

**SKUMPIYA (*Cotinus coggygia* Scop.) O‘SIMLIGINI IN VITRO SHAROITIDA
MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH TEXNOLOGIYASINI TAKOMILLASHTIRISH****J.G. Temirov**O‘rmon xo‘jaligi ilmiy-tadqiqot instituti, E-mail: jgtemirov@mail.ru**N.X. Jo‘rayeva**

O‘rmon xo‘jaligi ilmiy-tadqiqot instituti

E-mail: nargizajorayeva2124@.com**D.B. Abdullayeva**O‘rmon xo‘jaligi ilmiy-tadqiqot instituti, E-mail: adilorom281@gmail.com

Annotatsiya. Respublikamizda “Yashil makon” umummilliy loyihasi doirasida manzarali daraxt va buta o‘simliklarini qisqa muddatda ko‘paytirish dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi. Mazkur tadqiqotda *Cotinus coggygia* Scop. turini in vitro sharoitida mikroklonal ko‘paytirishning samarali texnologiyasini ishlab chiqish maqsadida sterilizatsiya rejimlari hamda oziqa muhitlari o‘rganildi. Tadqiqot davomida NaOCl ning 0,3; 0,5 va 0,7 % konsentratsiyalari 10, 15 va 20 daqiqalik ekspozitsiya bilan sinovdan o‘tkazildi. Eksplantlarning rivojlanishi Murashige and Skoog (MS), Driver va Kuniyuki (DKW) hamda Woody Plant Medium (WPM) oziqa muhitlarida baholandi.

Natijalarga ko‘ra, 0,5 % NaOCl eritmasida 10 daqiqa sterilizatsiya qilish 88 % steril va yashovchan eksplant olish imkonini berdi. Oziqa muhitlari orasida MS + 1,0 mg/l BAP varianti novda hosil bo‘lishi, poya uzunligi hamda mikroko‘paytirish koeffitsienti bo‘yicha eng yuqori natijalarni qayd etdi. Tadqiqot natijalari *C. coggygia* ni ommaviy mikroklonal ko‘paytirish texnologiyasini ishlab chiqish hamda manzarali ko‘chatlar ishlab chiqarishga joriy etish imkonini beradi.

Kalit so‘zlar: *Cotinus coggygia*, in vitro, mikroklonal ko‘paytirish, sterilizatsiya, NaOCl, MS oziqa muhiti, BAP.

Abstract. Within the framework of the nationwide “Yashil Makon” (Green Nation) initiative implemented in the Republic of Uzbekistan, the rapid propagation of ornamental tree and shrub species has become one of the priority tasks. The present study aimed to develop an efficient in vitro micropropagation protocol for *Cotinus coggygia* Scop. by optimizing surface sterilization regimes and culture media. During the experiment, sodium hypochlorite (NaOCl) solutions at concentrations of 0.3%, 0.5%, and 0.7% were evaluated with exposure times of 10, 15, and 20 minutes. The growth and development of explants were assessed on Murashige and Skoog (MS), Driver and Kuniyuki Walnut (DKW), and Woody Plant Medium (WPM) culture media.

The results demonstrated that surface sterilization with 0.5% NaOCl for 10 minutes provided the highest percentage of sterile and viable explants (88%). Among the culture media tested, MS medium supplemented with 1.0 mg L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP) produced the best performance in terms of shoot induction, shoot length, and multiplication coefficient. The findings of this study provide a reliable protocol for the large-scale in vitro micropropagation of *C. coggygia* and offer practical prospects for its commercial production as an ornamental planting material.

Keywords: *Cotinus coggygia*; in vitro culture; micropropagation; surface sterilization; sodium hypochlorite (NaOCl); Murashige and Skoog (MS) medium; 6-benzylaminopurine (BAP).

Аннотация. В рамках общенационального проекта Республики Узбекистан «Яшил макон» («Зелёная страна») ускоренное размножение декоративных древесных и кустарниковых растений является одной из актуальных задач. Целью настоящего исследования была разработка эффективной технологии микроклонального размножения *Cotinus coggygia* Scop. in vitro путём оптимизации режимов стерилизации и состава питательных сред. В ходе исследования были испытаны растворы гипохлорита натрия (NaOCl) с концентрациями 0,3; 0,5 и 0,7 % при экспозиции 10, 15 и 20 минут. Рост и развитие эксплантов оценивали на питательных средах Murashige и Skoog (MS), Driver и Kuniyuki (DKW) и Woody Plant Medium (WPM).

Полученные результаты показали, что стерилизация в 0,5 % растворе NaOCl в течение 10 минут обеспечила наибольший выход стерильных и жизнеспособных эксплантов (88 %). Среди исследованных питательных сред наилучшие показатели по индукции побегов, длине побегов и коэффициенту микроразмножения были получены на среде MS, дополненной 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (BAP). Полученные результаты могут служить научной основой для разработки технологии массового микроклонального размножения *C. coggygia* и её внедрения в промышленное производство декоративного посадочного материала.

Ключевые слова: *Cotinus coggygia*; in vitro; микроклональное размножение; стерилизация; гипохлорит натрия (NaOCl); питательная среда MS; 6-бензиламинопурина (BAP).

Kirish. So‘nggi yillarda global iqlim o‘zgarishi, urbanizatsiya va antropogen bosimning ortishi yashil hududlarni kengaytirish zaruratini yanada kuchaytirmoqda. Shu sababli manzarali daraxt va buta o‘simliklarini ko‘paytirishning zamonaviy biotexnologik usullariga ehtiyoj ortmoqda.

Skumpiya (*Cotinus coggygia* Scop.) *Anacardiaceae* oilasiga mansub barg to‘kuvchi manzarali buta bo‘lib, Yevropa, Kavkaz va Markaziy Osiyoda keng tarqalgan. O‘simlikning asosiy afzalliklari quyidagilardan iborat:

- yuqori dekorativlik;
- qurg‘oqchilikka chidamlilik;
- sho‘rlanishga nisbatan barqarorlik;
- atmosfera ifloslanishiga chidamlilik;
- eroziyaga qarshi himoya xususiyatini o‘z ichiga oladi.

An‘anaviy urug‘ orqali ko‘paytirishda urug‘larning unuvchanligi past bo‘lib, vegetativ usullarda ildiz hosil qilish darajasi ham yuqori emas. Shu sababli mikroklonal ko‘paytirish qisqa muddat ichida genetik jihatdan bir xil, sog‘lom ko‘chatlarni olish imkonini beradi.

Mikroko‘paytirishning muvaffaqiyati ikki asosiy omilga bog‘liq:

- eksplantlarni samarali sterilizatsiya qilish;
- optimal oziqa muhitini tanlash.

Shuning uchun mazkur tadqiqotda ushbu ikki omilning *Cotinus coggygria* regeneratsiyasiga ta‘siri baholandi.

TADQIQOT MATERIALI VA USULLARI

Tadqiqot obyekti sifatida vegetatsiya davrida yig‘ilgan sog‘lom skumpiya (*Cotinus coggygria* Scop.) o‘simligining yog‘ochlanmagan yosh novdalari ishlatildi. In vitro kulturaga kiritish uchun apikal va yon kurtaklardan olingan eksplantlar tanlab olindi. Eksplantlar laboratoriyaga olib kelingandan so‘ng barg va mexanik iflosliklardan tozalandi hamda sterilizatsiyaga tayyorlandi.

Eksplantlarni sterilizatsiya qilish

Eksplantlarni sterilizatsiya qilish bir necha bosqichda amalga oshirildi. Dastlab ular oqar suv ostida 30 daqiqa davomida yuvilib, yuzaki chang va mikroorganizmlardan tozalandi. Keyinchalik laminar-boks sharoitida 70 % etanol eritmasida 30 soniya davomida ishlov berildi. Shundan so‘ng eksplantlar natriy gipoxlorit (NaOCl) eritmalarining uch xil konsentratsiyasida (0,3; 0,5 va 0,7 %) sterilizatsiya qilindi. Har bir konsentratsiya uchun 10, 15 va 20 daqiqalik ekspozitsiya vaqtlari sinovdan o‘tkazildi.

Sterilizatsiya yakunlangach, eksplantlarda dezinfeksiyalovchi modda qoldiqlarini bartaraf etish maqsadida ular steril distirllangan suv bilan uch marta yuvildi. Sterilizatsiya samaradorligi kontaminatsiya darajasi va eksplantlarning tirik qolish foizi bo‘yicha baholandi (1-jadval).

Oziqa muhitlari

Eksplantlarni in-vitro kulturaga kiritish va ko‘paytirish uchun uch xil bazaviy oziqa muhiti qo‘llanildi: Murashige and Skoog (MS), Driver and Kuniyuki Walnut (DKW) hamda Woody Plant Medium (WPM). Barcha muhitlar tarkibiga 30 g/l saxaroza uglevod manbai sifatida va 7 g/l agar qattiqlashtiruvchi modda sifatida qo‘shildi. Muhitning kislotalilik darajasi avtoklavlashdan oldin pH $5,8 \pm 0,02$ ga keltirildi. Tayyorlangan oziqa muhitlari 121 °C haroratda, 1,1 atm bosim ostida 20 daqiqa davomida avtoklavda sterilizatsiya qilindi.

Fitogormonlar bilan ishlov berish

Eksplantlarni ko‘paytirish bosqichida sitokinin sifatida 6-benzilaminopurin (BAP) ning 0,5; 1,0 va 2,0 mg/L konsentratsiyalari qo‘llanildi. Auksin sifatida α -naftilsirka kislotasi (NAA) ning 0,1 mg/L konsentratsiyasidan foydalanildi. Fitogormonlarning turli kombinatsiyalarida kurtak hosil bo‘lishi, yangi novdalar soni va ularning o‘sish ko‘rsatkichlari baholandi.

Kultivatsiya sharoiti

Eksplantlar klimatik kamerada standart in-vitro sharoitlarda o‘stirildi. Kultivatsiya davomida harorat 24 ± 2 °C, fotoperiod 16 soat yorug‘lik / 8 soat qorong‘ilik rejimida saqlandi. Yorug‘lik intensivligi LED lampalar yordamida 2500 luks darajasida ta‘minlandi. Subkulturalash har 4 hafta oralig‘ida amalga oshirildi.

Tajriba sxemasi va baholash mezonlari

Sterilizatsiya tajribasi 3 × 3 faktorli sxema asosida tashkil etildi:

A omil – NaOCl konsentratsiyasi (0,3; 0,5; 0,7 %);

B omil – sterilizatsiya davomiyligi (10; 15; 20 daqiqa).

Har bir variant uch takrorlanishda o‘tkazildi va har bir takrorlanishda kamida 10 ta eksplant ishlatildi.

Quyidagi ko‘rsatkichlar baholandi:

kontaminatsiyalangan eksplantlar ulushi (%);

steril saqlanib qolgan eksplantlar ulushi (%);

yashovchan eksplantlar ulushi (%);

kurtak hosil bo‘lish foizi (%);

bitta eksplantga to‘g‘ri keladigan yangi novdalar soni;

novdalarining o'rtacha uzunligi (sm) aniqlandi.

TADQIQOT NATIJALARI

3.1. NaOCl eritmasining turli konsentratsiyalari va ekspozitsiya vaqtining eksplantlarni sterilizatsiya qilish samaradorligiga ta'siri

Sterilizatsiya jarayonida NaOCl eritmasining konsentratsiyasi hamda ekspozitsiya vaqti eksplantlarning kontaminatsiyalanish va yashovchanlik ko'rsatkichlariga sezilarli ta'sir ko'rsatdi ($P < 0,05$). Oqartiruvchi eritma konsentratsiyasi oshishi bilan kontaminatsiya kamaygan bo'lsada, yuqori konsentratsiya va uzoq ekspozitsiya eksplant to'qimalarining zararlanishiga olib keldi.

1-jadval

NaOCl eritmasining sterilizatsiya samaradorligiga ta'siri

NaOCl (%)	Ekspozitsiya (daq.)	Kontaminatsiya (%)	Steril eksplant (%)	Yashovchanlik (%)
0.3	10	43.3±2.9	56.7±2.9	93.3±2.4
0.3	15	30.0±2.0	70.0±2.0	91.1±2.1
0.3	20	20.0±1.7	80.0±1.7	86.7±2.4
0.5	10	16.7±1.2	83.3±1.2	93.3±1.8
0.5	15	6.7±1.2	93.3±1.2	90.0±2.0
0.5	20	5.6±1.1	94.4±1.1	83.3±2.6
0.7	10	10.0±1.5	90.0±1.5	84.4±2.3
0.7	15	5.0±1.0	95.0±1.0	77.8±2.5
0.7	20	3.3±1.2	96.7±1.2	70.0±3.3

Jadvaldan ko'rinadiki, 0,3 % NaOCl eritmasi kontaminatsiyani yetarli darajada kamaytirmadi. Oqartiruvchi eritma konsentratsiyasi 0,5 % gacha oshirilganda steril eksplantlar soni keskin ortdi. Ayniqsa, 0,5 % NaOCl eritmasida 15 daqiqa davomida ishlov berish eng maqbul natijani berdi. Ushbu variantda kontaminatsiya atigi 6,7 %, steril eksplantlar 93,3 %, yashovchanlik esa 90 % ni tashkil etdi.

0,7 % NaOCl eritmasida kontaminatsiya minimal bo'lgan bo'lsada, eksplantlarning yashovchanligi sezilarli darajada pasaydi. Bu esa yuqori konsentratsiyadagi natriy gipoxloritning fitotoksik ta'siri bilan izohlanadi.

3.2. Turli oziqa muhitlarining mikroko'paytirishga ta'siri

Turli bazaviy oziqa muhitlari skumpiya eksplantlarining regeneratsiya ko'rsatkichlariga turlicha ta'sir ko'rsatdi (2-jadval).

2-jadval. Bazaviy oziqa muhitlarining regeneratsiyaga ta'siri

Oziqa muhiti	Yashovchanlik (%)	Kurtak hosil bo'lish (%)	Novdalar soni (dona)	Novda uzunligi (sm)
MS	91.1±2.1	88.9±2.4	3.8±0.2	3.4±0.2
DKW	86.7±2.3	82.2±2.7	3.1±0.2	2.9±0.2
WPM	82.2±2.5	75.6±3.1	2.6±0.2	2.5±0.1

Jadval natijalari shuni ko'rsatdiki, MS oziqa muhiti barcha ko'rsatkichlar bo'yicha boshqa muhitlardan ustun bo'ldi. Ushbu muhitda yashovchanlik 91,1 %, kurtak hosil bo'lish 88,9 %, bitta eksplantdan hosil bo'lgan yangi novdalar soni 3,8 dona, novdalarining o'rtacha uzunligi esa 3,4 sm ni tashkil etdi.



1-rasm. Skumpiya o'simligi uchun turli xil variantlarda ozuqa muhitlarini tayyorlash jarayoni

DKW muhitida regeneratsiya ko'rsatkichlari MS muhitiga nisbatan biroz past bo'lgan bo'lsa, WPM muhitida o'sish ko'rsatkichlari eng past qiymatlarni qayd etdi.

3.3. BAP konsentratsiyasining mikroko'paytirishga ta'siri

BAP va NAA kombinatsiyalarining kurtak hosil bo'lishiga ta'siri statistik jihatdan ishonchli farq qildi ($P < 0,05$).

3-jadval

Fitogormonlarning regeneratsiya ko'rsatkichlariga ta'siri

BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Kurtak hosil bo'lish (%)	Novdalar soni	Novda uzunligi (sm)
0.5	0.1	76.7±2.8	2.5±0.2	3.8±0.2
1.0	0.1	93.3±1.8	4.8±0.3	4.1±0.2
2.0	0.1	91.1±2.1	5.1±0.3	3.0±0.2

Eng yuqori regeneratsiya ko'rsatkichlari 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA kombinatsiyasida kuzatildi. Ushbu variantda kurtak hosil bo'lish 93,3 %, yangi novdalar soni 4,8 dona, novdalarning o'rtacha uzunligi 4,1 sm ni tashkil etdi.

BAP konsentratsiyasi 2,0 mg/l gacha oshirilganda novdalar soni biroz ortgan bo'lsada, novdalarning uzunligi qisqardi hamda kallus hosil bo'lish holatlari kuzatildi. Bu yuqori sitokinin konsentratsiyasining morfogeneza salbiy ta'sir ko'rsatishini bildiradi (3-jadval).

3.4. Optimal in-vitro ko'paytirish sharoitlari

Olingan natijalar asosida skumpiyani in-vitro ko'paytirishning optimal texnologik sxemasi aniqlandi.

Optimal in vitro ko'paytirish sharoiti

Ko'rsatkich	Optimal variant
Sterilizatsiya	0,5 % NaOCl – 15 daqiqa
Oziqa muhiti	MS
BAP	1,0 mg/L
NAA	0,1 mg/L
Harorat	24±2°C
Fotoperiod	16/8 soat
Yorug'lik	2500 luks

Mazkur sharoitlarda eksplantlarning 93,3 % steril, 90,0 % yashovchan, 93,3 % kurtak hosil qiluvchi ekanligi aniqlandi. Bitta eksplantndan o'rtacha 4,8 ta yangi novda hosil bo'lib, ularning uzunligi 4,1 sm ni tashkil etdi (4-jadval).

Xulosa. Skumpiya eksplantlarini sterilizatsiya qilishda 0,5 % NaOCl eritmasida 15 daqiqa ishlov berish eng maqbul variant bo'lib, bunda 93,3 % steril eksplant va 90,0 % yashovchanlik ko'rsatkichlariga erishildi.

Bazaviy oziqa muhitlari ichida Murashige va Skoog (MS) muhiti skumpiya eksplantlarining regeneratsiyasi uchun eng samarali muhit bo'lib, kurtak hosil bo'lish (88,9 %), novdalar soni (3,8 dona) va novda uzunligi (3,4 sm) bo'yicha eng yuqori natijalarni ta'minladi.

Fitogormonlar orasida 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA kombinatsiyasi optimal deb topildi. Ushbu variantda kurtak hosil bo'lish 93,3 %ni tashkil etdi, bitta eksplantndan o'rtacha 4,8 ta yangi novda hosil bo'ldi va novdalarning o'rtacha uzunligi 4,1 smni tashkil etdi.

BAP konsentratsiyasining 2,0 mg/l gacha oshirilishi novdalar sonini biroz ko'paytirgan bo'lsada, kallus hosil bo'lishi va novdalarning qisqarishiga olib kelgani sababli amaliy mikroko'paytirishda tavsiya etilmaydi.

Tadqiqot natijasida skumpiyani in-vitro sharoitida ommaviy mikroklonal ko'paytirish uchun 0,5 % NaOCl (15 daqiqa) → MS oziqa muhiti → 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA → 24±2 °C, 16/8 soat fotoperiod va 2500 luks yorug'lik ketma-ketligiga asoslangan optimal texnologik sxema ishlab chiqildi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Begon M., Townsend C.R., Harper J.L. Ecology: From Individuals to Ecosystems. – 4th ed. – Oxford: Blackwell Publishing, 2006. – 738 p.
2. Benson E.E. In Vitro Plant Recalcitrance // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. – 2000. – Vol. 36. – P. 141–148.
3. Berdiyev E.T., Saloxiddinov G.M., Turdiyev S.A. O'rmon tuzish: o'quv qo'llanma. – Toshkent: ToshDAU tahririyat-nashriyot bo'limi, 2016. – 155 b.
4. Beydeman I.N. Uchebno-metodicheskiy kompleks distsipliny «Metody fenomonitoringa»: kurs lektsiy. – Yekaterinburg, 2008.
5. Bonga J.M., Aderkas P.V. In Vitro Culture of Trees. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1992. – 236 p.
6. Debnath S.C., da Silva J.A.T. Micropropagation of berry crops // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2007. – Vol. 91. – P. 1–17.
7. Dospexov B.A. Metodika polevogo opyta. – 5-e izd., pererab. i dop. – Moskva: Agropromizdat, 2011. – 351 s.
8. Driver J.A., Kuniyuki A.H. In vitro propagation of Paradox walnut rootstock // HortScience. – 1984. – Vol. 19. – P. 507–509.
9. George E.F., Hall M.A., De Klerk G.J. Plant Propagation by Tissue Culture. – 3rd ed. – Dordrecht: Springer, 2008. – 501 p.

10. Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel by use of shoot-tip culture // Proceedings of the International Plant Propagators' Society. – 1980. – Vol. 30. – P. 421–427.
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.
12. Rout G.R., Mohapatra A., Jain S.M. Tissue culture of ornamental pot plant // Biotechnology Advances. – 2006. – Vol. 24. – P. 531–560.
13. Thorpe T.A. History of plant tissue culture // Molecular Biotechnology. – 2007. – Vol. 37. – P. 169–180.
14. Trigiano R.N., Gray D.J. Plant Tissue Culture, Development and Biotechnology. – Boca Raton: CRC Press, 2016. – 608 p.
15. Xonazarov A.A. O‘zbekistonda o‘rmonzorlar barpo qilish asoslari. – Toshkent, 2002. – 48 b.