

**БУХОРО ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.03/30.12.2019.В.72.02
РАҚАМЛИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ГУЛИСТОН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

ЭРГАШЕВА ФАРОҒАТ ШЕРАЛИЕВНА

**МАҲАЛЛИЙ АНОР (*Punica granatum* L.) НАВЛАРИНИНГ
ФИЗИОЛОГИК–БИОКИМЁВИЙ, ФАРМАКОЛОГИК
ХУСУСИЯТЛАРИ ВА МИКРОКЛОНЛАШ ИСТИҚБОЛЛАРИ**

**03.00.07-Ўсимликлар физиологияси ва биокимёси
03.00.08-Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

УДК: 581.1; 581.192; 557.153.3

**Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси
автореферати мундарижаси**

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

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

Эргашева Фароғат Шералиевна

Маҳаллий анор (*Punica granatum* L.) навларининг физиологик-биокимёвий, фармакологик
хусусиятлари ва микроклонлаш истиқболлари.....3

Эргашева Фароғат Шералиевна

Физиолого-биохимические, фармакологические свойства местных сортов граната (*Punica
granatum* L.) и перспективы их микроклонирования21

Ergasheva Farogat Sheralievna

Physiological-biochemical, pharmacological properties of local varieties of pomegranate (*Punica
granatum* L.) and their perspectives of microclonating.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....44

**БУХОРО ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.03/30.12.2019.В.72.02
РАҚАМЛИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ГУЛИСТОН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

ЭРГАШЕВА ФАРОҒАТ ШЕРАЛИЕВНА

**МАҲАЛЛИЙ АНОР (*Punica granatum* L.) НАВЛАРИНИНГ
ФИЗИОЛОГИК-БИОКИМЁВИЙ, ФАРМАКОЛОГИК
ХУСУСИЯТЛАРИ ВА МИКРОКЛОНЛАШ ИСТИҚБОЛЛАРИ**

**03.00.07-Ўсимликлар физиологияси ва биокимёси
03.00.08-Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Бухоро – 2020

Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.3.PhD/B368 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация иши Гулистон давлат университетида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида (www.buzdu.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбарлар:	Қўшиев Ҳабибжон Ҳожибобоевич биология фанлари доктори, профессор
	Хушматов Шуқор Саъдуллаевич биология фанлари доктори
Расмий оппонентлар:	Матчанов Азат Таубалдиевич биология фанлари доктори, профессор
	Курбанбаев Илхам Джуманазарович биология фанлари доктори
Етакчи ташкилот:	Тошкент давлат аграр университети

Диссертация химояси Бухоро давлат университети ҳузуридаги PhD.03/30.12.2019.B.72.02 рақамли Илмий кенгашнинг 2020 йил «12» июнь соат 10⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтди. (Манзил: 200117, Бухоро шаҳри, М.Иқбол кўчаси, 11-уй. Тел.: (+99865) 212-29-12; факс: (+99865) 212-29-12; e-mail: bsu_info@edu.uz).

Диссертация билан Бухоро давлат университетининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (3 рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 200117, Бухоро шаҳри, М.Иқбол кўчаси, 11-уй. Тел.: (+99865) 212-29-12; факс: (+99865) 212-29-12.

Диссертация автореферати 2020 йил «29» май кун тарқатилди.
(2020 йил «29» май даги № 3 рақамли реестр баённомаси).



[Handwritten signature]

Холлиев Аскар Эргашевич
Илмий даража берувчи бир марталик
илмий кенгаш раиси, биология фанлари доктори, доцент

[Handwritten signature]

Рашидов Негмурод Элмуродович
Илмий даража берувчи бир марталик
илмий кенгаш илмий котиби, биология фанлари номзоди, доцент

[Handwritten signature]

Бақоев Савриддин Бақоевич
Илмий даража берувчи бир марталик илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, биология фанлари доктори, профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бугунги кунда жаҳонда сони ўсиб бораётган аҳолининг озиқ-овқатга бўлган эҳтиёжини қондириш долзарб масала сифатида эътироф этилади. Бу ўринда кишлоқ хўжалиги ўсимлик маҳсулотларини етиштиришда экин майдонларидан самарали фойдаланиш муҳим стратегик аҳамиятга эга. Экин майдонлари тупроқларининг шўрланиши ва деграляцияси туфайли шароитга мос иқтисодий-ижтимоий аҳамиятга эга бўлган ўсимликларни танлаш, етиштириш фан ва ишлаб чиқариш олдига долзарб масалалардан бирidir. Шу сабабли, анор навларини *in vitro* шароитида микроклонал кўпайтириш, патогенсиз кўчатларини олиш ҳамда уларнинг меваси, пўстлоғидан олинган экстрактлардан фармакологияда дори воситаларини ишлаб чиқиш муҳим аҳамиятга эга.

Дунёнинг кўпгина йирик тадқиқот марказларида бугунги кунда кишлоқ хўжалиги ўсимликлари ҳосилдорлигини ошириш билан боғлиқ ҳолда анор етиштиришга алоҳида эътибор берилмоқда. Озиқ-овқат саноатида кўп миқдорда иккиламчи чиқинди сифатида ҳосил бўлган анор пўстидан экстракт шаклида келгусида антиоксидант, спазмолитик фармакологик препаратлар ишлаб чиқариш учун назарий ва амалий фойдаланиш тавсия этилмоқда. Анорнинг экологик иқлим шароитларига мос навларини танлаш, мевасидан озиқ-овқат саноатида, пўстлоғидаги физиологик фаол моддалар, макро- ва микроэлементларидан фармакологияда кенг фойдаланилмоқда. Шунга кўра, маҳаллий анор навларини *in vitro* шароитида микроклонал кўпайтириш натижасида уларнинг меваси, пўстидан олинадиган ҳамда иқтисодий томондан самарали бўлган дори воситаларини яратиш долзарблиги жиҳатидан муҳим аҳамиятга эга ҳисобланади.

Республикамызда бугунги кунда ўсимликлардан экологик тоза маҳсулотларни олишда илмий инновацион ютуқларни амалиётга жорий этишда алоҳида эътибор берилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «Илмий-тадқиқот ва инновация фаолиятини рағбатлантириш, илмий инновация ютуқларини амалиётга жорий этишнинг самарали механизмларини яратиш» бўйича алоҳида вазифалар белгиланган бўлиб, унинг 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари ҳамда тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш»¹ юзасидан ҳам муҳим вазифалар белгиланган. Бу борада маҳаллий анор навларини кўпайтириш ва улардан ажратиб олинган биологик фаол моддаларнинг фармакологик таъсир механизмларини аниқлаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони

Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони ҳамда 2019 йил 14 мартдаги ПҚ-4239-рақамли «Мева-сабзавотчилик соҳасида қишлоқ хўжалиги кооперациясини ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорининг Қишлоқ хўжалигини модернизация қилиш ва жадал ривожлантириш бўйича 3.3-бандида белгиланган вазифалар ва мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг асосий устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳитни муҳофаза қилиш» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Дунё миқёсида анорнинг (*Punica granatum* L.) биотехнологик услублар ёрдамида турли иқлим-шароит ва зоналарида навларини яратиш, жумладан, *in vitro* шаротида патогенсиз кўчатларини олиш йўналишида Murkute ва бошқ. (2004), Singh ва Khawale (2006), Chaugule ва бошқ. (2007), Samir ва бошқ. (2009), Singh ва бошқ. (2001) илмий-тадқиқот олиб боришган.

МДХ мамлакатларида анор *Punica granatum* L. (*Punicaceae*) навларини интродукциялаш ва илдиз тизимини тупроқ шароитларига боғлиқ ўзгарувчанлиги йўналишида маълумотлар Шарипов (2015), Мустафаева (1992), Раджабова ва Горбунова (1997), Гутиев (1998), Мамедов (2007), Ўрта Осиё шароитида анорнинг вегетация даври, ривожланиш фазаларида айрим физиологик кўрсаткичларининг ўзгариш динамикаси тўғрисидаги маълумотлар эса Бобоевнинг (2014), озиқ-овқат ва хўжалик аҳамияти тўғрисидаги маълумотлар Омаров (2000), Кобляков (1998), Абдулкадиров (2008), Загиров (2008) ишларида келиб чиқиши ва био-экологик хусусиятлари Мамедов (2007), Загиров, Аммайгаджиев, Казбеков (2004) тадқиқотларида ўз аксини топган.

Ўзбекистонда олиб борилган тадқиқотлар асосида айрим маҳаллий анор навлари мевасининг экстракти таркибида полифеноллар (танинлар, галл кислота, пуникалин, пуникалагин, кверцетин) миқдори ўрганилган (Mavlyanov et al., 1997), Эшматов (2018) эса анор шарбати таркибини ўрганиш асосида унинг истеъмолбоплик хусусиятини оширишни таклиф қилган. Бироқ, республикада миқёсида маҳаллий иқлим, тупроқ шароитларига чидамли анор навларини яратиш йўналишида деярли илмий-тадқиқотлар амалга оширилмаган ва бу ҳолат ушбу йўналишда назарий-амалий тадқиқотларни амалга оширишнинг долзарблигини белгилаб беради.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Гулистон давлат университетининг илмий-тадқиқот ишлари режаси бўйича С-А-2018-004 «Анор (*Punica granatum* L.)нинг биотехнологик коллекциясини яратиш ва патогенсиз кўчатларини олиш

технологиясини йўлга қўйиш» (2018-2020 йй.) мавзусидаги илмий лойиҳаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади айрим маҳаллий анор (*Punica granatum* L.) навларининг физиологик-биокимёвий, фармакологик хусусиятлари ва микроклонлаш истиқболларини тавсифлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

маҳаллий «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор (*Punica granatum* L.) навларини биотехнологик (*in vitro*) кўпайтиришда оптимал шароитини ишлаб чиқиш ҳамда озуқа муҳитидаги фитогормонларнинг максимал стимуляцион концентрациясининг оптимал нисбатларини аниқлаш;

анор навларини *in vitro* шароитида микроклонлаш ва ризогенез/органогенез жараёнлари интенсивлигида озуқа муҳити таркибининг оптимал комбинациясини аниқлаш;

in vitro шароитида ўсган анор кўчатларини тупроққа кўчириб ўтказишда транспирация жараёни ва фотосинтетик пигментлар микдорининг ўзгаришида адаптация динамикасини таҳлил қилиш;

анорнинг Сирдарё вилоятида етиштириладиган маҳаллий навларининг ўсиш-ривожланиш босқичлари, меваси, пўстининг физиологик-биокимёвий хусусиятлари ҳамда таркибини таҳлил қилиш;

танлаб олинган маҳаллий анор навлари меваси ва пўстидан ажратиб олинган экстрактни *in vitro* шароитида фармакологик фаоллигини таҳлил қилиш;

маҳаллий анор навларининг ҳозирги ҳолати, микроклонлаш услуби ёрдамида кўпайтириш ва анор хомаёшсидан фармакологияда фойдаланиш истиқболларини таҳлил қилиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида Сирдарё вилояти ҳудудида экиладиган «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» маҳаллий навлари, етук оқ каламушлар, денгиз чўчқаси, митохондрия, ингичка ичак силлиқ мускул препарати, анор меваси ва пўсти экстрактлари танланган.

Тадқиқотнинг предмети айрим маҳаллий анор (*Punica granatum* L.) навларининг физиологик-биокимёвий, фармакологик хусусиятлари ва микроклонлаш истиқболлари ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотларда микроклонлаш, стериллаш, транспирация, хромотография, спектрофотометрия, экстракция усуллари ҳамда механография, дифференциал центрифугалаш, фотометрия ва биокимёвий усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилigi куйидагилардан иборат:

илк бор Сирдарё вилоятида экиладиган маҳаллий «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навларини биотехнологик (*in vitro*) кўпайтиришда оптимал шароити ишлаб чиқилган ҳамда озуқа муҳити таркибида фитогормонларнинг максимал стимуляцион концентрацияси ва оптимал нисбатлари аниқланган;

танлаб олинган маҳаллий анор навларини микроклонлашда озуқа муҳити таркибининг оптимал шароитлари аниқланган;

in vitro шароитида микроклонлаш услуги ёрдамида олинган ва тупроққа кўчириб ўтказилган анор кўчатларида транспирация жараёни ҳамда фотосинтетик пигментлар миқдори ўзгаришига кўра адаптация динамикаси аниқланган;

маҳаллий анор «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» навлари меваси ва пўстининг биокимёвий таркиби аниқланган;

танлаб олинган маҳаллий анор навлари меваси, пўстидан ажратиб олинган экстракти *in vitro* шароитида антиоксидант ва спазмолитик фаоллиги аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

маҳаллий анор навларини *in vitro* шароитида микроклонлаш усулида олинган кўчатларини тупроққа кўчириб ўтказишда транспирация жараёни ва фотосинтетик пигментлар миқдори ўзгариши аниқланган;

анор навларини микроклонлаш, меваси ва пўсти экстрактидан фармакологияда фойдаланиш истиқболлари бўйича амалий тавсиялар ишлаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги уларнинг замонавий стандарт биокимёвий, физиологик тажриба усулларини қўллаш орқали олинган натижалар назарий маълумотларга мос келиши билан тасдиқланади. Олинган натижаларнинг исботи уларнинг республика ва ҳалқаро анжуманлардаги муҳокамаси, натижаларнинг рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади. Натижаларни қайта ишлашда ишонччилик интервал қийматлари (Стьюдент критерияси) ҳисобга олинган ҳамда маълумотлар OriginPro 7.5 компьютер дастури асосида статистик таҳлил қилинган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.

Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти анор меваси ва пўстининг биокимёвий таркиби, анор экстрактининг *in vitro* шароитида фармакологик (антиоксидант, спазмолитик) фаоллиги ва микроклонлашда озуқа муҳити таркибининг оптимал комбинацияларини танлаш орқали назарий билимларни кенгайтириш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти республикамиздаги Мирзачўл воҳаси, Сирдарё вилоятининг тупроқ-иқлим шароитларига мос чидамли маҳаллий анор навларини микроклонлаш услугида кўпайтириш, транспирация, фотосинтетик пигментлар динамикасини таҳлил қилиш ва анордан фармакологияда фойдаланиш истиқболлари бўйича амалий тавсиялар ишлаб чиқишга хизмат қилиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Айрим маҳаллий анор (*Punica granatum* L.) навларининг физиологик-биокимёвий, фармакологик хусусиятлари ва микроклонлаш истиқболларини тавсифлаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

in vitro шароитида этиштирилган анор навларининг патогенсиз кўчатларидан плантациялар ташкил қилиш ҳамда анор шарбати таркибини таҳлил қилиш бўйича аниқланган витаминлар, макро- ва микроэлементлар миқдори ишлаб чиқарилаётган табиий анор шарбати қадоқланаётган идишларда қайд этиш асосида «Деҳқонобод Асл Анори» ишлаб чиқариш кооперативида амалиётга жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Иқтисодиёт ва саноат вазирлигининг 2019 йил 12 декабрдаги 6-3-1/20-3275-сон маълумотномаси). Натижада ички ва ташқи бозорда кооператив томонидан ишлаб чиқарилаётган табиий анор шарбати маҳсулотига бўлган талабини орттириш имконини берган;

анор барглари эксплантасининг *in vitro* шароитида културада каллус ҳосил қилиши, ризогенез-органогенез жараёнлари интенсификацияси, озуқа муҳитининг таркиби, биологик стимуляторларнинг типи ва комбинацияларига боғлиқлиги ИК-2011-1/1 рақамли «Глицерам таблеткаларини олиниш технологияси, тажриба партиясини ишлаб чиқаришни ташкил этиш» илмий лойиҳасида ширинмия ўсимлиги илдизини куюқ экстрактидан техник глициррин кислотаси 80% ли глициррин кислотаси моноаммонийли тузини етарли миқдорда олиш ва глицерам субстанцияси тозаланиши юқори самарали суюқлик хроматографияси усули билан назорат қилишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2019 йил 24 декабрдаги 4/1255-3329-сон маълумотномаси). Натижада «Глицерам» субстанцияси вақтинчалик фармакопия мақоласи яратиш учун асосий технологик параметрларини аниқлаш имконини берган;

маҳаллий анор навларини *in vitro* шароитида биотехнологик услуб ёрдамида кўпайтиришнинг оптимал технологиясини ишлаб чиқиш асосида ИК-2011-1/1 рақамли «Глицерам таблеткаларининг олиниш технологияси ва тажриба партиясини ишлаб чиқаришни ташкил этиш» илмий лойиҳасида «Глицерам» субстанциясининг чинлиги, эрувчанлиги ва сақланиш муддатини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2019 йил 24 декабрдаги 4/1255-3329-сон маълумотномаси). Натижада «Глицерам» таблеткалари таркибини ишлаб чиқиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 5 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 12 та илмий мақола чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан, 3 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, якуний қисм, хулосалар ва фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 110 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги, зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади, вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги, тадқиқотнинг илмий янгилиги, амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий-амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ҳамда диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

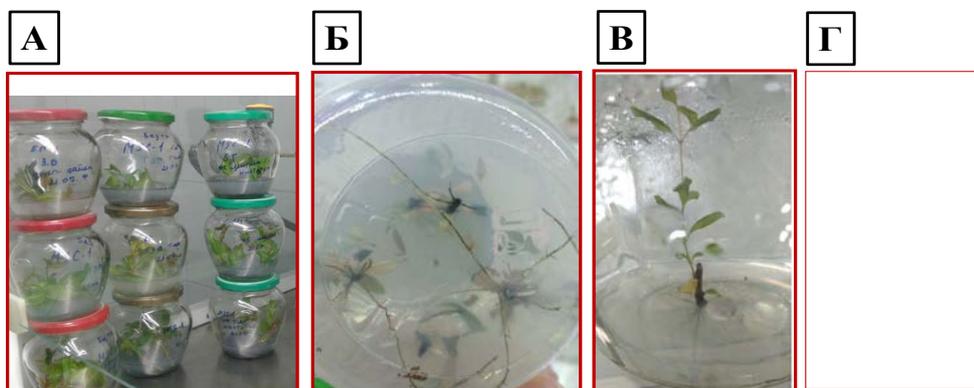
Диссертациянинг «**Анорнинг (*Punica granatum L.*) морфо-физиологик ва фармакологик хусусиятлари**» деб номланган биринчи бобида анорнинг ботаник тавсифи, қисқача маданийлаштириш тарихи, меваси, пўсти ва уруғининг биокимёвий таркиби тўғрисида маълумотлар таҳлил қилинган. Шунингдек, анорнинг умумий фармакологик тавсифи, меваси ва пўсти экстрактининг спазмолитик фаоллиги ҳамда жигар митохондрия мембранасига таъсири ҳақида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Анорни (*Punica granatum L.*) *in vitro* шароитида микроклонлаш ва морфо-физиологик, фармакологик хусусиятларини ўрганиш услублари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқот шароити, объекти, анорни *in vitro* шароитида микроклонлаш асосида кўпайтириш услуби, *in vitro* да ўстирилган анор кўчатларини тупроққа кўчириб ўтказишда адаптация жараёни динамикасини ўрганиш услублари, жумладан, транспирация жараёни динамикасини, фотосинтетик пигментлар миқдорининг ўзгариш динамикасини ўрганиш услублари, шунингдек, анор меваси, пўстининг биокимёвий таркибини таҳлил қилиш услуби, анор меваси ва пўсти экстрактининг *in vitro* шароитида тажриба ҳайвонларида митохондрия функционал кўрсаткичларига таъсири асосида антиоксидант ҳамда ичак силлиқ мускулига спазмолитик таъсирини ўрганиш, олинган натижаларни математик-статистик қайта ишлаш услублари келтирилган.

Диссертациянинг «**Анорни (*Punica granatum L.*) *in vitro* шароитида микроклонлаш асосида кўпайтириш**» деб номланган учинчи бобида *Punica granatum L.* ни *in vitro* усулда микроклонлаш, бошланғич ўсимлик эксплантасини стериллаш ва кўпайтириш шароитларини оптималлаштириш натижалари келтирилган.

Анорни *in vitro* шароитида микроклонлаш услубида кўпайтириш жараёни босқичларининг (калус тўқима ҳосил бўлиши ва пролиферацияси; ўсимталар ҳосил бўлиши, илдиз ҳосил бўлиши) интенсивлиги экспланта типи, эксплантани стериллаш услуби, озуқа муҳити таркибида фойдаланиладиган фитогормонлар комбинациялари каби омилларга боғлиқ ҳисобланади. Тажрибаларда барг қўлтиғи куртаклари ва барг бўлакчаларидан бошланғич экспланта сифатида фойдаланилган вариантда Мурасиге-Скуга (МС) озуқа муҳити таркибида ВАР (5 мг/л)+NAA (0,4 мг/л) комбинация калус тўқима ҳосил бўлиши учун оптимал кўрсаткичлар аниқланди. Шунингдек, новда учида жойлашган куртаклар ва барг бўлакчаларидан фойдаланилганда МС озуқа муҳити таркибида ВАР (3-4 мг/л)+NAA (0,4 мг/л)

комбинацияда каллус тўқима ҳосил бўлиш интенсивлиги юқори бўлиши аниқланди. Тажрибаларда каллус тўқима пролиферацияси МС озуқа муҳити таркибида ВАР (1 мг/л)+NAA (1 мг/л) комбинацияда оптимал даражада амалга ошириши аниқланди. Тадқиқотларимизда эса ВАР (2 мг/л)+NAA (0,1 мг/л)+GA₃ (0,5 мг/л) комбинация вариантыда юқори натижа кузатилди (1-расм).



1-расм. Анор (*Punica granatum* L) ни *in vitro* шароитида микроклонлаш услубида кўпайтириш жараёнининг босқичлари. А). МС озуқа муҳитига анор новдачаларининг экилган ҳолати; Б) *In vitro* муҳитида илдизнинг ҳосил бўлиши; В). МС озуқа муҳитида новданинг ўсиши; Г). Новданинг умумий кўриниши.

Регенерация интенсивлиги ўсимликнинг генотиби (анор навлари) билан биргаликда, озуқа муҳитининг типи, таркибида фойдаланилган стимуляторлар ва комбинацияларига боғлиқлиги аниқланди. Кворин-Лепорье озуқа муҳити таркибида 6-БАП (1-2 мг/л)+ГК (0,5-1 мг/л)+НСК (0,2 мг/л) комбинацияси эксплантада регенерация жараёни етарли даражада оптимал амалга ошириши аниқланди (1-жадвал).

1-жадвал

Кворин-Лепорье озуқа муҳити таркибида 6-БАП (1-2 мг/л)+ГК (0,5-1 мг/л)+НСК (0,2 мг/л) комбинациясидан фойдаланилган шароитда ўсиш-ривожланиш интенсивлиги кўрсаткичлари ($M \pm m$)

Т/р (№)	Анор навлари	Бошланғич эксплантанинг тип					
		Барг		Новда		Илдиз	
		Ҳосил бўлган ўсимталар сони (дона)	Ҳосил бўлган илдиз сони (дона)	Ҳосил бўлган ўсимталар сони (дона)	Ҳосил бўлган илдиз сони (дона)	Ҳосил бўлган ўсимталар сони (дона)	Ҳосил бўлган илдиз сони (дона)
1	«Қора қайим»	23,8±2,4	14,5±1,6	15,5±1,5	10,5±1,2	13,8±0,4	11,8±1,3
2	«Қизил анор»	32,3±1,2	10,6±1,7	17,3±1,3	10,6±0,7	24,5±0,8	12,7±0,5
3	«Оқ дона (Туятиш)»	18,6±1,6	9,5±0,9	11,2±1,4	7,4±0,6	15,6±1,4	8,6±0,7
4	«Аччиқ дона»	37,4±2,3	14,3±2,2	17,4±1,3	12,1±1,7	25,4±0,6	10,3±2,2

Изоҳ: барча ҳолатда $p < 0,05$ ($n=4-5$).

Тажрибаларда ИМК (0,1-50 мг/л) анор навлари экспланталарининг ризогенез ва органогенез жараёнлари интенсивлигига сезиларли даражада

стимуляцион таъсир кўрсатмаслиги аниқланди. Анор барглари эксплантасининг *in vitro* шароитида культурада каллус ҳосил қилиши, ризогенез ва органогенез жараёнлари интенсивлиги озуқа муҳити таркибининг, биологик стимуляторлар типи ҳамда комбинацияларига боғлиқлиги аниқланди.

Диссертациянинг «*In vitro* шароитида ўстирилган анор кўчатларининг ўсиш ва ривожланиш босқичларидаги физиологик жараёнлар» деб номланган тўртинчи бобида *in vitro* шароитида ўстирилган анор кўчатларини тупроққа кўчириб ўтказишда транспирация жараёни ва фотосинтетик пигментлар миқдорининг ўзгариш динамикаси бўйича олинган натижалар келтирилган.

In vitro шароитида ўстирилган анор кўчатларини тупроққа кўчириб ўтказишда транспирация жараёни динамикаси. «Қора қайим» ва «Қизил анор» навларининг барг таркибидаги қуруқ модда миқдорининг улуши назоратга нисбатан мос равишда 29,2% ва 26,7% ишончли камайиши аниқланди. «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навларининг *in vitro* шароитида ўстирилган кўчат баргларидаги қуруқ модда миқдорининг улуши назоратга нисбатан мос равишда 8,96 ва 18,5% га ишончсиз камайганлиги аниқланди (2-жадвал).

2-жадвал

Танлаб олинган анор навлари барглари таркибидаги қуруқ модда миқдорининг солиштирма таҳлили

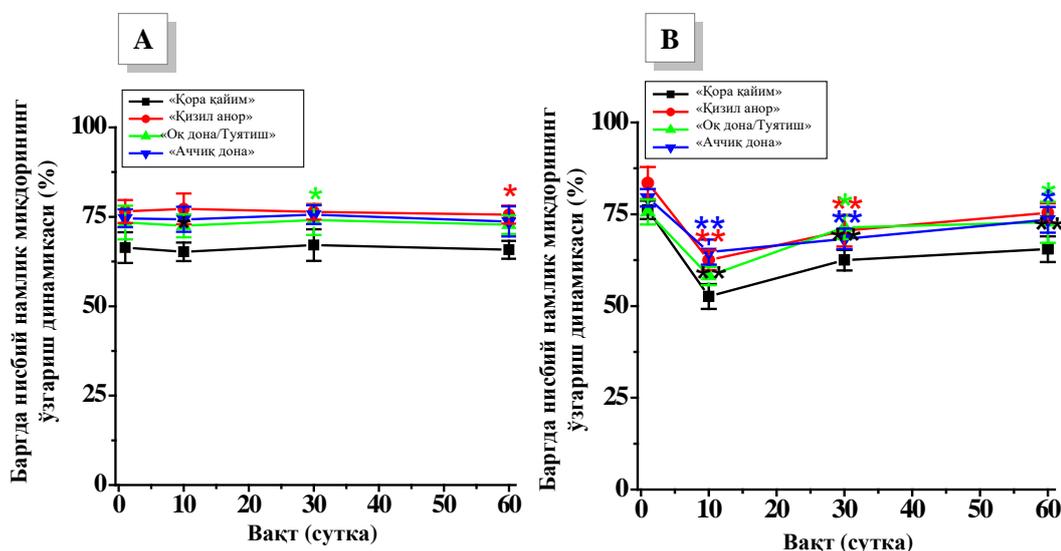
Т/р (№)	Анор навлари	Барг таркибидаги қуруқ модда миқдорининг улуши (%)	
		Назорат	<i>In vitro</i> шароитида ўстирилган
1	«Қора қайим»	33,6±3,5	23,8±3,6**
2	«Қизил анор»	22,5±2,4	16,5±2,2**
3	«Оқ дона (Туятиш)»	26,8±3,3	24,4±2,8*
4	«Аччиқ дона»	25,4±2,7	20,7±2,5**

Изоҳ: * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$).

Олинган натижалардан кўриш мумкинки, *in vitro* шароитида ўстирилган кўчат баргларида умумий қуруқ модда миқдори назоратга нисбатан стастик ишонарли даражада паст бўлади. Бу ҳолат *in vitro* шароитида ўстирилган анор кўчатлари баргларида қуруқ модданинг назоратга нисбатан паст бўлиши табиий тупроққа экилган дастлабки даврда илдиз орқали озуқа моддаларнинг ўзлаштирилиш интенсивлиги мослашиш механизми билан боғлиқ бўлади.

Тадқиқотларнинг навбатдаги босқичида танлаб олинган маҳаллий анор навларида *in vitro* шароитида ўстирилган кўчатлар баргида назоратга нисбатан сув миқдорининг вақт интервали диапозонида ўзгариш динамикаси таҳлил қилинди. Назорат гуруҳида танланган анор навлари баргида 1-60 сутка давомида сув миқдорида сезиларли даражада ўзгариш қайд қилинмади (2А-расм.). *In vitro* шароитида ўстирилган кўчатлар баргларида сув миқдори дастлабки суткаларда кескин камайиши ва «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» навларида бу кўрсаткич

қиймати 10 суткада мос равишда $76,2 \pm 2,5\%$ дан $52,6 \pm 3,4\%$ га; $83,5 \pm 4,4\%$ дан $62,5 \pm 2,7\%$ га; $75,6 \pm 3,4\%$ дан $58,2 \pm 2,5\%$ га ва $79,5 \pm 2,4\%$ дан $64,7 \pm 3,4\%$ га камайиши аниқланди. Навбатдаги 30-60 суткаларда баргдаги сув миқдори назоратга яқинлашиши ва танланган анор навларида бу кўрсаткич қиймати 10 суткада мос равишда $65,5 \pm 3,5$; $75,4 \pm 2,6$; $72,8 \pm 5,6$ ва $73,5 \pm 3,5\%$ га ортиши аниқланди (2Б-расм).



2-расм. «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» маҳаллий анор навлари кўчат баргларидаги (назорат А) ва *in vitro* шароитида ўстирилган кўчатлар баргларида (Б) сув миқдорининг вақт интервали диапазонида ўзгариш динамикаси (* – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n=3-4$).

In vitro шароитида ўстирилган анор кўчатларини тупроққа кўчириб ўтказишда фотосинтетик пигментлар миқдорининг ўзгариш динамикаси. Тажрибамизда «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари баргидаги хлорофилл *a* ва *b*, умумий хлорофилл *a* ва *b* хлорофиллнинг нисбатлари таҳлил қилинди. Олинган натижаларга кўра, «Қора қайим» ва «Қизил анор» навларидаги хлорофилл *a* нинг миқдори назоратда $0,86 \pm 0,02$ ва $0,74 \pm 0,03$ мг/г ва хлорофилл *b* миқдори эса $0,83 \pm 0,01$ ва $0,72 \pm 0,01$ мг/г ни ташкил этиши аниқланди. *In vitro* шароитида тажриба сифатида олинган «Қора қайим» ва «Қизил анор» навларидаги хлорофилл *a* ва *b* нинг миқдори назоратга нисбатан камайиб, мос равишда (хлорофилл *a* учун) $0,54 \pm 0,02$ ва $0,47 \pm 0,01$ мг/г ва (хлорофилл *b* учун) $0,43 \pm 0,02$ ва $0,34 \pm 0,03$ мг/г ни ташкил этиши аниқланди (3-жадвал). «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари баргидаги хлорофилл *a* ва *b* нинг миқдори назоратга мос равишда, умумий хлорофилл *a* $0,74 \pm 0,02$ ва $0,87 \pm 0,03$ мг/г ни ҳамда хлорофилл *b* нинг миқдори $0,69 \pm 0,03$ ва $0,75 \pm 0,01$ мг/г ни ташкил этганлиги аниқланди. *In vitro* шароитида тажриба сифатида олинган «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари баргидаги хлорофилл *a* ва *b* нинг миқдори назорат кўрсаткичларига нисбатан бироз камайиб, хлорофилл *a* $0,63 \pm 0,02$ ва $0,75 \pm 0,03$ мг/г ни ва хлорофилл *b* эса $0,55 \pm 0,03$ ва $0,41 \pm 0,02$ мг/г ни ташкил этганлиги аниқланди (3-жадвал).

3-жадвал

«Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччик дона» анор навлари баргида хлорофилл *a* ва *b* концентрацияси ($M \pm m$)

Тажриба вариантлари (Анор навлари)		Хлорофилл <i>a</i> (мг/г)	Хлорофилл <i>b</i> (мг/г)	Умумий хлорофиллар (хл. <i>a</i> +хл. <i>b</i>) (мг/г)	$\frac{Хл.a}{Хл.b}$
Назорат	«Қора қайим»	0,86±0,02	0,74±0,03	1,6±0,04	1,16±0,05
	«Қизил анор»	0,83±0,01	0,72±0,01	1,55±0,06	1,15±0,04
	«Оқ дона (Туятиш)»	0,74±0,02	0,69±0,03	1,43±0,05	1,07±0,05
	«Аччик дона»	0,87±0,03	0,75±0,01	1,56±0,04	1,16±0,04
Тажриба	«Қора қайим»	0,54±0,02**	0,43±0,02**	0,97±0,02	1,26±0,02
	«Қизил анор»	0,47±0,01*	0,34±0,03**	0,81±0,02	1,38±0,03
	«Оқ дона (Туятиш)»	0,63±0,02*	0,55±0,03*	1,18±0,02	1,15±0,02
	«Аччик дона»	0,75±0,03*	0,41±0,02**	1,16±0,03	1,83±0,02

Изоҳ: * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$).

Бунда «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччик дона» анор навлари баргида (назорат гуруҳи) хлорофилл *a* ва *b* умумий хлорофиллар (*a+b*) миқдори мос равишда, 1,6±0,04; 1,55±0,06; 1,43±0,05 ва 1,56±0,04 мг/г ни ташкил этиши қайд қилинди.

Диссертациянинг «**Айрим маҳаллий анор (*Punica granatum* L) навларининг биокимёвий, фармакологик хусусиятлари**» деб номланган бешинчи бобида анор меваси ва пўстининг этанолли экстрактини тайёрлаш, витаминлар миқдори, шунингдек, анор меваси ва пўсти экстрактининг *in vitro* тажриба ҳайвонларида митохондрия функционал кўрсаткичларига ҳамда ичак силлиқ мускуллари қисқаришига таъсири келтирилган.

Анор меваси ва пўстининг этанолли экстрактини тайёрлаш. Дастлаб таҳлил қилинган анор навларининг пўсти ва меваси ажратилди ҳамда стерил шароитда механик услубда майдаланди. Майдаланган намуналар оғирлиги (5-10 г) тарозида («CAS_CUW220Н»; Хитой; аниқлик даражаси 0,01 г) аниқланиб, колбага ($V=300$ мл) солинди, устига 50 мл миқдорда этанол эритмаси (70% ли) қуйилди. Колба магнитли тебратгичда 60 мин. +110°C ҳарорат шароитида сақланди. Навбатдаги босқичда аралашма 25 мл этанол эритмасида (70%) 2 марта экстракция қилинди. Фильтрат 100 мл этанолда (40% ли) эритилди сўнг 7000 айланиш минут тезликда 10 мин. давомида центрифугаланди. Чўкма олиб ташланди ва ҳосил бўлган эритма анор экстракти сифатида навбатдаги кимёвий таҳлил жараёнида фойдаланилди.

Биз танлаб олган анор навлари меваси ва пўсти таркибидаги витаминлар миқдорини таҳлил қилганимизда қуйидаги натижалар олинди. Масалан, А витамини энг кўп «Қора қайим» меваси таркибида (0,164 мг/100 мл) бўлиши ва энг кам миқдорда «Қизил анор» меваси (0,04 мг/100 мл) пўстидан тайёрланган экстракт таркибида мавжудлиги аниқланди. В₁ витамини «Қизил анор» меваси экстракти таркибида (0,084 мг/100 мл), энг кам миқдорда эса

унинг пўстида (0,032 мг/100 мл) бўлиши аниқланди. Энг кўп В₂ витамини «Қора қайим»да, В₅ «Қизил анор» мевасида, В₆ «Қора қайим» мевасида, С витамини «Аччиқ дона» мевасида, Е витамини «Қизил анор» мевасида экстракти таркибида кўп эканлиги аниқланди. Анор меваси ва пўстидан тайёрланган экстракт таркибида энг кам учрайдиган В₂ витамини «Оқ дона (Туятиш)» пўстида (0,024 мг/100 мл), В₅ витамини «Аччиқ дона» меваси пўстида (0,23 мг/100 мл), В₆ витамини «Аччиқ дона» пўсти таркибида (0,025 мг/100 мл), С витамини «Оқ дона (Туятиш)» пўстида (4,805 мг/100 мл) ва Е витамини эса «Қизил анор» пўсти экстракти (0,014 мг/100 мл) таркибида бўлиши аниқланди. Демак, танлаб олинган анор навларининг меваси таркибидаги А, В гуруҳи, С ва Е витаминлари уларнинг пўстидаги экстрактга нисбатан миқдор жиҳатдан юқори бўлиши аниқланди.

Олинган натижаларга кўра, анор навлари меваси ва пўсти таркибидаги макроэлементлардан К элементи энг кўп миқдори «Аччиқ дона» меваси экстракти таркибида (26,46 мг/100 мл), энг кам миқдори эса «Қизил анор» пўстлоғи экстракти таркибида (0,43 мг/100 мл), Са элементи «Қизил анор» меваси экстракти таркибида энг кўп (11,34 мг/100 мл) ва унинг пўстлоғида энг кам миқдорда (0,35 мг/100 мл) бўлиши аниқланди (4-жадвал). Mg элементи «Аччиқ дона» меваси экстракти таркибида энг кўп (13,25 мг/100 мл), энг кам миқдорда эса «Қора қайим» пўстлоғи экстракти таркибида (0,11 мг/100 мл), Na элементи энг кўп «Аччиқ дона» меваси экстракти таркибида (6,67 мг/100 мл), энг кам миқдори эса «Қора қайим» пўстлоғи экстракти таркибида (0,34 мг/100 мл) ва P элементи энг кўп «Аччиқ дона» меваси экстракти таркибида (36,35 мг/100 мл) ҳамда энг кам миқдори «Оқ дона (Туятиш)» пўстлоғи экстракти таркибида (0,28 мг/100 мл) макроэлементлар бўлиши аниқланди (4-жадвал).

4-жадвал

Анор навлари меваси ва пўсти таркибидаги макроэлементлар миқдори (мг/100 мл)

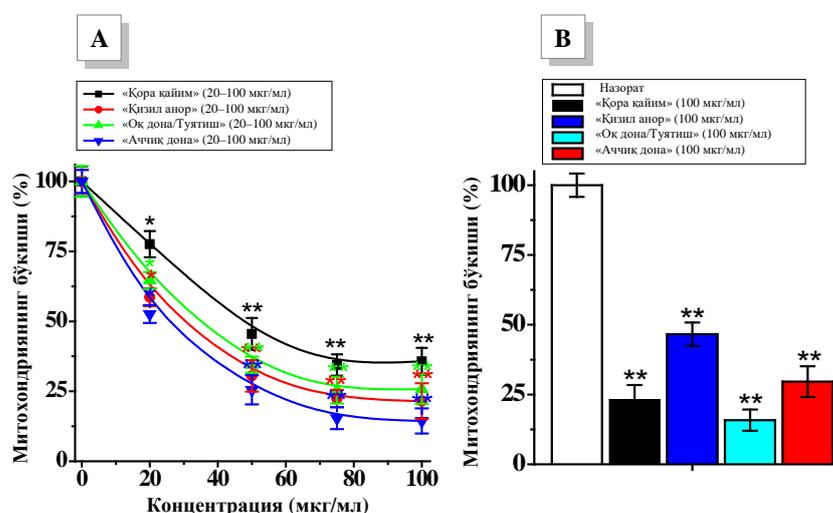
№	Анор навлари		Макроэлементлар				
			К	Са	Mg	Na	P
1	«Қора қайим»	Пўстлоғи	0,78	0,44	0,11	0,34	0,34
		Меваси	226,13	8,46	12,18	3,24	32,30
2	«Қизил анор»	Пўстлоғи	0,43	0,35	0,19	0,56	0,43
		Меваси	198,64	11,34	11,38	5,98	29,32
3	«Оқ дона (Туятиш)»	Пўстлоғи	0,54	0,52	0,78	0,82	0,28
		Меваси	213,54	9,13	11,23	4,26	35,27
4	«Аччиқ дона»	Пўстлоғи	0,67	0,67	0,23	0,45	0,45
		Меваси	265,46	10,28	13,25	6,67	36,35

Изоҳ: барча ҳолатда $p < 0,05$ ($n=4-5$).

Шунингдек, анор меваси ва пўстидан тайёрланган 70% этанолли экстракт таркибида микроэлементлардан Fe, Mn, Zn, Cu ва Se мавжудлиги аниқланди.

Анор меваси ва пўсти экстрактининг митохондрия мембранаси ўтказувчанлигига таъсири. Сирдарё вилояти ҳудудида экиладиган айрим

маҳаллий анор навлари меваси ва пўсти экстрактининг *in vitro* шароитида каламуш жигаридан ажратиб олинган митохондрияда *mPTP* функционал фаоллигига таъсири ўрганилди. Инкубация муҳитида Ca^{2+} ионларини мавжуд шароитда *mPTP* ўтказувчанлик даражаси ортиши ҳисобига митохондрия суспензиясининг бўқиши амалга ошади. Бунда Ca^{2+} ионлари (50 мкМ) таъсирида бўқиш даражаси назорат гуруҳи сифатида белгиланди (100%) (3А, Б-расм). Ушбу шароитда танлаб олинган анор меваси ва пўсти экстрактлари концентрацияга боғлиқ (20-100 мкг/мл) *mPTP* ўтказувчанлик даражасини сусайтириши аниқланди. Жумладан, «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)», «Аччиқ дона» анор навларининг меваси экстрактлари 100 мкг/мл концентрацияда Ca^{2+} (50 мкМ) таъсирида митохондрия бўқиш қийматини назоратга нисбатан мос равишда $64,3 \pm 4,8$; $78,5 \pm 6,4$; $74,2 \pm 5,3$ ва $85,6 \pm 4,5\%$ га камайтириши аниқланди (3А-расм).

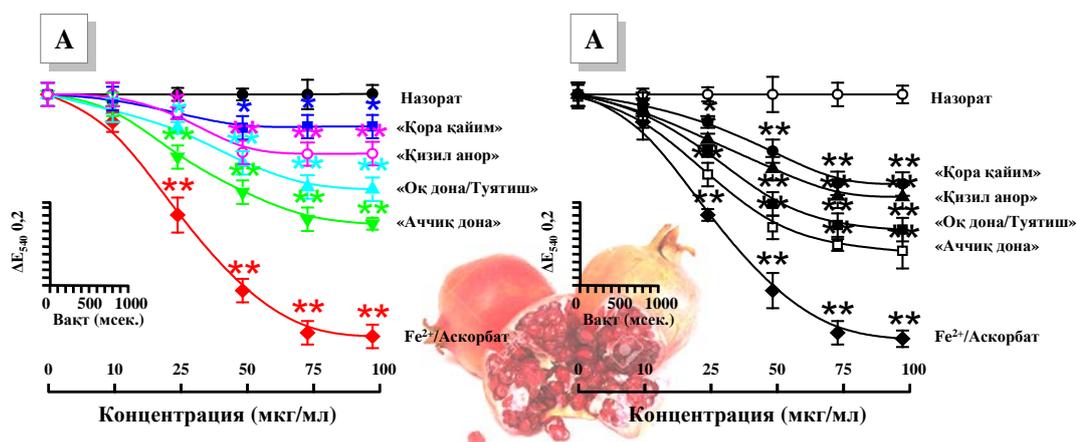


3-расм. Каламуш жигар митохондрияси Ca^{2+} -мегаканалига «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)», «Аччиқ дона» анор навлари меваси экстрактларининг концентрацияга боғлиқ 20-100 мкг/мл (А) ва уларнинг пўстидан ажратиб олинган экстрактларнинг 100 мкг/мл (Б) таъсири (* – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n=4$).

Демак, каламуш жигар митохондрияси бўқишига танлаб олинган анор навларининг мевасидан ажратиб олинган 70% ли этанолли экстрактнинг 100 мкг/мл концентрацияси самарали ингибирловчи таъсир этганлиги аниқланди. Ушбу танлаб олинган навларнинг барчаси митохондрия мембранаси ўтказувчанлигига ингибирловчи таъсири мавжуд эканлиги, аммо «Аччиқ дона» мевасидан олинган экстрактнинг 100 мкг/мл концентрацияси бошқа навларга қараганда самарали бўлганлиги аниқланди.

Анор меваси ва пўсти экстрактининг митохондрия мембранаси липидлари пероксидланишига таъсири. Тадқиқотларда Fe^{2+} /аскорбат инкубацияси орқали индукцияланган липидларнинг пероксидли оксидланиши (ЛПО) шароитидаги оптик зичлик қиймати назорат гуруҳи сифатида белгиланди (100%). Маҳаллий анор навлари («Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)», «Аччиқ дона») меваси ва пўсти экстрактлари концентрацияга боғлиқ (20-100 мкг/мл) ЛПО қийматини сусайтириши

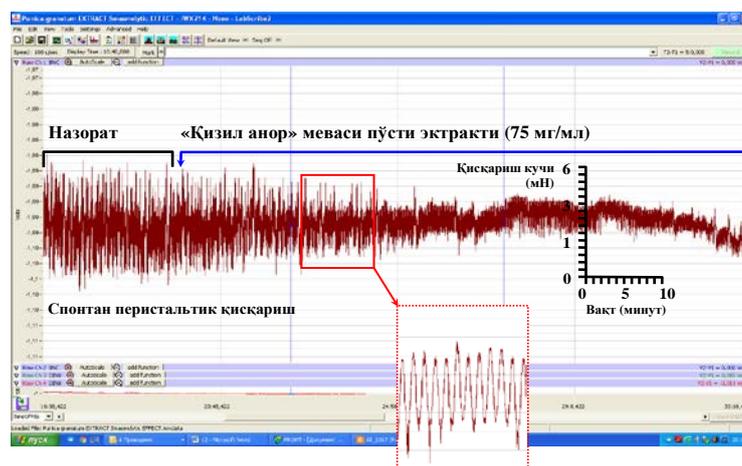
аниқланди (4А, Б-расм). Жумладан, «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)», «Аччиқ дона» анор навлари мевасининг экстрактлари 100 мкг/мл концентрацияда ЛПО қийматини назоратга нисбатан мос равишда $86,5 \pm 4,5$; $75,4 \pm 6,2\%$; $46,4 \pm 3,6$ ва $60,6 \pm 5,4\%$ га сусайтириши аниқланди (4А-расм). Шунингдек, «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навларининг пўсти экстрактлари (100 мкг/мл) ЛПО қийматини назоратга нисбатан мос равишда $69,2 \pm 3,5$; $64,6 \pm 4,5\%$; $53,8 \pm 4,7$ ва $46,2 \pm 5,5\%$ га сусайтириши аниқланди (4Б-расм).



4-расм. Каламуш жигар митохондрияси суспензиясида Fe^{2+} /аскорбат таъсирида юзага келтирилган ЛПО интенсивлигига «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)», «Аччиқ дона» анор навларининг мева (А) ва пўсти (Б) экстрактларининг (100 мкг/мл) таъсири (* – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n=3-5$).

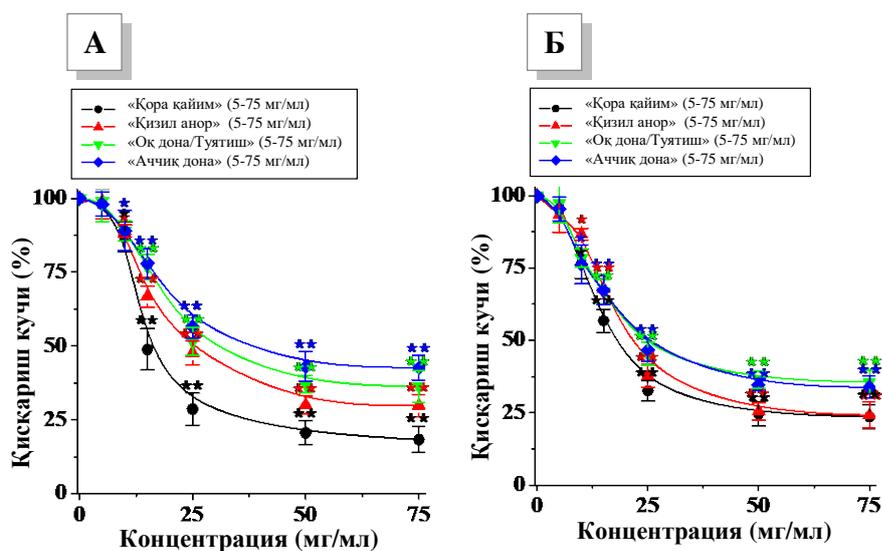
Демак, танлаб олинган анор навларининг меваси ва пўстидан ажратиб олинган экстрактларнинг каламуш жигар митохондриясининг Fe^{2+} /аскорбат ёрдамида чақирилган ЛПО интенсивлигига ингибирловчи таъсир этганлиги аниқланди. Бунда энг самарали таъсир «Қора қайим» навининг меваси ва пўстидан ажратиб олинган экстрактнинг 100 мкг/мл концентрацияси эканлиги аниқланди. Танлаб олинган маҳаллий анор навлари меваси ва пўсти экстрактларининг антиоксидант фаоллигига янада ишонч ҳосил қилиш учун навбатдаги тажрибаларни олиб бордик.

Анор меваси ва пўсти экстрактининг in vitro таъсири ҳайвонларида ичак силлиқ мускулларига спазмолитик таъсири. Таърибаларда танлаб олинган маҳаллий анор навлари «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари пўсти экстрактининг in vitro шароитида денгиз чўққаси ичаги силлиқ мускулларининг перистальтик функционал фаоллигига таъсири ўрганилди (5-расм).



5-расм. «Қизил анор» нави мева пўсти экстрактининг (75 мг/мл) денгиз чўққаси ичаги силлиқ мускулининг перистальтик қисқариш фаоллигига спазмолитик таъсири (оригинал эксперимент). Стрелка билан экстракт инкубация муҳитига қўшилган вақт кўрсатилган.

Тажрибаларда танланган анор навлари пўстининг экстракти 75 мг/мл концентрацияда денгиз чўққаси ичагининг изометрик шароитдаги перистальтик қисқариш фаоллиги амплитудаси қийматини назоратга нисбатан мос равишда $81,7 \pm 4,5\%$; $70,2 \pm 3,8\%$; $63,7 \pm 5,4\%$ ва $57,3 \pm 4,7\%$ га камайтириши аниқланди (6А-расм).

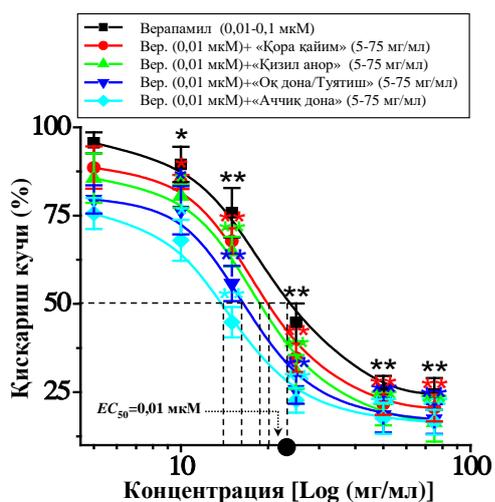


6-расм. «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари пўсти экстрактининг концентрацияга боғлиқ (5-75 денгиз чўққаси ичагининг изометрик шароитдаги перистальтик қисқаришига релаксат (А) ва КСl (60 мМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига спазмолитик таъсири ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$; * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n=3-5$).

Тажрибаларнинг навбатдаги босқичида анор навлари мева пўсти экстрактининг спазмолитик таъсир механизмига аниқлик киритиш мақсадида, уларнинг денгиз чўққаси ичаги силлиқ мускулида КСl (60 мМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига таъсири ўрганилди. Ичак препаратининг перистальтик функционал фаоллиги барқарор ҳолатга

келганидан кейин (45-60 минут), инкубация муҳитига KCl (60 мМ) қўшилди ва препарат қисқариши максимал қийматга кўтарилиши 100% (назорат) қийматида белгиланди. Тажрибаларда «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари пўстининг экстракти 75 мг/мл концентрацияда денгиз чўчқаси ичагининг изометрик шароитдаги перистальтик қисқариш фаоллиги амплитудаси қийматини назоратга нисбатан мос равишда $76,4 \pm 5,3\%$; $75,8 \pm 4,4\%$; $64,3 \pm 4,2\%$ ва $66,2 \pm 3,8\%$ га камайтириши аниқланди (6Б-расм).

Анор навларининг мева пўстидан ажратиб олинган экстрактнинг ичак девори силлиқ мускул ҳужайраларида потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналларига таъсири. Инкубация муҳитига KCl (60 мМ) қўшилган ҳолатда $[K^+]_{out}$ ортиши таъсирида ичак девори силлиқ мускул ҳужайралари сарколеммаси деполяризацияланади ва сарколеммада жойлашган потенциалга боғлиқ фаоллашувчи Ca^{2+} -каналлари орқали ҳужайрага Ca^{2+} ионларининг кириши кучаяди, ўз навбатида $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши ва саркоплазматик ретикулум мембранасида жойлашган IP_3 -инозитол трифосфат рецептори фаол ҳолатга ўтиши, саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} чиқиши кучайиши ҳисобига қисқариш аппарати активацияси орқали ичак мускул препаратининг қисқариш кучи максимал қийматга ортиши қайд қилинади (7-расм).



7-расм. «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари пўсти экстрактининг (5-75 мг/мл) инкубация муҳитида Ca^{2+} -каналлари специфик блокатори верапамил (0,01 мкМ) мавжуд шароитда денгиз чўчқаси ичагининг KCl (80 мМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш фаоллиги релаксант таъсири ($t=+36 \pm 0,5^\circ C$; * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n=3-4$).

Инкубация муҳитида Ca^{2+} -каналларининг специфик блокатори верапамил (0,01 мкМ) мавжуд шароитда «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари пўсти экстрактининг (5-75 мг/мл) спазмолитик таъсири логарифмик эгри чизиғи параллел ҳолатда чап томонга силжиши қайд қилинди.

Олинган натижалар танлаб олинган маҳаллий анор навлари мева пўсти экстрактининг (5-75 мг/мл) денгиз чўчқаси ичаги силлиқ мускулида

KCl (60 мМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига спазмолитик таъсири ичак девори мускул ҳужайраларида Ca²⁺-каналлари фаоллигини сусайтирувчи таъсир кўрсатиши орқали амалга ошишини тасдиқлайди. Олинган тажриба натижалари анор пўстидан диареяга қарши фармакологик дори воситаларини ишлаб чиқаришда фойдаланиш имкониятлари юқорилигини тасдиқлайди.

Озиқ-овқат саноатида кўп миқдорда иккиламчи чиқинди сифатида ҳосил бўлган анор пўстидан фармацевтика саноати хомашёси сифатида фойдаланиш тавсия этилади.

ХУЛОСАЛАР

1. Маҳаллий «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор (*Punica granatum* L.) навларини биотехнологик (*in vitro*) кўпайтиришнинг оптимал шароити озуқа муҳитида фитогормонларнинг максимал стимуляцион концентрацияси нисбатлари билан изоҳланади.

2. Анор меристема тўқимаси эксплантасида *in vitro* шароитида ризогенез-органогенез жараёнлари интенсивлиги юқори бўлиши учун Мурасиге-Скуга озуқа муҳитининг энг мақбул таркиби тавсия этилди.

3. *In vitro* шароитида ўстирилган анор кўчатлари барги юзасининг солиштирма зичлиги (г/дм²) дастлабки суткада (1 сутка) назоратга нисбатан табиий тупроқ шароитига мослашишнинг бошланғич даврида статистик ишонарли даражада паст бўлади ва баргларида хлорофилл (*a*, *b*), β-каротиноидлар концентрациясининг ўзгариш динамикаси юзага келади.

4. Сирдарё вилояти шароитида экиладиган маҳаллий «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навларининг меваси, пўсти таркибида витаминлар (А, В, С, Е), макро- (К, Са, Мг, Na, Р) ҳамда микроэлементлар (Fe, Mn, Zn, Cu, Se) мавжуд эканлиги қайд этилди.

5. Маҳаллий «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)», «Аччиқ дона» анор навларининг меваси ва пўсти экстрактлари (100 мкг/мл) таъсирида *in vitro* шароитида каламуш жигар митохондрияси суспензиясида бўкиш кўрсаткичини сусайтириши, Ca²⁺ га боғлиқ мегаканал (*mPTP*) ўтказувчанлигини ингибирланиши юзага келади.

6. Анор меваси ва пўсти экстрактлари Fe²⁺/аскорбат инкубацияси таъсирида митохондрия мембранаси липидлари пероксидланиши интенсивлигини сусайтириши уларнинг пероксидланиш маҳсулоти МДА миқдорини камайтириши асосида антиоксидант таъсир кўрсатиши билан изоҳланади.

7. Маҳаллий «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона (Туятиш)» ва «Аччиқ дона» анор навлари меваси ва пўсти экстрактининг (5-75 мг/мл) тажриба ҳайвонлари ичаги силлиқ мускулида KCl (60 мМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига спазмолитик таъсири мускул ҳужайраларида Ca²⁺-каналлари блокадаси билан боғлиқлиги кўрсатилди.

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

ГУЛИСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ЭРГАШЕВА ФАРОГАТ ШЕРАЛИЕВНА

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА МЕСТНЫХ СОРТОВ ГРАНАТА (*Punica granatum* L.)
И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ МИКРОКЛОНИРОВАНИЯ**

03.00.07-Физиология и биохимия растений

03.00.08-Физиология человека и животных

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

Бухара – 2020

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2019.3.PhD/B368.

Диссертация выполнена в Гулистанском государственном университете.

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

Научный руководитель: Кушнев Хабибжон Хожибобоевич
доктор биологических наук, профессор

Хушматов Шунқор Саъдуллаевич
доктор биологических наук

Официальные оппоненты: **Матчанов Азат Таубалдиевич**
доктор биологических наук, профессор

Курбанбаев Илхам Джуманазарович
доктор биологических наук

Ведущая организация: Ташкентский государственный аграрный университет

Защита диссертации состоится «12» июня 2020 г. в 10⁰⁰ часов на заседании Научного совета PhD.03/30.12.2019.B.72.02. по присуждению ученой степени доктора философии при Бухарском государственном университете по адресу: 200117, г.Бухара, ул. М.Икбол 11, БухДУ. Тел.: (+99865) 221-29-14, факс: (+99865) 221-26-12, e-mail: bsu_info@edu.uz.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Бухарского государственного университета (зарегистрировано под № 3). Адрес: 200117, г.Бухара, ул. М.Икбол 11, БухДУ. Тел.: (+99865) 221-29-14, факс: (+99865) 221-26-12, e-mail: bsu_info@edu.uz.

Автореферат диссертации разослан: «29» мая 2020 г.
(реестр протокола рассылки № «3» от 29 мая 2020 г.)


А.Э.Холлиев
Председатель научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., доцент

Н.Э.Рашидов
Ученый секретарь научного совета по присуждению ученых
степеней, к.б.н., доцент

С.Б.Бакоев
Председатель научного семинара при научном совете по
присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время в мире удовлетворение возрастающих потребностей населения в продовольственных продуктах является актуальной задачей. В этой связи эффективное использование посевных площадей при возделывании продуктов сельскохозяйственных культур имеет важное стратегическое значение. Из-за засоленности и деградации почв посевных площадей отбор и возделывание растений, имеющих социально-экономическое значение, является одной из актуальных задач науки и производства. В этой связи, микрклональное размножение сортов граната в условиях *in vitro*, получение безпатогенных саженцев, а также производство фармакологических лекарственных веществ из экстрактов их плодов и кожуры имеет важное значение.

В настоящее время во многих больших исследовательских центрах мира, вместе с повышением плодородия сельскохозяйственных культур, уделяется большое внимание возделыванию граната. Экстракт кожуры граната, являющегося вторичным отходом пищевой промышленности, в будущем рекомендуется использовать в сфере теоретической и практической фармакологии для производства антиоксидантных и спазмолитических фармакологических препаратов. Отбор сортов граната, приспособленных к экологическо-климатическим условиям, его пищевая ценность, физиологические активные вещества в составе кожуры, а также широкое использование его элементов в фармакологии повышает интерес к этому растению. Поэтому, микрклональное размножение местных сортов граната в условиях *in vitro*, создание экономически эффективных лекарственных веществ из плодов и кожуры граната имеет важное актуальное значение.

В нашей республике на сегодняшний день уделяется большое внимание внедрению в практику научных и инновационных достижений при создании экологически безопасных растительных продуктов. В Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан¹ определены следующие задачи «Поощрение научно-исследовательской и инновационной деятельности, создание эффективных механизмов внедрения в практику научных и инновационных достижений», и в 4-м направлении определены важные задачи «по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, усовершенствование обеспечения населения и медицинских учреждений дешёвыми, качественными лекарственными средствами и медицинскими предметами»¹. В этой связи, увеличение местных сортов граната и определение механизмов фармакологического действия биологически активных веществ выделенных из них имеет важное значение.

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» № УП-4947.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» за от 7 февраля 2017 года, в пункте 3.3 Постановления Президента № ПП-4239 «О мерах по развитию сельскохозяйственной кооперации в плодоовощной отрасли» от 14 марта 2019 года, а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования основным приоритетам направлениям развития науки и технологий в республике. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. В мировом масштабе научно-исследовательские работы по созданию сортов граната (*Punica granatum* L.) в различных климатических условиях и зонах с помощью биотехнологических методов, в частности, получение безпатогенных саженцев в условиях *in vitro* проводились следующими учёными: Murkute и др. (2004), Singh и Khawale (2006), Chaugule и др. (2007), Samir и др. (2009), Singh и др. (2001).

В странах СНГ сведения по интродукции и изучению изменчивости корневой системы сортов граната *Punica granatum* L. (*Punicaceae*) при различных почвенных условиях отражались в исследованиях Шарипова (2015), Мустафаева (1992), Раджабова и Горбунова (1997), Гутиева (1998), Мамедова (2007), сведения о динамике изменений некоторых физиологических показателей граната в период вегетации и фазах развития в условиях Средней Азии в исследованиях Бобоева (2014), сведения о пищевом и хозяйственном значении в работах Омарова (2000), Коблякова (1998), Абдулкадирова (2008), Загирова (2008), про происхождению и биоэкологическим свойствам - в исследованиях Мамедова (2007), Загирова, Аммайгаджиева, Казбекова (2004).

На основе проведённых исследований в Узбекистане изучено количество полифенолов (танины, галловая кислота, пуникалин, пуникалагин, кверцетин) в составе плодового экстракта некоторых местных сортов граната (Mavlyanov et al., 1997), а Эшматов (2018) предложил повысить его потребительское свойство на основе изучения состава гранатового сока. Однако, в масштабе нашей Республики научно-исследовательские работы по направлению создания новых сортов, выносливых к местным почвенно-климатическим условиям, практически не проводились и это определяет актуальность проведения теоритически-практических исследований в данном направлении.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где была выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено по плану научно-

исследовательских работ Экспериментальной биологической лаборатории Гулистанского государственного университета в рамках научного проекта С-А-2018-004 «Создание биотехнологической коллекции граната (*Punica granatum* L.) и разработка технологии получения безпатогенных саженцев» (2018-2020 гг).

Целью исследования является характеристика физиолого-биохимических, фармакологических свойств и перспектив микроклонирования некоторых местных сортов граната (*Punica granatum* L.).

Задачи исследования:

разработка оптимальных условий биотехнологического размножения (*in vitro*) местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» и определение оптимальных соотношений максимальной стимуляционной концентрации фитогормонов в питательной среде;

микроклонирование сортов граната в условиях *in vitro* и определение оптимальной комбинации состава питательной среды при интенсивности процессов ризогенез/органогенез;

анализ процесса транспирации, динамики адаптации и изменений количества фотосинтетических пигментов при пересадке саженцев граната в почву, выращенных в условиях *in vitro*;

анализ этапов роста и развития, плодов, физиолого-биохимических свойств кожуры, а также состава местных сортов граната, выращиваемых в условиях Сырдарьинской области;

анализ фармакологической активности экстракта плода и кожуры отобранных местных сортов граната в условиях *in vitro*;

анализ состояния местных сортов граната, их размножения с помощью микроклонального метода и перспектив использования сырья граната в фармакологии.

Объектом исследования являются местные сорта граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона», выращиваемые на территории Сырдарьинской области, половозрелые белые крысы, морские свинки, митохондрия, препарат гладкой мускулатуры тонкого кишечника, экстракты плода и кожуры граната.

Предметом исследования является физиолого-биохимические, фармакологические свойства и перспективы микроклонирования некоторых местных сортов граната.

Методы исследования. В исследовательской работе были использованы методы микроклонирования, стерилизации, транспирации, хроматографии, спектрофотометрии, экстракции, механографии, методы дифференциального центрифугирования, фотометрии и биохимические методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые разработаны оптимальные условия биотехнологического размножения (*in vitro*) местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор»,

«Ок дона (Туятиш)» и «Аччиқ дона», выращиваемых в условиях Сырдарьинской области, а также определены максимальные стимуляционные концентрации и оптимальное соотношение фитогормонов в питательной среде;

определены оптимальные условия состава питательной среды при микроклонировании отобранных местных сортов граната;

на основе изменения количества фотосинтетических пигментов и процесса транспирации определена динамика адаптации саженцев граната, полученных с помощью микроклонального метода в условиях *in vitro* и пересаженных в почву;

определен биохимический состав плода и кожуры местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччиқ дона»;

в условиях *in vitro* определено антиоксидантное и спазмолитическое свойство экстракта плода и кожуры отобранных местных сортов граната.

Практические результаты исследований заключаются в следующем:

определены изменения процесса транспирации и количества фотосинтетических пигментов в саженцах местных сортов граната, полученных с использованием метода микроклонирования в условиях *in vitro* и пересаженных в почву;

разработка практических рекомендаций для перспективного использования микроклонирования сортов граната и использование экстрактов их плодов и кожуры в фармакологии

Достоверность результатов исследования объясняется соответствием теоретических и практических результатов, полученных с помощью применения современных стандартных биохимических, физиологических методов опыта, обсуждением полученных результатов на республиканских и международных конференциях, а также публикацией результатов в рецензируемых ведущих научных изданиях. При обработке результатов учитывались значения интервалов достоверностей (критерии Стьюдента) и проведена статистическая обработка полученных данных с помощью компьютерной программы OriginPro 7.5.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследований характеризуется расширением теоретических знаний о выборе оптимальных комбинаций состава питательной среды при микроклонировании, и изучении фармакологической (антиоксидантной, спазмолитической) активности гранатового экстракта в условиях *in vitro*, биохимического состава плодов и кожуры граната.

Практическая значимость результатов исследований характеризуется размножением местных сортов граната методом микроклонирования, выносливых в почвенно-климатическим условиям Сырдарьинской области, Мирзачулского оазиса нашей республики, анализом транспирации и динамики фотосинтетических пигментов и разработкой практических рекомендаций по перспективам использования граната в фармакологии.

Внедрение результатов исследований. На основе полученных научных результатов по характеристике перспективах физиолого-биохимических, фармакологических свойств и микрочлонирувания некоторых местных сортов граната (*Punica granatum L.*):

организация плантаций из безпатогенных саженцев сортов граната, выращенных в условиях *in vitro*, а также количество выявленных витаминов, макро и микроэлементов при изучении анализа гранатового сока, внедрено в виде зафиксирования на упаковках продуктах в производственный кооператив «Дехконобод Асл Анори» (Справка Министерства Экономики и промышленности Республики Узбекистан № 6-3-1/20-3275 от 12 декабря 2019 года). В результате, это дало возможность увеличения спроса на природный гранатовый сок на внутреннем и внешнем рынке, производимый кооперативом;

образование каллуса в культуре в условиях *in vitro* эксплантов листьев граната, интенсивность ризогенеза и органогенеза, состав питательной среды, связь комбинаций и типа биологический стимуляторов использовано в научном проекте № ИК-2011-1/1 «Организация технологии получения и производства опытной партии таблеток Глицерам» при получении в достаточном количестве технической глицирризиновой кислоты и моноаммонийной соли 80% глицирризиновой кислоты из густого экстракта корня Солодки, а также при контроле чистоты субстанции глицерама методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (справка АН РУз № 4/1255-3329 от 24 декабря 2019 года). В результате, это дало возможность определить основные технологические параметры для создания временной фармакопейной статьи субстанции «Глицерам».

на основе разработки оптимальной технологии размножения местных сортов граната биотехнологическим методом в условиях *in vitro* использовано при определении подлинности, растворимости и сроков хранения субстанции «Глицерам» в научном проекте № ИК-2011-1/1 «Организация технологии получения и производства опытной партии таблеток Глицерам» (справка АН РУз № 4/1255-3329 от 24 декабря 2019 года). В результате, это дало возможность выработать состав таблеток «Глицерам»;

Апробация результатов работы. Результаты данного исследования обсуждались на 2 международных и 5 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ. Из них, в том числе 5 статей в научных изданиях, в частности 3 в республиканских и 2 в зарубежном журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикаций основных научных результатов диссертаций доктора философии.

Структура и объем диссертации: структура диссертации состоит из введения, пяти глав, заключительной части, выводов и списка

использованной литературы. Основное содержание диссертации составляет 110 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и востребованность проведенных исследований, охарактеризованы цель и задачи, объект и предмет исследований, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологии республики, изложены научная новизна и практические результаты, раскрыты научная и практическая значимость полученных результатов, приведены данные по внедрению в практику результатов исследования, опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, под названием **«Морфо-физиологические и фармакологические свойства граната (*Punica granatum L.*)»**, приведены сведения о ботанической характеристике и краткой истории окультуривания граната, проанализированы данные о биохимическом составе плода, кожуры и семян. А также, представлены сведения об общей фармакологической характеристике граната, спазмолитической активности и влиянию на мембраны митохондрий печени экстракта плода и кожуры.

Во второй главе диссертации, озаглавленной **«Методы микроклонирования в условиях *in vitro* и изучения морфо-физиологических, фармакологических свойств граната (*Punica granatum L.*)»**, приведены данные об объекте и условий исследования, метода размножения граната на основе микроклонирования в условиях *in vitro*, методы изучения динамики процесса адаптации саженцев граната при пересадке на почвенные условия, выращенных в условиях *in vitro*, в частности методы изучения динамики изменения количества фотосинтетических пигментов и динамики процесса транспирации, а также метод анализа биохимического состава плода и кожуры граната, методов математическо-статистической обработки полученных результатов по изучению антиоксидантного и спазмолитического действия на гладкую мышцу кишечника на основе влияния экстракта плода и кожуры граната на функциональные показатели митохондрий опытных животных в условиях *in vitro*.

В третьей главе диссертации, озаглавленной **«Размножение граната (*Punica granatum L.*) микроклонированием в условиях *in vitro*»**, приведены результаты микроклонирования в условиях *in vitro*, стерилизации начальных растительных эксплантов и оптимизации условий размножения.

При методе микроклонирования граната в условиях *in vitro* интенсивность этапов процесса размножения (образование и пролиферация каллусной ткани, образование проростков, образование корней) связано с типом экспланта, методом стерилизации экспланта и комбинации используемых фитогормонов в составе питательной среды. При исследованиях выявлены оптимальные показатели образования каллусной

ткани в комбинации ВАР (5 мг/л)+NAA (0,4 мг/л) в составе питательной среды Мурасиге-Скуга (МС), в варианте с использованием в качестве начального экспланта листовых почек и листовых частиц. Вместе с этим, при использовании почек кончиков стебля и листовых частиц выявлена высокая интенсивность образования каллусной ткани в комбинации ВАР (3-4 мг/л)+NAA (0,4 мг/л) в составе питательной среды МС. В результате опытов, выявлено что пролиферация каллусной ткани в оптимальной степени происходит в комбинациях ВАР (1 мг/л)+NAA (1 мг/л) в составе питательной среды МС. В наших исследованиях наблюдались высокие результаты в варианте в комбинации ВАР (2 мг/л)+NAA (0,1 мг/л)+GA₃ (0,5 мг/л) (рис.1).

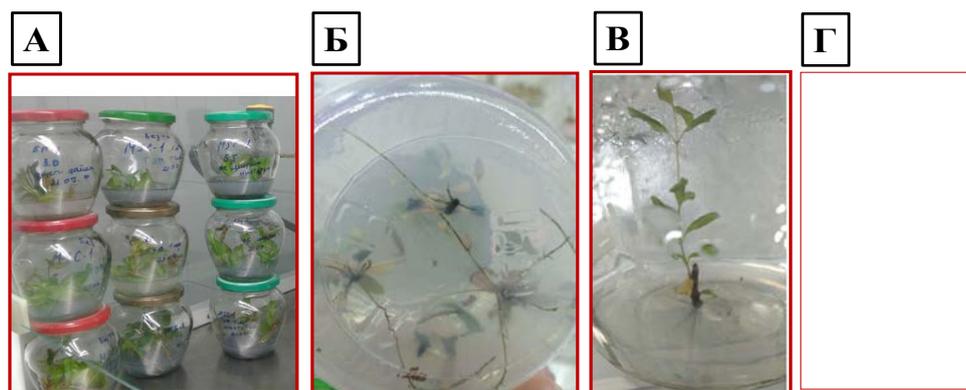


Рис. 1. Этапы процесса размножения граната (*Punica granatum* L.) микроклонированием в условиях *in vitro*. А). Посев стеблей граната на питательную среду МС; Б) Образование корня в условиях *in vitro*; В). Рост стебля на питательной среда М С; Г). Внешний вид стебля.

Выявлено, что интенсивность регенерации связано с генотипом растения (сорта граната), а также с типом питательной среды, используемыми стимуляторами и их комбинациями в составе питательной среды. Определено, что комбинация 6-БАП (1-2 мг/л)+ГК (0,5-1 мг/л)+НСК (0,2 мг/л) в составе питательной среды Кворин-Лепорье оптимально действует на степень процесса регенерации экспланта (табл. 1).

Таблица 1

Показатели интенсивности роста и развития в условиях с использованием комбинации 6-БАП (1-2 мг/л)+ГК (0,5-1 мг/л)+НСК (0,2 мг/л) в составе питательной среды Кворин ($M \pm m$)

№	Сорта граната	Типы начальных эксплантов					
		Листья		Стабли		Корни	
		Количество образованных проростков (штук)	Количество образованных корней (штук)	Количество образованных проростков (штук)	Количество образованных корней (штук)	Количество образованных проростков (штук)	Количество образованных корней (штук)
1	«Кора кайим»	23,8±2,4	14,5±1,6	15,5±1,5	10,5±1,2	13,8±0,4	11,8±1,3
2	«Кизил анор»	32,3±1,2	10,6±1,7	17,3±1,3	10,6±0,7	24,5±0,8	12,7±0,5
3	«Ок дона (Туятиш)»	18,6±1,6	9,5±0,9	11,2±1,4	7,4±0,6	15,6±1,4	8,6±0,7
4	«Аччик дона»	37,4±2,3	14,3±2,2	17,4±1,3	12,1±1,7	25,4±0,6	10,3±2,2

Примечание: во всех случаях $p < 0,05$; $n = 4-5$.

Проведённые исследования показали, что концентрация ИМК (0,1-50 мг/л) показывает незначительное стимулирующее действие на интенсивность процессов ризогенеза и органогенеза эксплантов сортов граната. Определено, что образование каллуса в культуре экспланта листьев граната в условиях *in vitro*, интенсивность ризогенеза и органогенеза связано с типом биологический стимуляторов и их комбинаций в составе питательной среды.

В четвёртой главе диссертации, озаглавленной «**Физиологические процессы на этапах роста и развития саженцев граната, выращенных в условиях *in vitro***», представлены полученные результаты по динамике изменения процесса транспирации и количества фотосинтетических пигментов при пересадке саженцев граната на почвенные условия, выращенных в условиях *in vitro*.

Динамика процесса транспирации при пересадке саженцев граната на почвенные условия, выращенных в условиях in vitro. Доля количества сухого остатка в составе листьев граната сортов «Кора кайим» и «Кизил анор» достоверно снижалось на 29,2% и 26,7% соответственно, по сравнению с контролем. Доля количества сухого остатка в составе листьев граната сортов «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» недостоверно снижалось на 8,96% и 18,5% соответственно, по сравнению с контролем (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ массы сухого вещества в составе листьев отобранных сортов граната

№	Сорта граната	Доля массы сухой вещества в составе листьев (%)	
		Контроль	Выращенные в условиях <i>in vitro</i>
1	«Кора кайим»	33,6±3,5	23,8±3,6**
2	«Кизил анор»	22,5±2,4	16,5±2,2**
3	«Ок дона (Туятиш)»	26,8±3,3	24,4±2,8*
4	«Аччик дона»	25,4±2,7	20,7±2,5**

Примечание: * – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$).

Как видно из полученных результатов, общая масса сухого вещества в составе листьев саженцев, выращенных в условиях *in vitro*, статистически достоверно ниже по сравнению с контролем. Это состояние, а именно низкая масса сухого вещества в листьях саженцев граната выращенных в условиях *in vitro*, по сравнению с контролем, в первый период посева в естественные почвенные условия связано с механизмом адаптации интенсивности освоения питательных веществ через корни.

На следующем этапе исследований проанализирована динамика изменений относительной влаги в листьях саженцев отобранных местных сортов граната, выращенных в условиях *in vitro*, в диапазоне интервала времени, по сравнению с контролем. В контрольной группе листьев сортов граната количество относительной влажности в течение 1-60 суток никаких серьёзных изменений не зафиксировано (рис. 2А). Резкое снижение

количества относительной влажности в листьях саженцев, выращенных в условиях *in vitro*, на первые сутки и показатель этого значения у контрольных сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» на 10 сутки соответственно снизился от $76,2 \pm 2,5\%$ до $52,6 \pm 3,4\%$; от $83,5 \pm 4,4\%$ до $62,5 \pm 2,7\%$; от $75,6 \pm 3,4\%$ до $58,2 \pm 2,5\%$ и от $79,5 \pm 2,4\%$ до $64,7 \pm 3,4\%$.

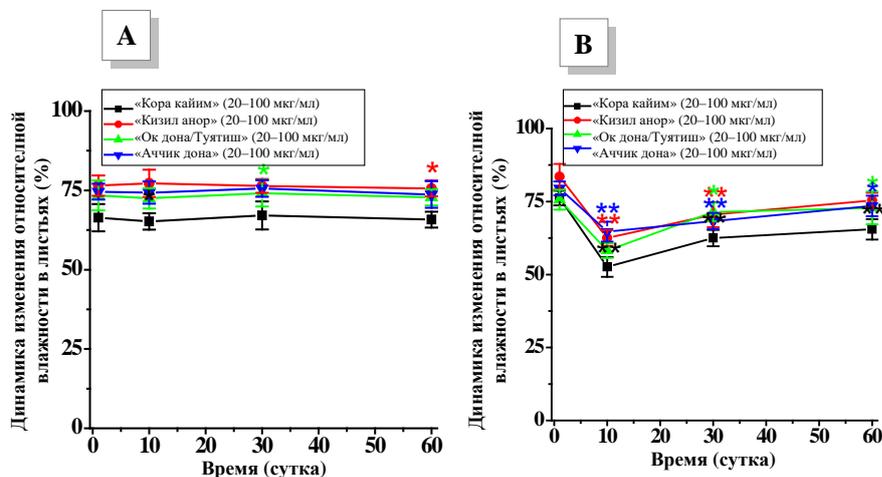


Рис. 2. Динамика изменений относительной влаги в листьях саженцев в диапазоне интервала времени у отобранных местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» (А) и листьях саженцев, выращенных в условиях *in vitro* (Б) (* – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$)).

На последующие 30-60 суток показатель количества относительной влажности в листьях саженцев приблизился к контролю и этот показатель у отобранных сортах граната на 10 сутки повысился на $65,5 \pm 3,5$; $75,4 \pm 2,6$; $72,8 \pm 5,6$ и $73,5 \pm 3,5\%$, соответственно (рис. 2Б).

Динамика изменения количества фотосинтетических пигментов при пересадке саженцев граната на почву, выращенных в условиях *in vitro*. В наших исследованиях проанализированы хлорофилл *a* и *b* в листьях граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона», общий хлорофилл *a* и *b*, и соотношения хлорофилла. Согласно полученным данным, количество хлорофилла *a* в контроле у сортов «Кора кайим» и «Кизил анор» составило $0,86 \pm 0,02$ и $0,74 \pm 0,03$ мг/г, а количество хлорофилла *b* - $0,83 \pm 0,01$ и $0,72 \pm 0,01$ мг/г (табл. 3). Количество хлорофиллов *a* и *b* в листьях граната опытных сортов «Кора кайим» и «Кизил анор», выращенных в условиях *in vitro*, снизилось и составило (для хлорофилла *a*) $0,54 \pm 0,02$ и $0,47 \pm 0,01$ мг/г, и (для хлорофилла *b*) $0,43 \pm 0,02$ и $0,34 \pm 0,03$ мг/г, по сравнению с контролем. Количество хлорофилла *a* у сортов граната «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» составило $0,74 \pm 0,02$ и $0,87 \pm 0,03$ мг/г, а количество хлорофилла *b* $0,69 \pm 0,03$ и $0,75 \pm 0,01$ мг/г, в соответствии с контролем. Количество хлорофиллов *a* и *b* в листьях граната опытных сортов «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона», выращенных в условиях *in vitro*, немного снизилось по сравнению с контролем, и составило (для хлорофилла *a*)

хлорофилл *a* $0,63 \pm 0,02$ и $75 \pm 0,03$ мг/г, и (для хлорофилла *b*) $0,55 \pm 0,03$ и $0,41 \pm 0,02$ мг/г (табл. 3).

Таблица 3

Концентрация хлорофилла *a* и *b* в листьях граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» ($M \pm m$)

Сорта граната в опытных вариантах		Хлорофилл <i>a</i> (мг/г)	Хлорофилл <i>b</i> (мг/г)	Общее количество хлорофиллов (хл. <i>a</i> +хл. <i>b</i>) (мг/г)	$\frac{Хл.a}{Хл.b}$
Контроль	«Кора кайим»	$0,86 \pm 0,02$	$0,74 \pm 0,03$	$1,6 \pm 0,04$	$1,16 \pm 0,05$
	«Кизил анор»	$0,83 \pm 0,01$	$0,72 \pm 0,01$	$1,55 \pm 0,06$	$1,15 \pm 0,04$
	«Ок дона (Туятиш)»	$0,74 \pm 0,02$	$0,69 \pm 0,03$	$1,43 \pm 0,05$	$1,07 \pm 0,05$
	«Аччик дона»	$0,87 \pm 0,03$	$0,75 \pm 0,01$	$1,56 \pm 0,04$	$1,16 \pm 0,04$
Опыт	«Кора кайим»	$0,54 \pm 0,02^{**}$	$0,43 \pm 0,02^{**}$	$0,97 \pm 0,02$	$1,26 \pm 0,02$
	«Кизил анор»	$0,47 \pm 0,01^*$	$0,34 \pm 0,03^{**}$	$0,81 \pm 0,02$	$1,38 \pm 0,03$
	«Ок дона (Туятиш)»	$0,63 \pm 0,02^*$	$0,55 \pm 0,03^*$	$1,18 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,02$
	«Аччик дона»	$0,75 \pm 0,03^*$	$0,41 \pm 0,02^{**}$	$1,16 \pm 0,03$	$1,83 \pm 0,02$

Примечание: * – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$).

При этом количество хлорофилла *a* и *b* (контроль) и общее число хлорофиллов (*a*+*b*) в листьях граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» составило $1,6 \pm 0,04$; $1,55 \pm 0,06$; $1,43 \pm 0,05$ и $1,56 \pm 0,04$ мг/г, соответственно.

В пятой главе диссертации, озаглавленной «Биохимические и фармакологические свойства некоторых местных сортов граната (*Punica granatum* L.)», представлены данные о подготовке этанолового экстракта плода и кожуры граната, количества витаминов, а также о влиянии экстракта плода и кожуры граната на функциональные показатели митохондрий и сокращение гладкой мускулатуры кишечника животных в опытах *in vitro*.

Подготовка этанолового экстракта плода и кожуры граната. Сначала, отделялись кожура и плоды проанализированных сортов граната и механическим способом измельчалась в стерильных условиях. На весах («CAS_CUW220H»; Китай; степень точности 0,01 гр) определялся вес измельчённых образцов (5-10 гр), помещалась в колбу ($V=300$ мл) и сверху добавлялся раствор этанола (70%) в объёме 50 мл. Затем колба ставилась на магнитную мешалку на 60 минут при температуре $+110^{\circ}\text{C}$. На следующем этапе смесь 2 раза экстрагировалась 25 мл раствором этанола (70%). Фильтрат растворялся в 100 мл этанола (40%) и центрифугировался в течение 10 минут при 7000 об/мин. Осадок отделялся и образованный раствор использовался в последующих этапах химического анализа экстракта граната.

При определении и анализе количества витаминов в составе плода и кожуры отобранных нами сортов граната получены следующие результаты. Например, выявлено, что наибольшее количество витамина А было в составе плодов граната сорта «Кора кайим» (0,164 мг/100 мл), а самое наименьшее в составе экстракта кожуры плода граната сорта «Кизил анор» (0,04 мг/100 мл). Наибольшее количество витамина В₁ содержится в составе экстракта граната сорта «Кизил анор» (0,084 мг/100 мл), а самое наименьшее количество в его кожуре (0,032 мг/100 мл). Больше количество витамина В₂ обнаружено в сорте граната «Кора кайим», В₅ в плоде сорта «Кизил анор», В₆ в плоде сорта «Кора кайим», витамин С в плоде сорта «Аччик дона», а наибольшее количество витамина Е обнаружено в экстракте плодов сорта «Кизил анор». Наименьшее количество В₂ в составе экстракта было из кожуры граната у сорта «Ок дона (Туятиш)» (0,024 мг/100 мл), наименьшее количество витамина В₅ в кожуре сорта «Аччик дона» (0,23 мг/100 мл), витамина В₆ в кожуре сорта «Аччик дона» (0,025 мг/100 мл), витамина С в кожуре сорта «Ок дона (Туятиш)» (4,805 мг/100 мл) и наименьшее количество витамина Е обнаружилось в экстракте кожуры граната сорта «Кизил анор» (0,014 мг/100 мл). Таким образом, выявлено что витамины группы А, В, С и Е в составе плодов граната отобранных сортов в количественном соотношении было больше чем в экстракте их кожуры.

Согласно полученным результатам, из микроэлементов в составе плода и кожуры сортов граната были обнаружены больше элемента К в экстракте плода граната сорта «Аччик дона» (26,46 мг/100 мл), а самое меньшее его количество в экстракте кожуры граната сорта «Кизил анор» (0,43 мг/100 мл), элемента Са было много в экстракте плода граната сорта «Кизил анор» (11,34 мг/100 мл), а самое наименьшее количество микроэлементов в экстракте его кожуры (0,35 мг/100 мл) (табл. 4).

Таблица 4

Количество микроэлементов в составе плода и кожуры сортов граната (мг/100 мл)

№	Сорта граната		Макроэлементы				
			К	Са	Mg	Na	Р
1	Кора кайим	Кожура	0,78	0,44	0,11	0,34	0,34
		Плод	226,13	8,46	12,18	3,24	32,30
2	Кизил анор	Кожура	0,43	0,35	0,19	0,56	0,43
		Плод	198,64	11,34	11,38	5,98	29,32
3	Ок дона (Туятиш)	Кожура	0,54	0,52	0,78	0,82	0,28
		Плод	213,54	9,13	11,23	4,26	35,27
4	Аччик дона	Кожура	0,67	0,67	0,23	0,45	0,45
		Плод	265,46	10,28	13,25	6,67	36,35

Примечание: * – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=4-5$).

Элемент Mg больше всего содержался в составе экстракта плода граната сорта «Аччик дона» (13,25 мг/100 мл), а самое малое его количество в экстракте кожуры граната сорта «Кора кайим» (0,11 мг/100 мл), элемента Na больше в составе экстракта плода граната сорта «Аччик дона»

(6,67 мг/100 мл), а самое малое его количество в составе экстракта кожуры граната сорта «Кора кайим» (0,34 мг/100 мл), элемента Р больше в составе экстракта плода граната сорта «Аччик дона» (36,35 мг/100 мл), а самое малое его количество в составе экстракта кожуры граната сорта «Ок дона (Туятиш)» (0,28 мг/100 мл). А также, в составе 70% этаноловом экстракте плодов и кожуры граната выявлено наличие микроэлементов Fe, Mn, Zn, Cu и Se.

Влияние экстракта плода и кожуры граната на проводимость мембран митохондрии. Изучено влияние экстрактов плода и кожуры некоторых местных сортов граната, выращиваемых на территории Сырдарьинской области, на функциональную активность *mPTP* митохондрий, выделенных из печени крыс в условиях *in vitro*. При наличии в инкубационной среде ионов Ca^{2+} , за счёт повышения степени проводимости *mPTP* происходит набухание суспензии митохондрий. В данном случае, в качестве контроля степени набухания, была взята концентрация ионов Ca^{2+} при концентрации 50 мкМ (100%) (рис. 3А, Б).

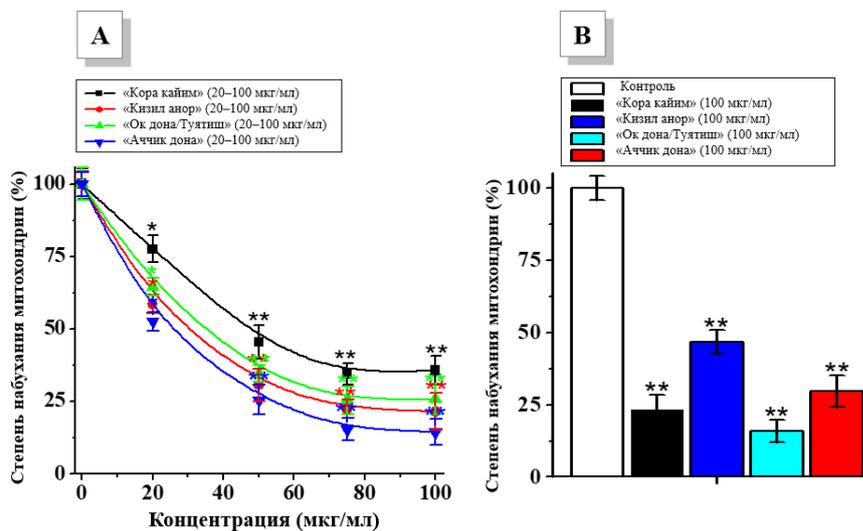


Рис. 3. Влияние экстрактов плода граната сортов (А) «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» при концентрации 20-100 мкг/мл и экстрактов из их кожуры при концентрации 100 мкг/мл (Б) на Ca^{2+} -зависимый мегаканал митохондрии печени крысы (* – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n = 4$).

В этих условиях концентрации экстрактов (20-100 мкг/мл) плода и кожуры отобранных сортов граната замедляли степень проводимости *mPTP*. В частности, при концентрации 100 мкг/мл экстрактов плодов граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» под действием ионов Ca^{2+} (50 мкМ) снижался показатель набухания митохондрий на $64,3 \pm 4,8$; $78,5 \pm 6,4$; $74,2 \pm 5,3$ и $85,6 \pm 4,5\%$ соответственно, по сравнению с контролем (рис. 3А).

Таким образом, экстракты, выделенные из плодов отобранных сортов граната 70% этанолом при концентрации 100 мкг/мл обладают эффективным

ингибирующим действием на набухание митохондрий печени крысы. Выявлено, что экстракты из всех отобранных сортов граната имеют ингибирующее действие на проводимость мембраны митохондрии, однако экстракт плодов граната сорта «Аччик дона» при концентрации 100 мкг/мл действует более эффективно по сравнению с экстрактами остальных сортов.

Влияние экстрактов плодов и кожуры граната на перокисное окисление липидов мембраны митохондрии. В исследованиях в качестве контроля был взят показатель оптической плотности ПОЛ, индуцированная системой Fe^{2+} /аскорбат (100%). Установлено, что при концентрации (20-100 мкг/мл) экстрактов плодов и кожуры граната местных сортов («Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона») понижается показатель ПОЛ (рис. 4А, Б).

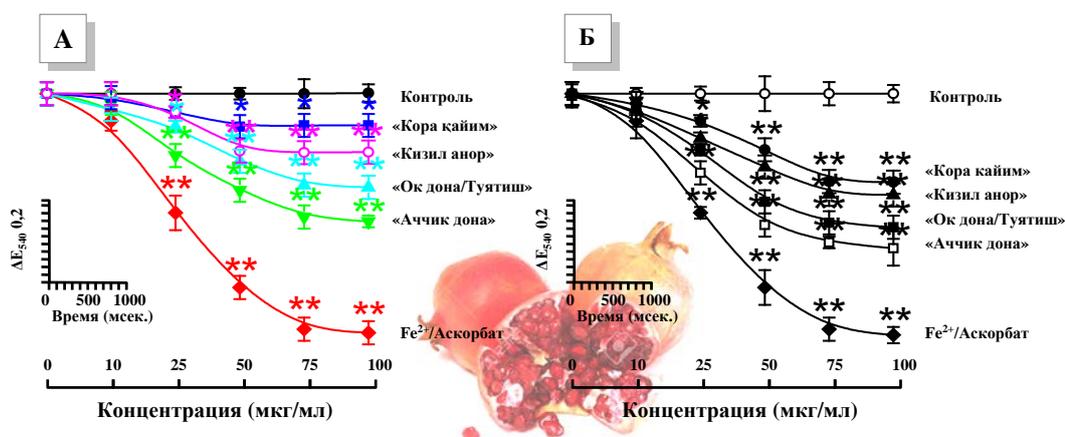


Рис. 4. Влияние экстрактов плодов и кожуры граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» на интенсивность ПОЛ в суспензии митохондрий печени крысы под действием системы Fe^{2+} /аскорбат (* – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n = 3-5$).

В частности, экстракты плодов гранат сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» при концентрации 100 мкг/мл снижают показатель ПОЛ по сравнению с контролем на $86,5 \pm 4,5$; $75,4 \pm 6,2$ %; $46,4 \pm 3,6$ и $60,6 \pm 5,4$ % соответственно (рис. 4А). Экстракты кожуры граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» (концентрация 100 мкг/мл) также снижают показатель ПОЛ по сравнению с контролем на $69,2 \pm 3,5$; $64,6 \pm 4,5$ %; $53,8 \pm 4,7$ и $46,2 \pm 5,5$ % соответственно (рис. 4Б). Полученные результаты свидетельствуют, что экстракты плодов и кожуры граната отобранных сортов обладают ингибирующим действием на процесс ПОЛ мембран митохондрии печени крыс, индуцированной системой Fe^{2+} /аскорбат. Установлено, что экстракт плода и кожуры граната сорта «Кора кайим» при концентрации 100 мкг/мл обладает наибольшей ингибирующей активностью процесса ПОЛ. Для полной достоверности антиоксидантной активности экстрактов плода и кожуры отобранных местных сортов граната мы провели следующие исследования.

Спазмолитическое действие экстракта плодов и кожуры граната на гладкие мышцы кишечника опытных животных в условиях in vitro. В опытах

изучалось влияние экстрактов кожуры граната отобранных местных сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» на перистальтическую функциональную активность гладких мышц кишечника морской свинки в условиях *in vitro* (рис. 5).

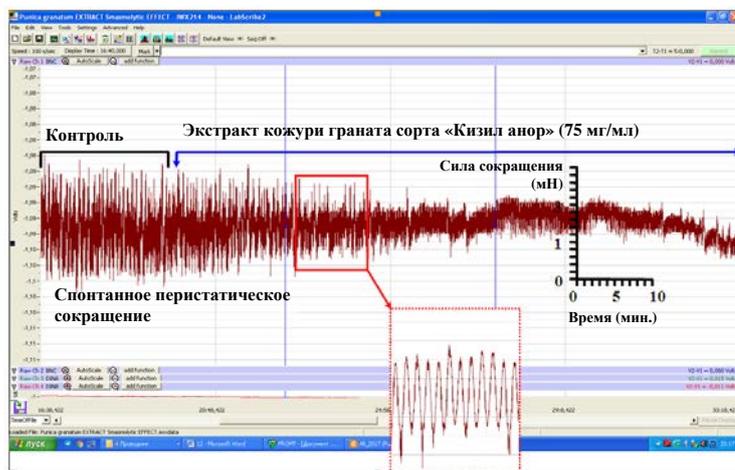


Рис. 5. Спазмолитическое действие экстракта кожуры плода граната (75 мг/мл) сорта «Кизил анор» на перистальтическую сократительную активность гладких мышц кишечника морской свинки (оригинальный эксперимент). Стрелкой обозначено время добавления экстракта в инкубационную среду.

В исследованиях установлено, что экстракты кожур гранатов отобранных сортов при концентрации 75 мг/мл снижают амплитуду перистальтической сократительной активности кишечника морской свинки в изометрических условиях на $81,7 \pm 4,5\%$; $70,2 \pm 3,8\%$; $63,7 \pm 5,4\%$ и $57,3 \pm 4,7\%$ соответственно, по сравнению с контролем (рис. 6А).

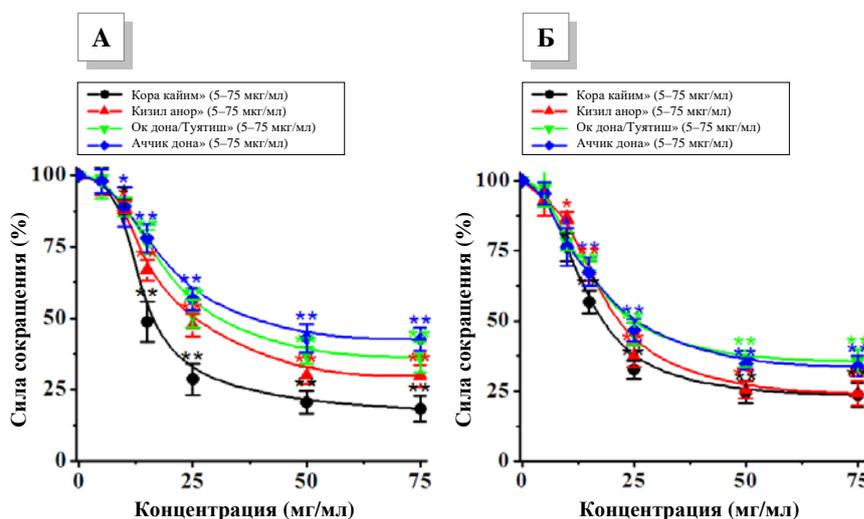


Рис. 6. Спазмолитическое действие экстракта кожуры граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» в концентрации (5-75 мг/мл) на перистальтическую сократительную активность кишечника морской свинки в изометрических условиях, вызванную под действием релаксанта (А) и КСI (60 мМ). ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$; * – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n=3-5$).

На следующем этапе наших исследований, в целях установления достоверности механизма спазмолитического действия экстрактов кожуры плодов граната, изучено их спазмолитическое действие на сократительную активность гладких мышц кишечника морской свинки, вызванную под действием KCl (60 мМ). После стабильного состояния перистальтической функциональной активности кишечного препарата (45-60 минут), в инкубационную среду добавлялся KCl (60 мМ) и установлено максимальное значение сокращения препарата на 100% (контроль). В опытах выявлено, что экстракты кожуры граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» при концентрации 75 мг/мл понижают показатель амплитуды перистальтической сократительной активности кишечника морской свинки в изометрических условиях на $76,4 \pm 5,3\%$; $75,8 \pm 4,4\%$; $64,3 \pm 4,2\%$ и $66,2 \pm 3,8\%$ соответственно, по сравнению с контролем (рис. 6Б).

Влияние экстракта кожуры и плодов граната на потенциал-зависимый Ca^{2+} -каналов гладкой мускулатуры стенки кишечника. Под действием увеличения $[K^+]_{out}$ при добавлении в инкубационную среду KCl (60 мМ) сарколемма гладких мышечных клеток стенки кишечника деполяризуется и увеличивается поток Ca^{2+} ионов в клетки через потенциал-зависимый Ca^{2+} -каналов сарколеммы. Это в свою очередь, повышает $[Ca^{2+}]_{in}$ и активирует рецептор IP_3 -инозитол трифосфата, расположенного на мембране саркоплазматического ретикулума, за счёт усиления выхода Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума через активацию сократительного аппарата фиксируется максимальное повышение силы сокращения мышечного препарата кишечника. При наличии в инкубационной среде специфического блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила (0,01 мкМ) логарифмическая кривая спазмолитического действия экстрактов кожуры граната сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» в параллельном состоянии сдвигается в левую сторону (рис. 7).

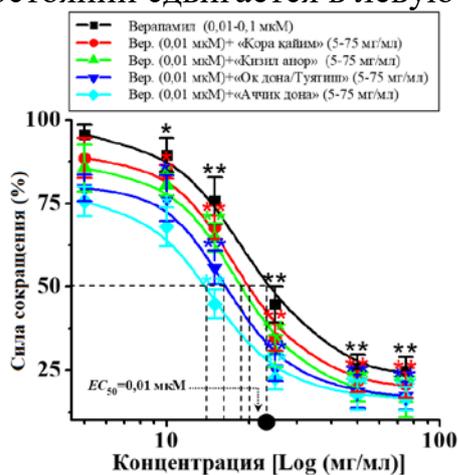


Рис. 7. Релаксантное действие экстрактов кожуры граната (5-75 мг/мл) сортов «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)», «Аччик дона» на сократительную активность кишечника морской свинки, вызванной под действием KCl (60 мМ), при наличии в инкубационной среде специфического блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила (0,01 мкМ) ($t = +36 \pm 0,5^\circ\text{C}$; * – по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; $n = 3-4$).

Полученные результаты ещё раз доказывают спазмолитическое действие экстрактов кожуры плодов граната (5-75 мг/мл) отобранных местных сортов на сократительную активность гладкой мышцы кишечника морской свинки, вызванную под действием KCl (60 мМ), посредством понижения активности Ca²⁺-каналов мышечных клеток стенки кишечника. Результаты проведённых исследований доказывают высокие возможности использования кожуры плодов граната при производстве фармакологических лекарственных средств против поноса.

Рекомендуется использовать кожуру граната, образующегося в больших количествах, как вторичные отходы пищевой промышленности, в качестве сырья для фармацевтической промышленности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разъяснены оптимальные условия биотехнологического (*in vitro*) размножения местных сортов граната (*Punica granatum* L.) «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона», а также максимальная стимуляционная концентрация фитогормонов в питательной среде.

2. Рекомендована оптимальная комбинация состава питательной среды Мурасиге-Скуга для высокой интенсивности процессов ризогенез/органогенез в экспланте меристемной ткани граната в условиях *in vitro*.

3. Проявляется, что удельная плотность (г/дм²) листовой пластинки саженцев граната, выращенных в условиях *in vitro*, в первые сутки (1-сутки) в начальный период адаптации к естественным почвенным условиям статистически достоверно была низкой, а также происходит динамика изменения концентрации β-каротиноидов и хлорофилла (*a*, *b*) в листьях.

4. В составе плодов и кожуры местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона», выращенных в условиях Сырдарьинской области, выявлено наличие витаминов (А, В, С, Е), макро (К, Са, Mg, Na, P) и микроэлементов (Fe, Mn, Zn, Cu, Se).

5. Снижение показателя набухания в суспензии митохондрии печени крыс в условиях *in vitro* под действием экстрактов (100 мкг/мл) плода и кожуры местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» разъясняется ингибированием (*mPTP*) проводимости Ca²⁺ зависимого мегаканала.

6. Под действием системы Fe²⁺/аскорбат экстракты плодов и кожуры граната снижают интенсивность ПОЛ мембраны митохондрий, а на основе понижения количества продукта процесса перекисного окисления МДА проявляется антиоксидантная активность.

7. Спазмолитическое действие экстрактов (5-75 мг/мл) плодов и кожуры местных сортов граната «Кора кайим», «Кизил анор», «Ок дона (Туятиш)» и «Аччик дона» на сократительную активность гладкой мышцы кишечника опытных животных, вызванную под воздействием KCl (60 мМ), характеризуется блокадой Ca²⁺-каналов в клетках мышц.

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
PhD.03/30.12.2019.B.72.02 UNDER BUKHARA STATE UNIVERSITY**

GULISTAN STATE UNIVERSITY

ERGASHEVA FAROGAT SHERALIEVNA

**PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL, PHARMACOLOGICAL
PROPERTIES OF LOCAL VARIETIES OF POMEGRANATE (*PUNICA
GRANATUM* L.) AND THEIR PERSPECTIVES OF MICROCLONATING**

**03.00.07 – Plant physiology and biochemistry
03.00.08 – Human and animal physiology**

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

Bukhara – 2020

The dissertation of PhD Has been registered with number B2019.3.PhD/B368 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Gulistan State University.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian and English) on the website of the Scientific Council (www.buxdu.uz) on the website of «ZiyoNet» information–educational portal (www.ziynet.uz)

Scientific supervisor:

Khushiev Habibjon

doctor of biological sciences, professor

Khushmatov Shunqor Sadullayevich

doctor of biological sciences

Official opponents:

Matchanov Azat Taubaldievich

doctor of biological sciences, professor

Kurbanbaev Ilxam DJumanazarovich

doctor of biological sciences

Leading organization:

Tashkent State Agrarian University

Defense will take place on «12 july» 2020 year 10⁰⁰ at the meeting of the Scientific council PhD.03/30.12.2019.B.72.02 of the Bukhara State University at the following address (Address: 200117, M. Iqbol st. 11, Bukhara city) Tel: (+99865) 221-29-14; fax: (+99865) 221-26-12, e-mail: bsu_info@edu.uz).

The dissertation has been registered at the is Information Resource Center of the Bukhara State University (registered by № 3) Address: 200117, M. Iqbol st. 11, Bukhara city. Conference room of Bukhara State University. Tel.: (+99865) 221-29-14, fax: (+99865) 221-26-12. Abstract of the dissertation was distributed on «29 may» 2020. (protocol at the register № 3 dated 29.05 2020).

The abstract of the dissertation has been distributed on «29» may 2020
(Protocol at the register № 3 dated «29» may 2020)



A.E.Kholliyev

Chairman of the scientific council
doctor of biological sciences, docent

H.E.Rashidov

Scientific secretary of the scientific council
candidate of biological sciences, docent

S.B.Bakhoyev

Chairman of the scientific seminar under
the scientific council
doctor of biological sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the research work is to characterize the physiological, biochemical, pharmacological properties and prospects of microcloning of some local varieties of pomegranate (*Punica granatum* L.).

The objects of the research work is the local varieties of pomegranate «Kora kayim», «Kizil anor», «Ok dona (Tuyatish)» and «Achchik dona» grown on the territory of the Syrdarya region, mature white rats, guinea pigs, mitochondria, preparation of smooth muscles of the small intestine, fruit extracts and pomegranate peels.

The scientific novelty of the research work is as follows:

for the first time, optimal conditions for biotechnological reproduction (*in vitro*) of local varieties of pomegranate «Kora kayim», «Kizil anor», «Ok dona (Tuyatish)» and «Achchik dona», grown in the Sirdarya region, were developed, and the maximum stimulation concentrations and optimal ratio of phytohormones in the nutrient medium were determined;

optimal conditions for the composition of the nutrient medium during microcloning of selected local varieties of pomegranate were determined;

when transplanting to soil conditions using the method of microcloning of pomegranate seedlings *in vitro*, as well as on the basis of changes in the number of photosynthetic pigments, the dynamics of adaptation was determined;

the biochemical composition of the fruit and rind of local varieties of pomegranate «Kora kayim», «Kizil anor», «Ok dona (Tuyatish)» and «Achchik dona» was determined»;

the antioxidant and antispasmodic properties of the fruit extract and the peel of selected local pomegranate varieties were determined *in vitro*.

Implementation of research results. Some local pomegranates (*Punica granatum* L) on the basis of scientific results obtained on the description of the physiological, biochemical, pharmacological properties and prospects of the microclimate of varieties:

based on the analysis of the amount of identified vitamins, macro- and microelements for the organization of plantations from pathogenic seedlings of pomegranate varieties grown *in vitro*, and the content of pomegranate juice in packages of natural pomegranate juice, the production cooperative «Dehkanabad original pomegranate» was put into operation (reference of the Ministry of economy and industry of the Republic of Uzbekistan No. 6-3-1/20-3275 dated December 12, 2019). As a result, the demand for natural pomegranate juice products produced by the cooperative in the domestic and foreign markets is growing;

in vitro conditions, explants of pomegranate leaves form a callus in culture, rhizogenesis the intensity of organogenesis processes, the composition of the nutrient medium, the dependence on the types and combinations of biological stimulants technology for obtaining tablets Glyceram «IK-2011-1/1», in the scientific project «Organization of production of experimental batch of» dark plant root extract sugar cane technical glycyrrhizic acid 80% kg glycyrrhizin is used to

obtain a sufficient number of monoammonium salt and purity control glicerina substance by high performance liquid chromatography (reference Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan from December 24, 2019 No. 4/1255-3329). The result allowed us to determine the main technological parameters of the substance «Glyceram» to create a temporary Pharmacopoeia;

based on the development of an optimal technology for growing local varieties of pomegranate in vitro using a biotechnological method, the scientific project number IC-2011-1/1 «Technology for obtaining glyceram tablets and organization of production of an experimental batch» was used to determine the strength, solubility and shelf life of the substance «Glyceram» (reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated December 24, 2019 4/1255-3329). The result has allowed to develop the composition of the tablets «Glyciram».

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of introduction, four chapters, conclusion and list of publication. The volume is 111 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Эргашева Ф.Ш., Собирова М., Қўшиев Ҳ.Ҳ., Холмурадов Э.Г., Насирова Г.Б. *In vitro* шароитида анорнинг (*Punica granatum* L.) соматик тўқималарини вегетатив ўстириш ва культуралаш // Ўзбекистон Аграр фани хабарномаси. – 2017. – №3(69). – 21-25-б. (03.00.00, №8).

2. Ergasheva F.Sh., Sherbaeva M.Q., Khushmatov Sh.S., Kushiev Kh.Kh. Preserving of samples of pomigranate sorts *in vitro* conditions // European science review («East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH, Vienna, Austria). – 2018. – #.9-10. – V.1. – P.61-66 (Global Impact Factor; GIF – 1,26).

3. Ergasheva F.Sh., Kushiev Kh.Kh., Matchanov A.D., Ishimov U.T., Khushmatov Sh.S., Pozilov K.M. Identification of chemical content of fruit and peel's extract of some varieties' of pomegranate (*Punica granatum* L.) // Int. J. Curr. Microbiol and App. Sci. – 2019. – V.8(5). – P.734-742 (03.00.00, №25).

4. Эргашева Ф.Ш., Позиллов М.К., Хушматов Ш.С. Анор (*Punica granatum* L.) меваси ва пўсти экстрактининг антиоксидант фаоллиги // Инфекция, иммунитет ва фармакология. – Тошкент, 2019. – №3. – 117-125-б. (03.00.00, №7).

5. Эргашева Ф.Ш., Позиллов М.К., Хушматов Ш.С., Қўшиев Ҳ.Ҳ. Айрим маҳаллий анор навлари (*Punica granatum* L.) меваси ва пўсти экстрактининг жигар митохондрияси ион-транспорт тизимларига таъсири // ГулДУ ахборотномаси. – 2019. – №3. – 8-13-б. (03.00.00, №3).

II бўлим (II часть; II part)

6. Ergasheva F.Sh., Kushiev Kh.Kh., Matchanov A.D., Ishimov U.T., Khushmatov Sh.S. Chemical analysis of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit and peel's extract // Materials of the International Conference «Scientific research of the SCO countries: synergy and integration». – Reports in English. Part 1. (March 26, 2019. Beijing, PRC). – P.85-88.

7. Ergasheva F.Sh., Kushiev Kh.Kh., Khushmatov Sh.S., Matchanov A.D. Analysis chemical composition and relaxant effects of extract of fruit peel some local varieties pomegranate (*Punica* L.) // Congress Abstract Book «1st International Congress of The Turkic World on Health and Natural Sciences». – Kyrgyzstan–Turkey (Osh/Kyrgyzstan). – 2019. – P.45.

8. Эргашева Ф.Ш., Қўшиев Ҳ.Ҳ. Анорни (*Punica granatum* L.) *in vitro* усулда кўпайтиришда глицирризин кислотаси тузларининг таъсири // «Табий бирикмалар асосида дори воситалар» халқаро илмий анжуманининг тезислар тўплами. – Тошкент, 2018. – 114-115-б.

9. Эргашева Ф., Абдушукурова Г., Каримова Д., Қўшиев Ҳ.Ҳ.

Анорнинг (*Punica granatum* L.) маҳаллий шароитга мос биотехнологик коллекциясини яратиш // Проф. Д.Н.Долимовнинг 70 йиллигига бағишланган «Табиий бирикмалардан қишлоқ хўжалигида фойдаланиш истиқболлари» Республика илмий-амалий анжумани (хорижий мутахасислар иштирокида) материаллари. – Гулистон, 2018. – 239-241-б.

10. Ergasheva F.Sh., Kushiev Kh.Kh. The effect of glycyrrhizic acid salts on the cultivation of pomegranate (*Punica granatum* L.) by *in vitro* method // «Extremophiles: From biology to biotechnology» International Summer course. Tashkent. – 2018. – P.25.

11. Эргашева Ф.Ш., Набиева Ш.У., Орифова М.К., Ҳожибобоева С.Ҳ., Қўшиев Ҳ.Ҳ. Анор (*Punica granatum* L.) нинг физиологик белгилари ўртасидаги ўзаро боғлиқлик кўрсаткичлари // «Озиқ-овқат саноатига инновацион технологияларни тадбиқ этишнинг долзарб масалалари» Республика илмий-амалий конференцияси материаллари тўплами. – Гулистон, 2019. – 53-55-б.

12. Эргашева Ф.Ш., Набиева Ш. Анор (*Punica granatum* L.) ни *in vitro* шароитида кўпайтиришда ауксинларнинг таъсири // «Озиқ-овқат саноатига инновацион технологияларни тадбиқ этишнинг долзарб масалалари» Республика илмий-амалий конференцияси материаллари тўплами. – Гулистон, 2019. – 68-69-б.

Автореферат Гулистон давлат университетининг «ГулДУ Ахборотномаси»
журналида 2020 йил 14 мартда тахрирдан ўтказилган.

Босишга рухсат этилди: 26.05.2020 йил
Бичими 60×84 1/16. «Times New Roman»
Гарнитурда рақамли усулда чоп этилди.
Шартли босма тобоғи 3. Адади 100. Буюртма №68

«Sadriiddin Salim Vuxoriy» MChJ босмахонасида чоп этилди.
Бухоро шаҳри, М.Иқбол кўчаси, 11-уй.