности онтогенетического развития. В регенерантах, полученных путём непрямого органогенеза, наблюдается преимущественное развитие надземной части по сравнению с корневой системой. Частота регенерации в этом случае составила 42 ± 0,19 % проростков на каллус, а полный цикл развития занимал в среднем 7–8 месяцев.

В отличие от этого, непрямой соматический эмбриогенез характеризуется формированием биполярных структур, в результате чего регенерирующие растения обладают как надземной, так и корневой системой. Средняя продолжительность данного процесса составляла 5–6 месяцев, однако полученные растения были морфологически менее развиты по сравнению с теми, что формировались при органогенезе. Частота регенерации в данном случае составляла 20 ± 1,7 % на один каллус.

Растения, образованные в результате органогенеза, в условиях *ex vitro* соответствовали двухлетним ювенильным растениям, достигали 4–5 см в высоту и формировали настоящий зелёный лист. В то время как растения, полученные в результате непрямого соматического эмбриогенеза, соответствовали однолетним проросткам, характеризовались высотой 2–3 см, наличием семядольных листьев.

**Непрямой соматический эмбриогенез и вторичный соматический эмбриогенез у *F. moschata*.**

В ходе проведённых исследований было установлено, что для индукции соматических эмбрионов у данного вида оптимальными являются концентрации 2,4-Д и кинетина по 0,5 мг/л. Частота появления шаровидных эмбрионов на поверхности каллусной ткани составила 51 %, что вдвое превышает аналогичный показатель у F. tadshikorum (20 %). При снижении

концентрации кинетина ниже 0,2 мг/л соматический эмбриогенез не наблюдался.

На первом и третьем субкультивировании каллуса в питательную среду регистрировались различные стадии развития соматических эмбрионов: шаровидная, сердцевидная, торпедовидная и семядольная. На шаровидной стадии (20–23 сутки) эмбрионы имели округлую, слегка приплюснутую форму, плотную структуру и белую окраску; их размеры варьировали в пределах 100–150 мкм. На сердцевидной стадии (25–30 сутки) диаметр увеличивался до 200–300 мкм, структура становилась более плотной, начиналась дифференцировка тканей. На торпедовидной стадии (30–35 сутки) эмбрионы удлинялись до 400–600 мкм, приобретали характерную продолговатую форму, проявляли выраженную биполярность с формированием апикальной и базальной зон, что свидетельствовало об активизации морфогенетических процессов. Таким образом, развитие соматических эмбрионов проходило через последовательные морфологические стадии, каждая из которых характеризовалась специфическими структурными и размерными особенностями. Оптимальная концентрация кинетина (0,5 мг/л) играла ключевую роль в успешной индукции и прогрессировании соматического эмбриогенеза.

После пятого субкультивирования было зафиксировано начало преобразования соматических эмбрионов в регенерирующие растения. На данном этапе проводились эксперименты с различными комбинациями фитогормонов, а также с использованием питательной среды MS, не содержащей регуляторов роста. Установлено, что 42,1 % соматических эмбрионов успешно переходили в стадию полноценного растения-регенеранта.

При переносе эмбриогенных каллусов на среду, содержащую ИМК (0,5 мг/л) и БАП (0,2–0,5 мг/л), наблюдалось формирование растений, однако отмечалось и появление морфологически аномальных экземпляров. Снижение концентрации БАП приводило к замедлению развития регенерантов, тогда как её повышение сопровождалось увеличением доли аномальных растений.

Образование морфологически нормальных регенерирующих растений происходило преимущественно на питательной среде МС без добавления фитогормонов либо на среде с пониженной концентрацией регуляторов роста (0,2–0,5 мг/л), содержащей комбинацию ИМК и БАП.

Следует отметить, что вторичные соматические эмбрионы (ВСЭ) наблюдались в значительном количестве на стадии формирования соматических эмбрионов (рис. 4G, 4H). После переноса этих структур на безгормональную питательную среду отмечалось интенсивное формирование регенерирующих растений (в среднем 6,2 ± 0,44 на каллус), что указывает на высокую регенеративную способность ВСЭ.

Вторичные соматические эмбрионы демонстрировали более быструю способность к превращению в полноценные растения по сравнению с

первичными эмбрионами, что подчёркивает их потенциал в системах *in vitro* микроклонального размножения.

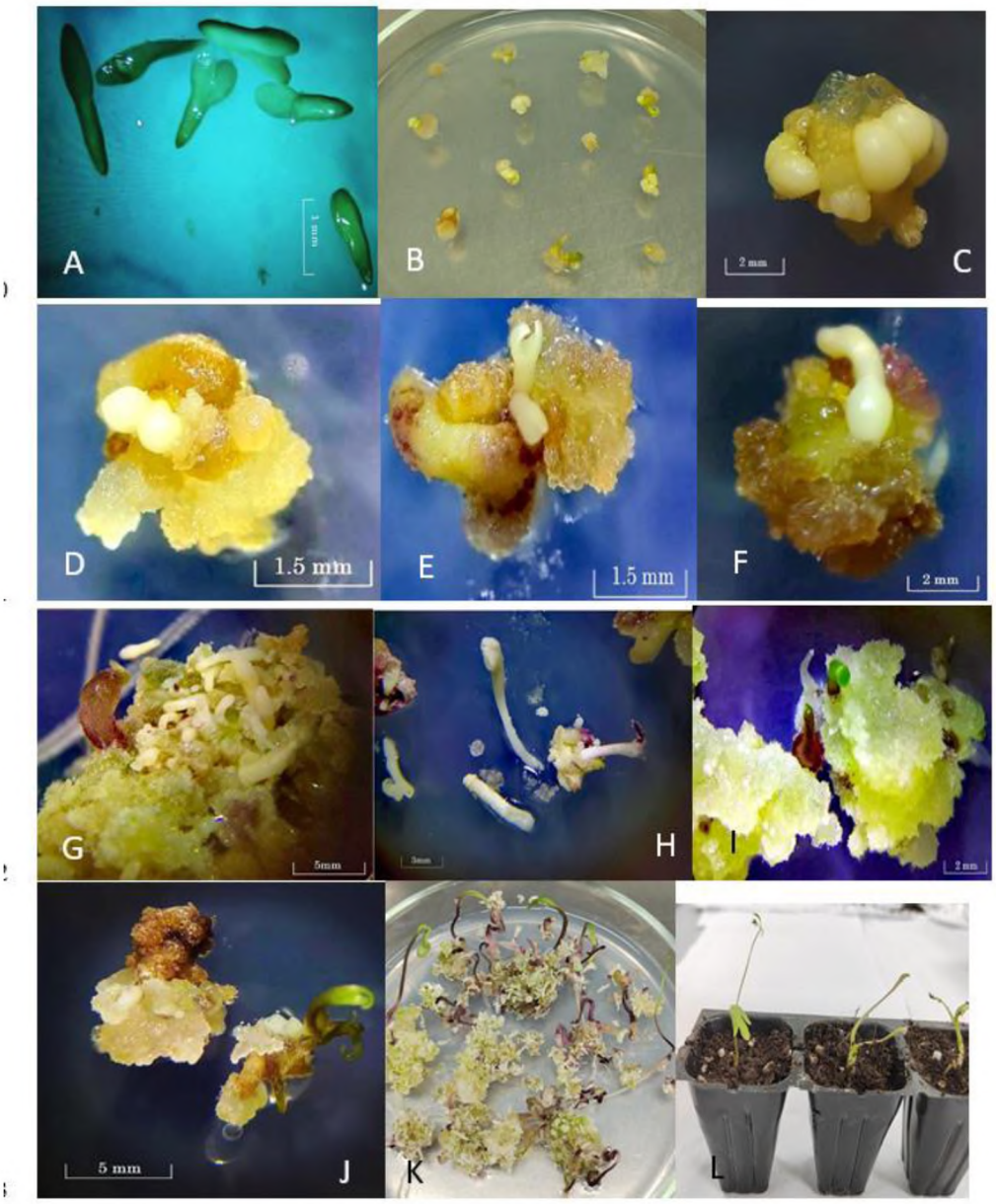



**Рисунок 4.** *Ferula moschata*. Непрямой соматический эмбриогенез. A. Зрелые зиготические эмбрионы (эксплант). B. Индукция каллуса на зиготических эмбрионах. C, D, E, F. Индукция непрямого соматического эмбриогенеза и формирование соматических эмбрионов различной формы. G. Вторичные соматические эмбрионы на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (1962). H. Изолированные одиночные соматические эмбрионы. I, J, K. Растение, регенерированныеиз соматических эмбрионов. L. Адаптация регенерированных растений в условиях *ex situ* в пластиковых стаканчиках, содержащих почву, песок, вермикулит и кокосовые стружки (1:1:1:1)

Адаптация клонально размноженных *in vitro* растений к почвенным условиям (*ex vitro*) является одним из наиболее критичных и трудоёмких этапов микроклонального размножения. В рамках настоящего исследования растения-регенеранты, полученные в пробирках, пересаживались в

различные почвенные субстраты при варьирующих условиях культивирования.

Регенеранты с хорошо развитой корневой системой и листьями предварительно очищались от остатков агара и пересаживались в пластиковые контейнеры, содержащие почвенный субстрат, состоящий из смеси почвы, вермикулита и перлита в соотношении 1:1:1. Первоначально растения содержались при относительной влажности воздуха 70–80 %. Однако в течение 7–10 дней наблюдалась массовая гибель проростков.

С целью повышения выживаемости и успешной адаптации были протестированы различные подходы, включая изменение состава субстрата, режима полива, добавление стерильного песка, а также обработку как субстрата, так и растений различными фунгицидными препаратами. Наиболее эффективным оказался субстрат, включающий почву, песок, вермикулит и кокосовую стружку в равных долях (1:1:1:1). Через 2,5 месяца адаптированные растения были переведены в тепличные условия. После оптимизации условий жизнеспособность регенерантов достигла 60–65 % (рис. 5).

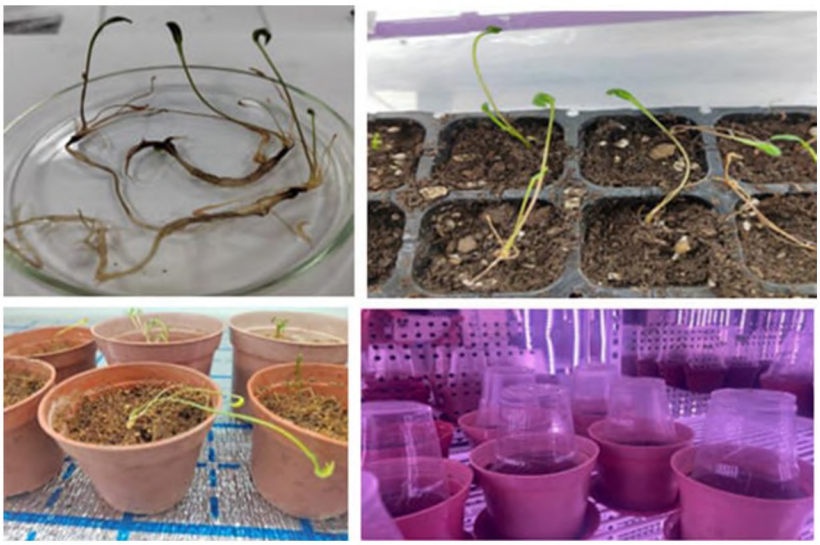


**Рисунок 3.16.** Растения - регенеранты в пластиковых стаканчиках, содержащих почву, песок, вермикулит и кокосовые стружки (1:1:1:1)

Четвертая глава диссертации, озаглавленная **«Изучение содержания БАВ различных линий микроклонов и каллусной ткани в условиях *in vitro*»** посвящена изучению биологически активных веществ в полученных каллусных тканях и регенерантах, сопоставлению их с растительным составом, выращенным в естественной среде, а также определению антиоксидантной активности. Биотехнологическое разведение редких лекарственных видов преследует в основном две цели. Во-первых, непрерывное размножение растений в течение года и их возвращение в естественные популяции, а во-вторых, использование регенерированных растений, размноженных *in vitro*, в качестве источника для удовлетворения растущих фармацевтических потребностей. Именно поэтому количественное

изучение биологически активных веществ в растениях, полученных в условиях *in vitro*, является одним из основных этапов работы.

Результаты исследования показали, что растения, выращенные при низких концентрациях гормонов (ИМК и БАП), характеризуются более высоким содержанием флавоноидов, особенно кемпферола и *p*-кумаровой кислоты, по сравнению с растениями, культивируемыми без фитогормонов. В экстрактах *F. tadshikorum* было выявлено значительное содержание *p*-кумаровой кислоты (29,9 мкг/мл при экстракции этанолом), а в экстрактах *F. moschata* при экстракции метанолом максимальная концентрация *p*-кумаровой кислоты достигала 9,58 мкг/мл, тогда как при экстракции гексаном наибольшее содержание отмечалось для кемпферола (9,59 мкг/мл).

Однако у растений, выращенных в среде без гормонов, концентрация этих соединений была ниже: содержание *p*-кумаровой кислоты составляло 7,706 мкг/мл, а уровень кемпферола оставался аналогичным (рис. 6). При этом гексановый экстракт содержал значительное количество коричной кислоты (4,09 мкг/мл) и кемпферола (9,536 мкг/мл).

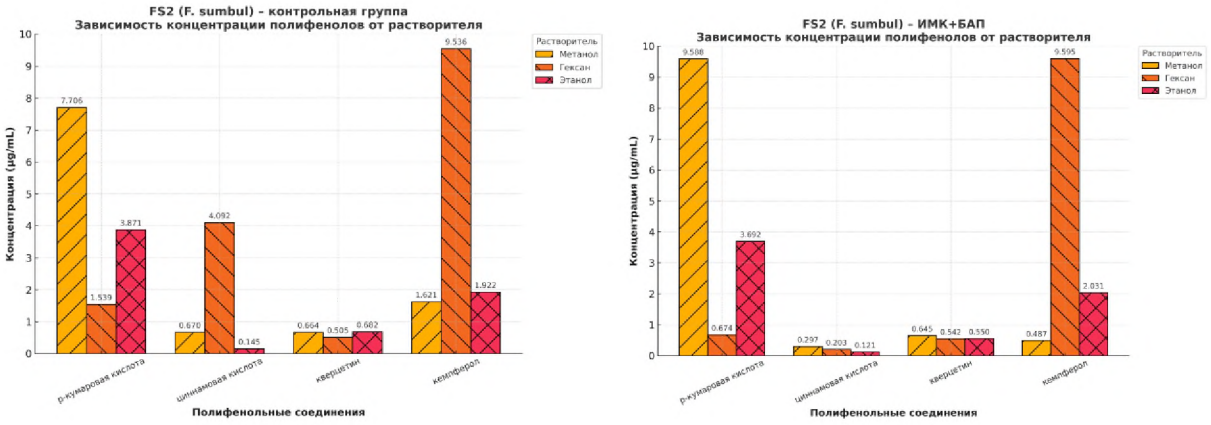



**Рисунок 6.** Количественный анализ четырех стандартов (кверцетин, кемпферол, *p*-кумаровая и коричная кислоты) в регеерированных *in vitro* растениях *F. moschata*, полученных с использование различных растворителей (метанол, гексан и этанол). А. На питательной среде МС без фитогормонов. Б. На питательной среде МС с фитогормонами ИМК (0,5 мг/л) + БАП (0,5 мг/л)

Экстракция в метаноле и этаноле смесей каллуса и регенерирующих растений *F. tadshikorum*, выращенных *in vitro*, показала высокое содержание р-кумаровой кислоты (29,9 мкг/мл) при экстракции этанолом.

Кверцетин и коричная кислота присутствовали в небольших количествах в обоих типах экстрактов, тогда как кемпферол (2,63 мкг/мл) выделялся в значительно больших концентрациях в этанольном экстракте по сравнению с метанольным. В растениях, выращенных в среде без гормонов, концентрация этих соединений была ниже: р-кумаровая кислота – 23,7 мкг/мл, кемпферол – 1,81 мкг/мл (рис. 7).

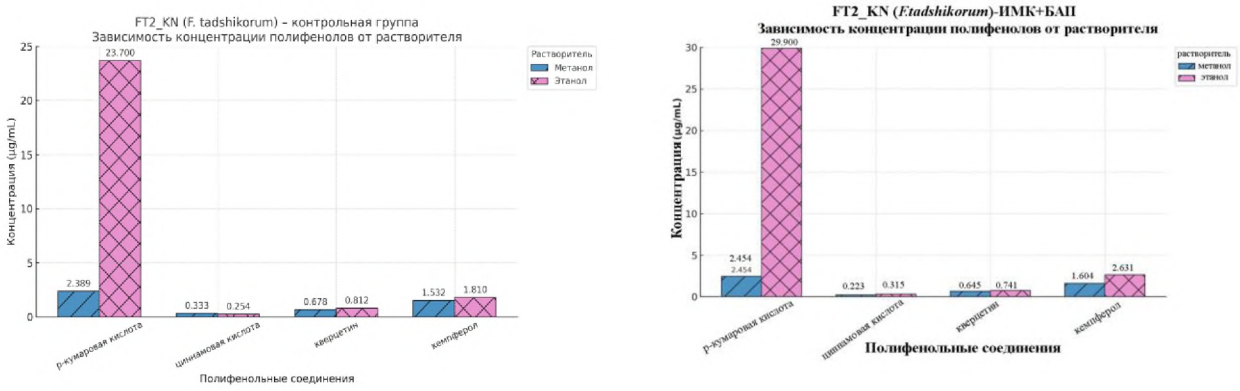



**Рисунок 7.** Количественный анализ четырех стандартов (кверцетин, кемпферол, *p*-кумаровая и коричная кислоты) в регеерированных *in vitro* растениях *F. tadshikorum*, полученных с использование различных растворителей (метанол, гексан и этанол). А. На питательной среде МС без фитогормонов. Б. На питательной среде МС с фитогормонами ИМК (0,5 мг/л) + БАП (0,5 мг/л)

Результаты исследования показали, что антиоксидантная активность *F. tadshikorum* значительно варьируется в зависимости от условий выращивания и типа материала: каллусные культуры продемонстрировали наивысшую антиоксидантную активность (IC50 = 366,92 мкг/мл), проростки показали вторую по силе антиоксидантную активность (IC50 = 339,61 мкг/мл), растительный материал, собранный в Ботаническом саду, оказался лучше природных образцов (IC50 = 322,84 мкг/мл), растительный материал, собранный в природе, имел намного худшие показатели (IC50 = 1115,81 мкг/мл), семена оказались наименее активными в плане антиоксидантной защиты (IC50 = 2401,49 мкг/мл). Эти результаты подчеркивают перспективность каллусных культур и проростков как источников антиоксидантов, тогда как семена и дикие растения показывают значительно более слабую антиоксидантную активность (рис. 8).

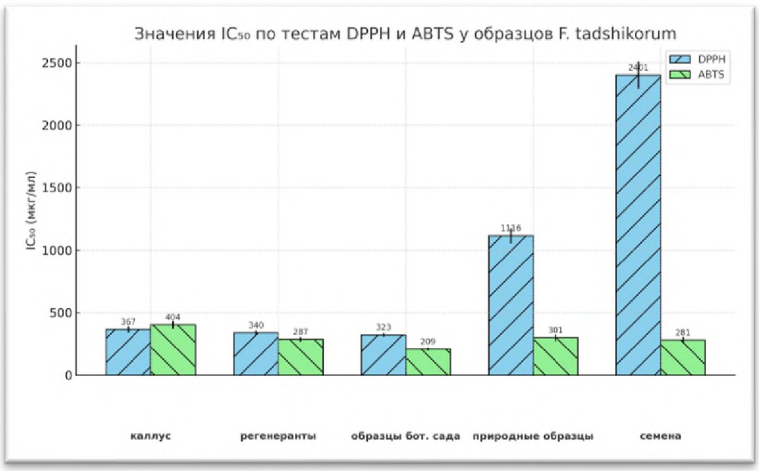



**Рисунок 8.** Средние значения для каждой группы: антиоксидантная активность DPPH (IC50), антиоксидантная активность ABTS (IC50)

Каллусы продемонстрировали широкий диапазон активности, зависящий от фитогормонального состава среды и стадии пассажа. Каллусы с

2.4Д+Кин (4 субкультивирования, коричневый) и БАП обладают антиоксидантной активностью, сопоставимой или даже выше, чем у семян FS1 по DPPH. Однако по ABTS только каллус 4 субкультивирования (17,91 мкг/мл) приближается к FS1. Выход экстракта у каллусов в 2–3 раза выше, чем у семян и проростков (рис.9).

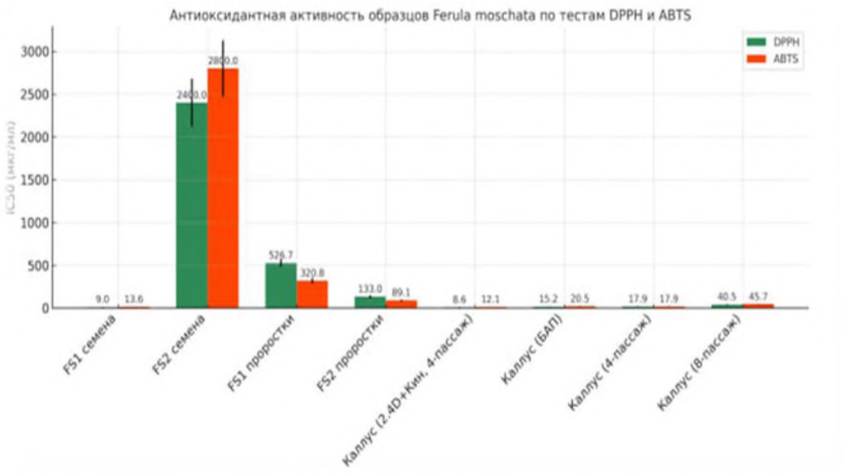



**Рисунок 9.** Средние значения для каждой группы: антиоксидантная активность DPPH (IC50), антиоксидантная активность ABTS (IC50)

Фитогормоны значительно усиливают биосинтез антиоксидантов, особенно на ранних этапах субкультивирования. Максимальная антиоксидантная активность каллусных культур наблюдается после четырёх субкультивирований, тогда как при восьмикратном пересеве она снижается, вероятно, вследствие преобладания пролиферации над биосинтезом вторичных метаболитов. Каллусные культуры являются перспективным объектом биотехнологических исследований благодаря высокой экстрактивной способности — выход экстракта превышает таковой у семян и проростков в 3–4 раза.

## ВЫВОДЫ:

1. Установлено, что всхожесть семян *Ferula tadshikorum* для всех исследованных популяций составляет 55–60 %; при этом морфогенез *in vitro* достигнут при использовании эксплантов из семян популяций Куккардансай в Сурхандарьинской области. Для *Ferula moschata* подтверждена крайне низкая всхожесть семян в условиях *in vitro*, что не позволяет использовать проростки данного вида в качестве эксплантов для биотехнологического размножения.

2. Для *Ferula tadshikorum* и *Ferula moschata* оптимальная индукция каллуса достигалась на среде Мурасиге и Скуга (1962) с добавлением 2,4-Д и кинетина; тидиазурон способствовал активной пролиферации. У *F. tadshikorum* каллус формировался на базальной части гипокотиля и зиготических эмбрионах, причем последние проявили наибольший

морфогенетический потенциал. У *F. moschata* каллусообразование наблюдалось исключительно на зиготических эмбрионах, что подтверждает их значение как оптимальных эксплантов.

3. Установлена возможность микроклонального размножения *Ferula tadshikorum* из зиготических эмбрионов посредством непрямого органогенеза на питательной среде Мурасиге и Скуга (1962), при котором регенерация завершается в течение 7–8 месяцев с частотой 42 ± 0,19 % проростков на каллус. Также выявлена способность данного вида к непрямому соматическому эмбриогенезу, при котором регенерация завершается в течение 5–6 месяцев при частоте 20 ± 1,7 % проростков на каллус. Установлено, что эффективность регенерации при непрямом соматическом эмбриогенезе ниже по сравнению с непрямым органогенезом

4. Установлено, что у *Ferula moschata in vitro* морфогенез происходит через непрямой соматический эмбриогенез на питательной среде Мурасиге и Скуга (1962), при котором регенерация завершается в течение 5–6 месяцев при частоте 62±0,44 на каллус. Характерной особенностью вида является способность формировать вторичные соматические эмбрионы на безгормональной среде, быстро развивающиеся в проростки, с подтверждённой высокой регенерационной способностью.

5. Адаптация растений-регенерантов *Ferula tadshikorum* и *Ferula moschata* к почвенным условиям осуществляется поэтапно путём пересадки на сбалансированный субстрат почва: песок: вермикулит: кокосовая стружка в соотношении 1:1:1:1. Выживаемость регенерантов обоих видов в условиях *ex vitro* достигает 60–65 %.

6. В ходе химического анализа каллусных культур и регенерирующих растений, полученных *in vitro*, установлено, что уровень флавоноидов у обоих видов был выше в регенерантах, выращенных при низких концентрациях фитогормонов, по сравнению с растениями из природных условий. Выявлено, что различные растворители обеспечивают различную эффективность экстракции отдельных флавоноидов, что необходимо учитывать при выборе условий получения биологически активных соединений.

7. Антиоксидантная активность каллусных культур *F. tadshikorum* и *F.moschata*, полученных *in vitro*, показала высокую эффективность. Наивысшие значения активности в тестах DPPH и ABTS зафиксированы у образцов из семян популяций *F. tadshikorum* (Гиссарские горы, пос. Юкори Мачай) и *F. moschata* (Туркестанский хребет, Кашка-Сув). Это подтверждает потенциал использования каллусных культур как альтернативного источника биологически активных веществ.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSC.02/30.12.2019.B.39.01 ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREES AT THE INSTITUTE BOTANY**

**INSTITUTE OF BOTANY**

**JAMALOVA DILAFRUZ NE'MATILLA QIZI**

# BIOLOGY OF *FERULA TADSHIKORUM* PIMENOV AND *FERULA MOSCHATA* (H.REINSCH) KOSO-POL. *IN VITRO* CONDITIONS

**03.00.05 – Botany**

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

**Tashkent – 2025**

**The title of the doctoral dissertation (DSc) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2022.2.PhD/B720.**

The dissertation has been carried out at the Institute of Botany.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) on the webpage of the Scientific Council (www.botany.uz) and on the website of "ZiyoNET" Information-educational portal (www.ziyonet.uz).

| | |
|---|---|
| **Scientific supervisor:** | **Mustafina Feruza Usmanovna**<br>Doctor of Philosophy on Biology, senior researcher |
| **Official opponents:** | **Ubaydullaeva Xurshida Abdullaevna**<br>Doctor of Biological Sciences, senior researcher<br>**Adilov Bekhzod Abdullaevich**<br>Doctor of Biological Sciences, senior researcher |
| **Leading organization:** | **Jizzakh State Pedagogical University** |

The defense of the dissertation will take place on August 8, 2025 at $14^{00}$ during the meeting of Scientific Council DSc 02/30.12.2019.B.39.01 for the awarding of scientific degrees at the Institute of Botany (Address: 32 Durmon yuli str., Tashkent, 100125, Uzbekistan. Conference hall of the Institute of Botany. Tel.: (99871) 262-37-95; Fax: (+99871) 262-79-38; E-mail: botany@academy.uz).

The dissertation has been registered at the Informational Resource Centre of the Institute of Botany under № 72 (Address: 32 Durmon yuli str., Tashkent, 100125, Uzbekistan. Tel.: (+99871 262-37-95).

The abstract of the dissertation has been distributed on 24 July 2025.
Protocol at the register № 11 dated 24 July 2025.

**K.Sh. Tojibaev**
Chairman of the Scientific Council on awarding of scientific degrees, Doctor of Biological Sciences, academician

**A.V. Maxmudov**
Scientific Secretary of the Scientific Council for awarding of scientific degrees, Doctor of Philosophy on biology, senior researcher

**H.F. Shomurodov**
Chairman of the Scientific Seminar under Scientific Council for awarding the scientific degrees, Doctor of Biological Sciences, professor

## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim:** The development of an effective system of microclonal propagation of two rare species — *Ferula tadshikorum* and *Ferula moschata*, the study of morphogenetic processes *in vitro*, as well as the determination of the content of biologically active substances in tissue cultures.

**The object of the research:** the objects of the study are two medicinal and red book species of the genus *Ferula* L.: *Ferula tadshikorum* Pimenov, *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol.

**The scientific novelty of the research is following:**

The morphogenetic potential of explants used for the introduction of research objects into *in vitro* culture has been determined.

The influence of hormonal, trophic, and physical factors on clonal micropropagation was studied.

For the first time, *in vitro* culture protocols have been developed and experimentally validated for *F. tadshikorum* and *F. moschata* species, including sterilization steps, selection of optimal explants, and cultivation conditions.

For the first time, the selection and comparative analysis of clonal lines based on the content of biologically active substances (BAS) was carried out, which made it possible to identify promising lines for further cultivation and *in vitro* research.

**Implementation of research results**. Based on the scientific results obtained as a result of the study "Biology of *Ferula tadshikorum* Pimenov and *Ferula moschata* (H.Reinsch) Koso-Pol. *in vitro* conditions":

The results obtained on clonal micro-reproduction of plants *in vitro* have been implemented in the activities of the Tashkent Botanical Garden (Certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan № 4/1255-2470 dated November 6, 2024). This made it possible to obtain plant seedlings by clonal micropropagation in vitro;

The database, based on 130 herbarium specimens of the *Ferula* species (*F. tadshikorum, F.moschata*), has been integrated into the Global Biodiversity Information Facility (www.gbif.org, GBIF) (Certificate of the Global Biodiversity Information Facility www.gbif.org, dated May 13, 2025). As a result, information on the locations of *F. tadshikorum, F.moschata* in Uzbekistan has become available on an international scale.

**The volume and structure of the dissertation.** The dissertation consists of an introduction, four chapters, conclusions, a list of references and appendices. The volume of the dissertation is 116 pages.

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

### I bo'lim (I часть; I part)

1. Mustafina Feruza Usmanovna, Jamalova Dilafruz Ne'matilla qizi, Kurbaniyazova Gulsauir Tanirbergen qizi, Abdinazarov Sodikjon Xoliknazarovich, Tojibayev Komiljon Sharobitdinovich. *Ferula tadshikorum* Pimenov (Apiaceae Lindl) turining mikroklonal ko'paytirish usuli. I AP20240015/4-son

2. Jamalova Dilafruz Ne'matilla qizi, Kurbaniyazova Gulsauir Tanirbergen qizi, Mustafina Feruza Usmanovna, Abdinazarov Sodikjon Xoliknazarovich, Tojibayev Komiljon Sharobitdinovich. *Ferula moschata* (Reinsch) Koso-Pol (Apiaceae Lindl) turining mikroklonal ko'paytirish usuli. IAP 20230724/3-son

3. Dilafruz N. Jamalova, Haidy A. Gad, Davlat Kh. Akramov, Komiljon Sh. Tojibaev, Mohamed Ghounim, Ahmed K. Kammoun, Mohamed Ashour, Nilufar Z. Mamadalieva. Discrimination of the essential oils obtained from four Apiaceae species using multivariate analysis based on chemical composition and biological activity // *Plants*. 2021.10(8)-1529. Q1

4. Д.Н. Жамалова, Ф. У. Мустафина, Г. Т. Курбаниязова, Д. Э. Турдиев. Роль экзогенных фитогормонов как ключевого фактора морфогенеза некоторых видов рода *Ferula* L. (Apiaceae Lindl.) в условиях *in vitro* // Биотехнология, 2022, том 38, № 4, с. 46–55. Q4

5. Mustafina F.U., Jamalova D.N., Zare A.R., Kurbaniyazova G.T., Juraeva H.K., Hazratov A.T., Kim Hoe Jin, Na Chae Sun, Lee Min Sung, Oh Yu Jin, Tojibaev K.Sh., Abdinazarov S.Kh. Optimized microclonal propagation protocol and antioxidant activity of callus cultures from the endangered Ferula tadshikorum Pimenov (Apiaceae Lindl.) //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2025. – T. 161. – №. 2. – C. 1-17. Q1

6. Жамалова Дилафруз Неъматилла кизи, Курбаниязова Гулсауир Танирберген кизи, Мустафина Феруза Усмановна. Использование регуляторов роста при клональном размножении видов рода *Ferula* L. и *Ungernia* Bunge в условиях in vitro. «Известия Национальной Академии наук Кыргызской Республики» (*РИНЦ*). №5, 2021. 43-47 стр.

7. Jamalova D. N., Kurbaniyazova G. T., Mustafina F. U. Development of an effective method of somatic embryogenesis for obtaining biologically active substances from an endangered medicinal plant (F. sumbul (Kauffm.) Hook. f.) //Eurasian Journal of Applied Biotechnology. – 2024. – №. 3S.

8. Jamalova D.N., Kurbaniyazova G.T, Juraeva X.K., Mustafina F.U. *Ferula* L. turkumi turlarini *in vitro* ko'paytirishda morfogenezning turli yo'llarini qiyosiy solishtirish. Namangan davlat universitet axborotnomasi –Namangan, 2024. № 4. 170-174 b. (03.00.00; № 17).

9. Jamalova D.N., Mustafina F.U., Development of an efficient *in vitro* callus proliferation protokol for endangered medicinal plant (*Ferula tadshikorum*

Pimenov). // QarDU xabarlari. – Qarshi, 2023. – № 4/1. – B. 90-93. (03.00.00; №11).

10. Д.Н. Жамалова, Ф. У. Мустафина Период покоя семян видов рода *Ferula* L. и метод его преодоления //*Universum*, 6(96), 2022, стр. 60-63. (02.00.00; №2)

**II bo‘lim (II часть; II part)**

11. Д. Н. Жамалова, Ф. У. Мустафина. Теоретические аспекты микроклонального размножения видов рода *Ferula* L. с целью их сохранения и устойчивого использования. Материалы IV Международной научно-практической конференции, приуроченной к 100-летию кафедры ботаники БГУ «Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты», Минск, 2021. 73-77 с.

12. Жамалова Д.Н., Мустафина Ф.У. *In vitro* шароитида иккиламчи метаболитлар синтезини оптималлаштириш. Международная конференция «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии» Ташкент, 2021. 278-280 с.

13. Д.Н. Жамалова, Ф. У. Мустафина, Вторичные метаболиты и полезные свойствы видов рода *Ferula* L. в Узбекистане. Природа, человек и экология сб. тез. докл. IX Респ. науч.-практ. конф. молодых ученых, Брест, 2022. С. 47-48.

14. Жамалова Дилафруз Неъматилла кизи, Курбаниязова Гулсауир Танирберген кизи, Влияние различных режимов стратификации на прорастаемость семян редкого растения *F. tadshikorum* Pimenov в культуре *in vitro.* 1st international conference: Conservation of Eurasian biodiversity: contemporary problems, solutions and perspectives. Andijan, 2023. – 224 p.

15. Jamalova D.N., F.Mustafina. Propagation of *Ferula sumbul* by biotechnological method. Materials of IV Conference for Young Scientists «Plant biology and biotechnology» Kiev, 2024. 33-34 pp.

16. Jamalova D.N., Sharipov A.E. Mustafina F.U. *Ferula* L. turkumi dorivor turlarining *in vitro* sharoitidagi morfogenezi “Biologiyaning dolzarb muammolari: fan, ta’lim va ishlab chiqarish integratsiyasi” / Respublika ilmiy-amaliy konferensiya materiallari. - Jizzax, 2024.- 498 - bet.

17. Jamalova D.N. *Ferula* species: biochemical characteristics, pharmaceutical applications, and suggestions for biotechnologists // International Scientific and Practical Conference On “Genetics, Breeding and Experimental Biology of Plants” Tashkent, May 14-15, 2024

Avtoreferat « O‘zbekiston biologiya jurnali » jurnali tahririyatida tahrirdan o‘tkazilib, o‘zbek, rus va ingliz tillaridagi matnlar o‘zaro muvofiqlashtirildi.

**Bosmaxona litsenziyasi:**

**9338**

Bichimi: 84x60 $^{1}/_{16}$. «Times New Roman» garniturasi.
Raqamli bosma usulda bosildi.
Shartli bosma tabog‘i: 3. Adadi 100 dona. Buyurtma № 34/25.

Guvohnoma № 851684.
«Tipograff» MCHJ bosmaxonasida chop etilgan.
Bosmaxona manzili: 100011, Toshkent sh., Beruniy ko‘chasi, 83-uy.