

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DS.27.06.2017.К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

АСРОРОВ АКМАЛ МАЖИТОВИЧ

**КЎСАК ҚУРТИГА ҚАРШИ КЕНГ ҚЎЛЛАНИЛУВЧИ
ИНСЕКТИЦИДЛАРНИНГ ҒЎЗАДАГИ БАЪЗИ ФАОЛ БИРИКМАЛАР
БИОСИНТЕЗИГА ТАЪСИРИ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

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

Тошкент - 2018

**Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси
автореферати мундарижаси**
**Оглавление автореферата диссертации доктора философии по
химическим наукам**
**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD) on
chemical sciences**

Асроров Акмал Мажитович

Кўсак қуртига қарши кенг қўлланилувчи инсектицидларнинг ғўзадаги баъзи
фаол бирикмалар биосинтезига таъсири3

Асроров Акмал Мажитович

Действие широко применяемых инсектицидов против хлопковой совки на
биосинтез некоторых активных соединений хлопчатника.....21

Asrorov Akmal Majitovich

Effects of insecticides, widely used against cotton bollworm, on biosynthesis of
some active compounds in cotton plant.....38

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works.....41

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ**

DS.27.06.2017.К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

АСРОРОВ АКМАЛ МАЖИТОВИЧ

**КЎСАК ҚУРТИГА ҚАРШИ КЕНГ ҚЎЛЛАНИЛУВЧИ
ИНСЕКТИЦИДЛАРНИНГ ҒЎЗАДАГИ БАЪЗИ ФАОЛ БИРИКМАЛАР
БИОСИНТЕЗИГА ТАЪСИРИ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

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

Тошкент - 2018

Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2018.1.PhD/K88 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси www.biochem.uz ва «ZiyoNet» Ахборот таълим тармоғида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Салихов Шавкат Исмаилович
биология фанлари доктори, академик

Расмий оппонентлар:

Рамазанов Нурмурод Шералиевич
кимё фанлари доктори, профессор

Мавлонов Ғафуржон Турдалиевич
кимё фанлари номзоди

Етакчи ташкилот:

Тошкент кимё-технология институти

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги 27.06.2017.К.В.Т.13.01 рақамли Илмий Кенгашнинг 2018 йил «_____» март соат 12⁰⁰ даги мажлисида бўлади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел. 262 35 40, факс (99871) 262 70 63).

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ рақами билан рўйхатга олинган) (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел. 262 35 40, факс (99871) 262 70 63), e-mail: asrarov54@mail.ru).

Автореферат 2018 йил «_____» февраль куни тарқатилди.
(2018 йил «_____» февралдаги _____ рақамли реестр баённомаси)

А.С.Тураев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси
ўринбосари, к.ф.д., академик

М.И.Асраров

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий
котиби, б.ф.д., профессор

А.А.Ахунов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда зараркунанда хашаротларнинг салбий таъсирига қарши ўсимликлар чидамлилигининг молекуляр механизмларини ва бу жараёнлардаги химоявий бирикмалар ролини тадқиқ қилиш биоорганик кимё, молекуляр биология ва ўсимликлар биохимиясининг долзарб йўналиши ҳисобланади. Ўсимликлар ҳосилини зараркунанда хашаротлар, патогенлар, бегона ўтлар, бактерия ва вирусли касалликлардан химоя қилиш қишлоқ хўжалиги маҳсулотлари ишлаб чиқариш самарадорлигини оширишда асосий ўринда бўлиб замонавий агрономиянинг муҳим бўғимидир.

Ҳозирги кунда жаҳонда кўсак қуртига қарши инсектицидларнинг интенсив қўлланилиши пахта далаларида шира ва ўргимчаккана каби сўрувчи зараркунандалар популяциясининг кескин ортишига олиб келиши тез-тез кузатиб турилади. Бу инсектицидларларнинг ғўза баргларидаги озуқавий моддалар - эрувчан оксиллар, аминокислоталар ва қандлар; химоявий ферментлар ҳамда терпеноид табиатли бирикмалар каби биотик ва абиотик омилларга қарши ўсимлик химоясини таъминловчи бирикмалар биосинтезига таъсир этиши билан тушинтирилади. Хорижлик олимлар томонидан дельтаметрин, циперметрин, фенвалерат каби инсектицидларнинг ғўзанинг биокимёвий параметрларига таъсири аниқланган. Шунга боғлиқ равишда ғўзадаги сўрувчи зараркунандаларга нисбатан озуқавий қийматли белгиловчи моддаларга ва ўсимликнинг химоя тизимини белгиловчи метаболитлари ва ферментларига пестицидларнинг таъсирини комплекс тадқиқ этиш долзарб ҳисобланади.

Мамлакатимизда ўсимликларни зараркунанда хашаротлардан сақлаш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилиб, муайян натижаларга эришилди. Хусусан препаратларнинг вегетация даври ва бошқа омилларга боғлиқ равишдаги хашаротларга самарали таъсир этувчи концентрациялари аниқланди. Таъкидлаш керакки, бугунги кунда дунё бўйича зараркунанда хашаротлар таъсирида нобуд бўладиган пахта ҳосили 21-24% ни ташкил қилади¹ ва зарурий тарзда ўсимликларга инсектицид препаратлари билан ишлов берилади. Пахта ҳосилини асраш мақсадида қўлланилаётган инсектицидлардан самарали фойдаланиш учун уларнинг ўсимлик биокимёвий кўрсаткичларига таъсирини тадқиқ этиш талаб этилади. Ўзбекистон Республикасини ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 3 йўналишида «қишлоқ хўжалиги маҳсулотларини сақлаш, ташиш ва сотиш, агрокимё хизматлари кўрсатиш инфратузилмасини янада кенгайтириш» юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу вазифаларни бажаришда кенг қўлланилаётган инсектицид препаратларининг ўсимликларга таъсирини аниқлаш долзарб масалалардандир.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2016 йил 24 октябрдаги ПҚ-2640-сонли «Ўсимликларни химоя қилиш ва қишлоқ хўжалигига

¹ <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219403002540>

агрокимёвий хизматларни кўрсатиш тизимини такомиллаштириш чоратадбирлари тўғрисида»ги Қарори, 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармонида ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Қатор хорижлик олимлар томонидан пестицидларнинг ўсимликларга тизимли ва интеграциялашган таъсирини баҳолаш ишлари олиб борилганда, пестицидлар аккумуляцияси ўсимликларнинг ўсишига ва ривожланишига таъсир қилиши ва уларда метаболит ўзгаришларни келтириб чиқариши аниқланган. R.Ravindhran ва A.Xavier (1997) пиретроид инсектицидлар билан ғўзага ишлов берилиши ғўза шираси (*Aphis gossypii*) популяциясининг индуцирланишига олиб келишини, дельтаметрин билан ишлов берилиши ўсимлик баргларида умумий қанд моддалар миқдорининг ортишига ва фенол моддаларнинг камайишига олиб келишини аниқлашган. R.Kumar ва ҳаммуаллифлари томонидан циперметрин, монокротофос, спинозад препаратлари таъсирида унсимон курт (*Phenacoccus solenopsis*) популяциясининг ортиш даражалари аниқланган. Муаллифлар томонидан ушбу феноменнинг сабаби ўсимликдаги биокимёвий ўзгаришлар ва зараркундалар физиологияси билан боғлиқ эканлиги келтирилган ҳамда муаммонинг ечимини аниқлаш учун кенгроқ камровли ва тизимли тадқиқотлар олиб борилиши зарурлиги хулоса қилинган. С.А.Jaleel ва ҳамкасблари томонидан олиб борилган тадқиқотларда эса пуштиранг катарантус (*Catharanthus roseus*) баргларида триадимефон таъсирида хлорофилл миқдорининг ортганлиги ва гидролаза ферментлари фаолликларининг камайганлиги кўрсатиб берилган.

Ўзбекистонда мазкур йўналишда олиб борилган тадқиқотларда В.В.Узбеков ва Ш.Э.Намазов ғўза таркибидаги (+) - госсипол ва ўсимликнинг кўсак курти таъсирига чидамлилиги ўртасида корреляция мавжудлигини аниқлашган. Бу боғлиқлик хашарот ҳазм трактида ўсимлик банди ва барги яшил массаси ўзлаштирилишининг самараси (+) - госсипол томонидан юқори эҳтимоллик даражасида камайтирилиши билан тушинтирилади.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институтининг илмий тадқиқот ишлари режасининг ФА-ФЗ–Т140 «*Malvaceae* оиласи ўсимликлари терпеноидлари, ўсимлик ва ҳайвон манбаалари биофаол пептидларининг идентификацияси ҳамда уларнинг антимикроб, инсектицид ва канцеролитик фаолликлари молекуляр механизмларининг тадқиқи» (2007-2011) ҳамда

И5-ФА-0-18897 «Зараркунанда хашаротларга нисбатан чидамлиликини экспресс баҳолаш комплекс технологиясини ғўза селекцияси ва уруғчилигига жорий қилиш» (2012-2013) мавзуларидаги фундаментал ва инновация лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади ғўза иккиламчи метаболитлари ва химоявий оксилларининг абиотик стрессга чидамлилики индикаторлари сифатидаги ролини аниқлаш, ўсимликнинг сўрувчи зараркунандалар - ғўза шираси ва ўргимчакканага нисбатан чидамлилигига инсектицидларнинг салбий таъсирларини баҳолашнинг комплекс методологиясини ишлаб чиқишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

турли синф инсектицидлари қўлланилиши натижасида шира ва ўргимчаккана сонининг ўзгариш динамикасини таҳлил қилиш;

назорат ва инсектицидлар таъсир эттирилган ғўза баргларидаги озукавий моддаларнинг йиғилиш динамикасини тадқиқ қилиш, эпидермис ва флоэма ширасининг озукавий қийматини белгилаш учун эркин аминокислоталар спектрининг солиштирма таҳлилин аналга ошириш;

ғўза баргларидаги терпеноид альдегидларнинг умумий ҳамда алоҳида компонентлар: госсипол, Н1-Н4 гелиоцидлар, ва уларнинг прекурсорлари миқдорининг инсектицидлар таъсиридаги ўзгаришларини юқори самарали суюқлик хроматографияси ёрдамида солиштириш;

зараркунанда хашаротлар таъсирига нисбатан химоявий тизимни шакллантирувчи биокимёвий реакциялар бориш самарадорлигининг индикатори сифатида ғўза баргларидаги оксигеназалар фаолликларининг инсектицидлар таъсиридаги ўзгаришларини аниқлаш;

ғўза геномида хитиназаларни классификациялаш мақсадида *in silico* таҳлилин аналга ошириш, шунингдек ғўза барглари гидролаза ферментлари фаолликларининг инсектицидлар таъсиридаги ўзгаришларини тадқиқ қилиш;

ғўзанин абиотик стресс омилларга нисбатан чидамлилигининг индикаторлари сифатида тиол гуруҳлар миқдорининг инсектицидлар таъсиридаги ўзгаришини тадқиқ қилиш;

таъсири таҳлил қилинаётган инсектицид билан ишлов берилиши натижасида ғўза баргларидаги миқдорий ва таркиб ўзгаришлар кузатиладиган оксиллар типини аниқлаш учун протеом таҳлилин аналга ошириш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида ғўза (*G.hirsutum*) нинг дала шароитида ўстирилган С 26 ва Дейзи 80 навлари, инсектицидлар: пиретроидлар, фосфорорганик бирикмалар, карбаматлар, никотиноидлар олинган.

Тадқиқотнинг предмети ғўзадаги иккиламчи метаболитларнинг миқдорий параметрлари ўзгаришлари ҳамда химоявий оксиллар биологик фаолликларининг таҳлили ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотлар жараёнида экстракциялаш, ажратиш, тозалаш, колонкали хроматография, гел хроматографияси, юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ), хромато-масс спектрометрия,

оқсилларнинг протеом анализи, электрофорез, ғўза геномидаги генларнинг *in silico* идентификацияси ва калориметрия усулларидан фойдаланилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

пиретроидлар таъсирида ғўза баргларидаги антифидант терпеноид альдегидлар миқдорининг камайиши аниқланган;

ғўза баргларидаги глутатион ва умумий тиол гуруҳлар миқдори инсектицидлар таъсирида мос тарзда ўзгарганлиги аниқланган;

суми-альфа препарати билан ишлов берилган ғўза баргларида рибулоза-1,5-бисфосфат карбоксилаза (RuBisCo) нинг янги полипептиди ҳосил бўлганлиги ва унинг қисман аминокислота кетма-кетлиги исботланган;

суми-альфа препарати таъсирида элонгация фактори ва фруктозо-бисфосфат альдолаза ферментлари миқдорининг ортиши ва ферментлар изоформаларининг қисман аминокислота таркиби исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

зараркунанда хашаротларга қарши ҳимоявий тизимнинг компонентлари сифатида ғўза ҳимоявий бирикмаларининг метаболомик ва протеомик таҳлилларининг комплекс методологияси яратилди;

назорат ва инсектицидлар билан ишлов берилган ғўза баргларининг сўрувчи зараркунандаларга қарши чидамлилигини белгиловчи иккиламчи метаболитларининг миқдорини аниқлаш бўйича методик тавсиялар ишлаб чиқилди.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги ажратиб олинган моддаларни тадқиқ қилишда замонавий физик ва кимёвий тадқиқот усулларидан икки-ўлчамли электрофорез, юқори самарали суяқлик хроматографияси, хромато-масс спектроскопия, колориметрия усулларидан фойдаланилганлиги билан изоҳланади. Олинган натижаларнинг исботи бўлиб мутахассисларнинг эксперт баҳолари, тадқиқот натижаларининг халқаро илмий конференциялардаги муҳокамаси ва рецензияланган илмий нашрларда чоп этилганлиги хизмат қилади.

Олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти пиретроид инсектицидлар билан ишлов берилиши натижасида, шира ва ўргимчаккана популяциясининг ортиши, препаратлар таъсирида ғўза баргларида озучавий моддалар миқдорининг кўпайиши ҳисобига ғўзанинг сўрувчи зараркунандаларга нисбатан мойиллигининг ортиши ҳамда антифидант бирикмалар бўлган терпеноидлар миқдори ва ҳимовий оқсиллар фаоллигининг камайиши ҳисобига ўсимлик чидамлилигининг пасайиши билан изоҳланади.

Тадқиқотнинг амалий аҳамияти шундан иборатки, инсектицидлар қўлланилиши натижасида кузатиладиган ғўзадаги биокимёвий жараёнларни баҳолаш ва ҳосил бўладиган маҳсулотларни идентификация қилишга қаратилган методик ёндашувларнинг ишлаб чиқилганлиги ғўзанинг турли хил зараркунанда хашаротларга қарши уйғунлашган ҳимоя тизимини такомиллаштиришга олиб келган. Тадқиқот натижалари ғўза ҳимоя тизимидаги параметрларни аниқлаб, улардан янги нав ва линияларни

етиштиришда чидамликни белгиловчи индикаторлар сифатида фойдаланишга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Ғўзадаги биокимёвий жараёнларга турли синф инсектицидларининг таъсирини тадқиқ қилиш бўйича олинган натижалар асосида:

«Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ хўжалигида ишлатиш учун рухсат этилган пестицидлар ва агрохимикатлар рўйхати»га киритилган инсектицидлар - аваунт, каратэ, суми-альфа, циперметрин, ланнейт ва карбофоснинг қўлланилиши таъсирида ғўзанинг иккиламчи метаболитларидаги миқдорий ўзгаришларни баҳолаш бўйича методик тавсиялар ишлаб чиқилган (Кимёлаштириш ва ўсимликларни химоя қилиш воситалари Давлат комиссиясининг 2017 йил 13 ноябрдаги 2-5-187-сон маълумотномаси). Ушбу методик тавсиялар зараркунандаларга қарши кимёвий воситаларни қўллаш тизимига маълум таркибий ўзгартиришларни киритилиши имконини берган;

ланнейт препарати таъсирида ғўза баргларидаги полифенолоксидаза ва хитиназа ферментлари фаолликларининг ортиши КХА-9-054-рақамли «Экинларни навбатлаб экиш тизимининг ўзгариши ҳамда такрорий экиладиган ўсимликларни зараркунанда ва касалликлардан химоялашни назарда тутиб ғўзани уйғунлашган химоя қилиш тизимини такомиллаштириш» мавзусидаги амалий лойиҳада турли инсектицидларнинг ўсимликка таъсирини белгилашда фойдаланилган (Фан ва технологиялар агентлигининг 2017 йил 20 ноябрдаги ФТА-02-11/1120-сон маълумотномаси). Натижада нишон қилиб олинган ўсимлик зараркунандасига ланнейт препаратининг самарадорлигини аниқлаш имконини берган;

ғўза геномидаги хитиназаларнинг *in-silico* таҳлили бўйича олинган илмий натижалар Кирил ва Мефодий университетиде эътироф этилган ва илмий манба сифатида фойдаланилган (Словакия Республикаси Кирил ва Мефодий университетининг 2017 йил 17 августдаги маълумотномаси). Илмий натижанинг қўлланилиши ўсимликлардаги оксилларнинг функционал эволюция принципларини аниқлаш имконини берган.

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

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

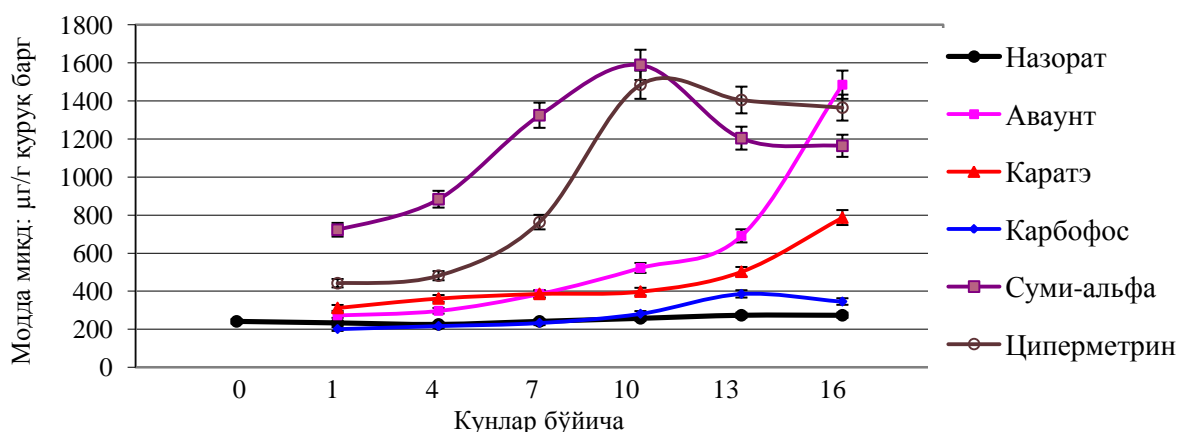
Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 118 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги, мақсад ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объекти ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикасида фан ва технологияларни ривожлантириш йўналишига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий этиш асослари келтирилган, нашр қилинган илмий ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар берилган.

Диссертациянинг «**Инсектицидларнинг селектив таъсири ва ўсимликларнинг зарарқунанда хашаротлардан химояланиш механизмлари**» деб номланган биринчи бобида диссертация мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар ва муаммонинг ўрганилганлик даражаси батафсил таҳлил қилинган, зарарқунанда хашаротларга нисбатан химоявий тизимнинг ривожланишига жавобгар бўлган ўсимликнинг биокимёвий параметрлари таҳлил қилинган, замонавий инсектицидларнинг классификацияси ва таъсир механизмлари баён қилинган, ўсимликларнинг биокимёвий жараёнларига пестицидларнинг салбий таъсирлари бўйича мисоллар келтирилган.

Диссертациянинг «**Вўзанинг флоремадан озикланувчи зарарқунандаларга нисбатан озукавий қийматини белгиловчи моддаларига инсектицидларнинг таъсири**» деб номланган иккинчи бобида турли синф инсектицидларининг ўза баргларидаги қандлар, оксиллар ва эркин аминокислоталар миқдорига таъсири бўйича олинган маълумотлар келтирилган. Турли синфларга мансуб инсектицидлар таъсиридан кейинги вақт оралиғида оксиллар, қандлар ва аминокислоталар миқдорининг ўзгариш динамикаси кўрсатилди.

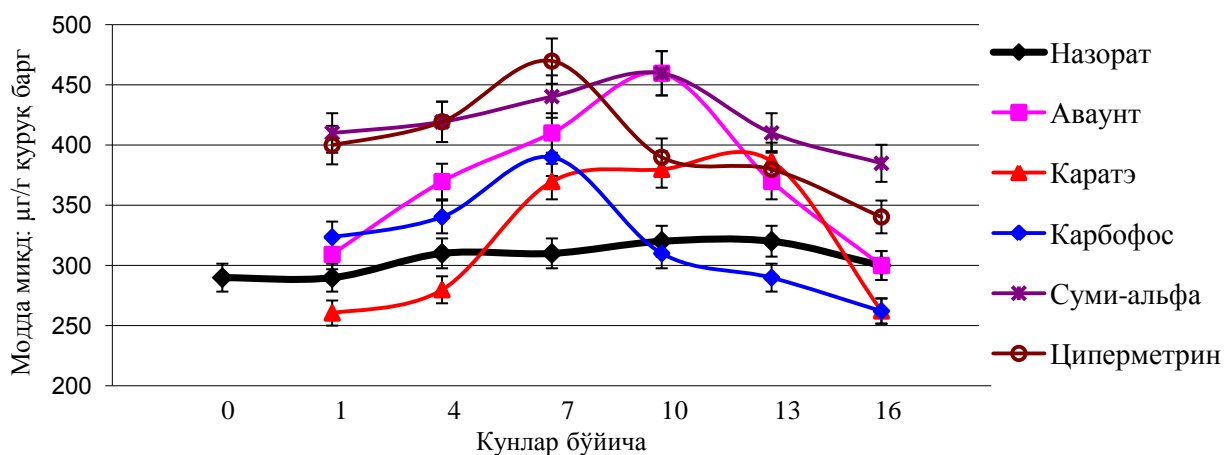


1-расм. Инсектицидлар билан ишлов берилиши натижасида ўза баргларида эрувчан оксиллар миқдорининг ўзгариши ($P \leq 0.05$)

Олинган натижалар пиретроидлар назорат билан солиштирганда оксиллар миқдорини 4-кундан бошлаб сезиларли даражада, 10-16 кунларда максимал кўрсаткич билан назоратга нисбатан 6 баробарга оширганлигини кўрсатади. Шу билан бирга карбофос ўсимлик баргларидаги оксиллар

миқдорини амалий жиҳатдан ўзгартирмаган (1-расм).

Қайтарувчи қанд моддалар динамикасининг ўзгариши бўйича олинган натижалар суми-альфа, циперметрин ва аваунт икки ҳафта давомида қандлар миқдорини индукциялаганлигини кўрсатади. Ишловнинг 4-10 кунларида ушбу инсектицидлар қандлар миқдорини ўртача 30-40% га оширган. Ушбу инсектицидлар билан ишлов бериш қандлар ва оксиллар ҳосил бўлишини стимуллади ва озуқавий моддалар миқдори ортиши ҳисобига сўрувчи зараркунандалар учун ғўзанинг янада мойилроқ бўлишининг асосий сабабларидан бири бўлиши мумкин (2-расм).



2-расм. Инсектицидлар билан ишлов берилган ғўза баргларида қайтарувчи қанд моддалари миқдорининг ўзгариши ($P \leq 0.05$)

Шунингдек карбофос дастлабки 7 кун давомида, каратэ эса 7-10 кунлар оралиғида қанд моддалар миқдорини сезиларли даражада орттирганлиги аниқланди (2-расм).

1-жадвал

Ғўза баргларидаги эркин аминокислоталар миқдорининг ўзгариши

Нав: С 26	Назорат	Карбофос	Ланнейт	Суми-альфа
Алмашинадиган аминокислоталар (µМоль/г барг)				
10 кун	16,398±0,044	19,19±0,054	17,272±0,052	11,652±0,042
13 кун	13,862±0,049	16,818±0,054	25,229±0,067	17,775±0,064
Алмашинмайдиган аминокислоталар (µМоль/г барг)				
10 кун	8,382±0,029	13,449±0,043	10,12±0,033	11,39±0,033
13 кун	9,61±0,036	12,967±0,037	16,048±0,046	13,331±0,042
Эркин аминокислоталар (µМоль/г барг)				
10 кун	24,780±0,073	32,639±0,102*	27,392±0,085*	23,04±0,075
13 кун	23,472±0,085	29,785±0,091*	41,277±0,113*	31,106±0,106
Умумий азот (қуруқ массага нисбатан фоиз ҳисобида)				
10 кун	4,42±0,18	4,15±0,17	5,27±0,22	4,68±0,19
13 кун	4,55±0,18	4,27±0,17	5,19±0,21	4,62±0,18

Аминокислоталар флоэма шираси таркибига кириши ва шунга кўра шира ва ўргимчаккана каби сўрувчи зараркунандалар учун озуқавий моддалар эканлигидан келиб чиқиб, кейинги тадқиқотларимизларда учта

турли синф инсектицидлари – карбофос, ланнейт ва суми-альфанинг ғўза баргларидаги эркин аминокислоталар миқдорига таъсири тадқиқ қилинди (1-жадвал). Олинган натижалар барча ишлов берилган барг намуналарида алмашинмайдиган аминокислоталар миқдорининг ортганини ва умумий аминокислоталар миқдори эса 13-кунги намуналардагина ортганлигини кўрсатади. Азот миқдоридаги сезиларли фарқлар фақат карбаматлар вакили ланнейт таъсиридагина юзага келди. Азот ва эркин аминокислоталар миқдори ўзгаришида ўзаро мувофиқликлар кузатилмади.

Пиретроидлар ва аваунт эрувчан оксил ва қандлар миқдорини ошириши ҳисобига сўрувчи зараркунандалар учун ғўзанинг мойиллигини оширади. Суми-альфа таъсирида ғўза баргларида алмашинмайдиган аминокислоталар миқдорининг ортиши эса қанд моддалар ва эрувчан оксиллар миқдорининг ортишига мос тушади.

Диссертациянинг «**Ўғзанинг хашаротларга чидамлилигига инсектицидларнинг таъсири ва протеомик таҳлиллар**» деб номланган учинчи бобида ўсимлик ҳимоя тизимини белгиловчи моддалар миқдорий параметрлари ва фаолликларидаги ўзгаришлар келтирилган.

Ўғзада аниқланган терпеноид альдегидлар антифидант сифатида таъсир кўрсатиб хашаротларга қарши чидамликни таъминланишига ҳисса қўшади. Иккиламчи метаболитларнинг энг муҳим синфларидан бири бўлган терпеноидларнинг биосинтези дельта-кадиненсинтаза иштирокида боради. Абиотик ва биотик стресс омилларига жавоб сифатида кадиненсинтаза генининг экспрессияси ва фаолланиши ғўзадаги ҳимоявий механизмнинг муҳим кимёвий компонентларидан бири ҳисобланади. Ҳозирга қадар экзоген стресс фактор сифатида инсектицидларнинг ғўзадаги терпеноидлар миқдори таъсири амалий жиҳатдан тадқиқ қилинмаган.

2-жадвал

Инсектицидлар билан ишлов берилган ғўза баргларидаги индивидуал терпеноидларнинг таҳлили

Нав: С 26	Кунлар бўйича	Терпеноидлар миқдори, $\mu\text{г} / 100 \text{ мг барг}$							
		HGQ	mHGQ	G	H4	H1	H3	H2	Σ терп.
Назорат	10	3,9	0,63	0,38	6,4	37,2	8,6	48,95	106,06
	13	5,2	0,56	0,32	5,9	43,0	5,2	48,12	108,30
Каратэ	10	1,0	0,45	0,17	4,0	20,7	3,7	30,2	60,22
	13	5,4	0,52	0,50	5,9	26,1	*	35,7	74,12
Циперметрин	10	4,9	0,46	0,30	7,2	34,3	*	41,9	89,06
	13	5,2	0,45	0,26	5,7	27,8	*	38,4	77,81
Суми-алфа	10	3,5	0,38	0,22	5,8	30,0	3,6	43,5	87
	13	4,5	0,52	0,27	8,9	38,9	*	47,7	100,79
Аваунт	10	0,63	0,83	0,30	1,9	13,4	*	16,7	33,76
	13	1,1	1,3	0,15	5,7	26,7	*	33,3	68,25
Карбофос	10	1,8	0,52	0,30	5,6	24,4	2,6	30,8	66,02
	13	8,3	0,48	0,39	4,9	22,1	*	28,6	64,77

*-концентрациянинг жуда пастли сабабли аниқланмаган

Бир қатор тадқиқотларда госсипол ва терпеноид альдегидлар синфига тегишли госсиполга ёндош бирикмалар ҳамда турли ғўза навларининг хашаротлар ва патогенларга қарши чидамлилиги ўртасида корреляциялар борлиги аниқланган. Шунга боғлиқ равишда инсектицидлар таъсиридаги терпеноид альдегидларнинг ўзгариш динамикаси тадқиқ қилинди. Госсипол, Н1-Н4 гелиоцидлар ва уларнинг прекурсорлари: гемигоссиполон (HGQ) ва гемигоссиполон метил эфирининг (mHGQ) миқдори ЮССХ усулида аниқланди. Олинган натижалар ғўзадаги гелиоцидлар ва бошқа терпеноидларнинг миқдори юқоридаги инсектицидлар таъсирида камайганлигини кўрсатади. Ушбу кўрсаткичлар нафақат сўрувчи зараркунандалар, балки гелиоцидларнинг кўсак қуртига қарши юқори токсикликка эгалиги жиҳатидан, асосий зараркунандага нисбатан ҳам тесқари самарага олиб келишини намоён қилади (2-жадвал). Озуқавий бирикмалар – қандлар ва оксиллар миқдорининг ортиши фонида бу икки факторнинг синергист таъсири ҳақида фикр юритиш ҳамда ғўзага инсектицидлар билан ишлов берилиши натижасида шира ва ўргимчаккана сонининг ортиб кетиш сабабини тушинтириш мумкин.

Қатор оксил ва оксил табиатига эга бўлмаган тиолларнинг бошқа олтингугурт тутувчи бирикмалар билан бирга ўсимликларнинг стрессга қарши чидамлилигига ҳисса қўшиши ҳақида маълумотлар мавжуд. Цистеин асосида синтезланувчи, эрувчан антиоксидант бирикма – глутатион эркин радикалларни йўқ қилишда асосий ўрин тутуди ва глутатион-пероксидаза учун донор ҳисобланади. Суми-альфа таъсирида унинг миқдори оксил табиатли умумий тиол гуруҳлар билан биргаликда камайганлиги аниқланди. Шу билан бирга олтингугурт тутувчи аминокислоталар метионин ва цистеин миқдори ортган. Карбофос ва ланнейт таъсирида эса, олтингугурт тутувчи бирикмалар миқдорининг кўпайиши ҳисобига стрессга қарши ўсимлик чидамлилигининг ортиши эътиборга молик (3-жадвал).

3-жадвал

Ғўза баргларидаги таркибида олтингугурт тутувчи аминокислоталар миқдорининг ўзгариши

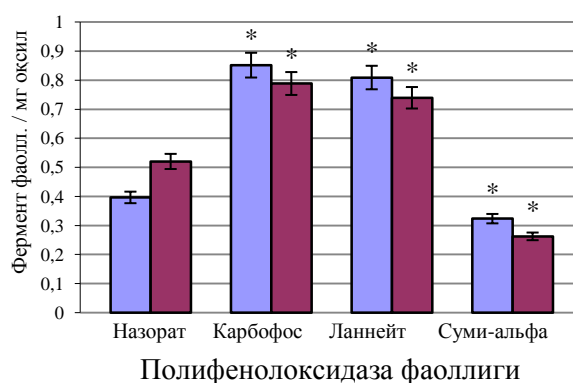
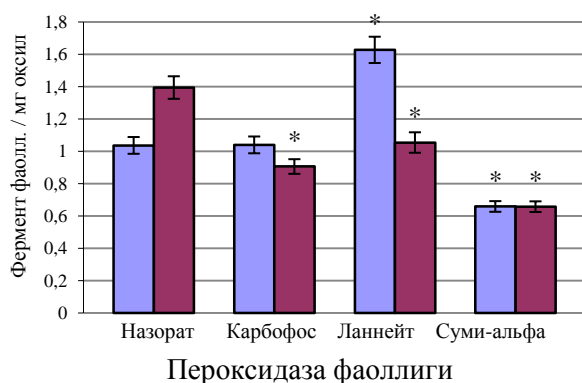
Нав: С 26	Назорат	Карбофос	Ланнейт	Суми-альфа
Метионин (µМоль/г барг)				
10 кун	1,967±0,004	3,489±0,012	2,809±0,008	2,530±0,011
13 кун	2,319±0,006	2,959±0,008	3,486±0,009	2,903±0,009
Цистеин (µМоль/г барг)				
10 кун	2,593±0,006	4,217±0,011	3,505±0,011	2,788±0,006
13 кун	2,591±0,009	3,010±0,008	4,012±0,011	3,224±0,012
Глутатион (µг/г барг)				
10 кун	7,907±0,158	9,218±0,184	9,432±0,189	4,338±0,087
13 кун	4,111±0,082	4,084±0,082	4,411±0,088	1,896±0,038
Тиол гуруҳлар (µМоль/г барг)				
10 кун	169,86±2,47	279,65±11,44	227,75±22,22	123,44±3,64
13 кун	181,28±12,70	197,22±11,30	170,99±12,18	104,91±12,03

Ўсимлик тўқималарида эркин ҳолдаги цистеин ва метиониннинг одатда 10-30 μM дан кўп бўлмаган паст концентрацияси намоён бўлади, бироқ хашаротлар ҳужуми билан юзага келадиган биотик стресс таъсирида глутатион, дефензинлар ва стресс оксиллар каби олтингургуртга бой антистресс фаолликка эга бирикмаларнинг синтези учун уларнинг миқдори зарурий тарзда ортади. Тадқиқотимизда, карбофос ва ланнейт билан ишлов берилган ғўза баргларида, глутатион, унинг прекурсори цистеин ҳамда метионин каби антиоксидант бирикмалар синтези учун зарурий бўлган моддалари миқдори ортаганлиги аниқланди, бу натижалар ушбу инсектицидлар таъсирида антиоксидатив тизимда ортиш кузатилганлигига далолат қилади (3-жадвал).

Диссертация ишида шунингдек карбофос, ланнейт ва суми-альфа инсектицидларининг зараркунанда хашаротларга қарши ҳимоявий функцияга эга бўлган ғўза баргларидаги оксигеназа ва гидролаза табиатли ферментлари фаолликларига таъсири ҳам аниқланди.

Ўсимликларнинг зараркунандаларга қарши чидамлилигини белгиловчи муҳим факторларидан бири бу хашаротлар сўлак суюқлиги таъсирига жавоб тариқасида юзага келувчи пероксидаза, полифенолоксидаза, аскорбат пероксидаза, фенилаланин аммоний лиаза, глутатион-редуктаза каби ферментларнинг фаоллиги билан кислороднинг фаол шакллари миқдорининг камайишидир. Пестицидлар билан ишлов берилиши оксидатив стрессни юзага келтириши ва ҳимоявий генлар транскрипциясининг инициацияси учун сигнал вазифасини бажарувчи молекула - салицил кислота миқдорини пасайтириш орқали антиоксидант ҳимоя тизимига таъсир кўрсатиши эътиборга молик. Бундай самара абамектин, тиометаксам, пирипроксифен ва ацетамиприд билан содир бўлиши аввал аниқланган.

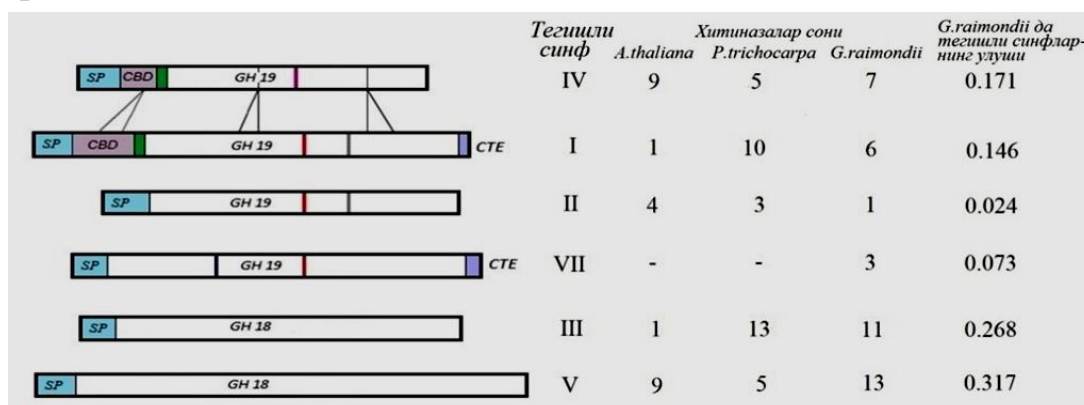
Пероксидаза ва полифенолоксидаза катализи билан фенолларнинг оксидланиши ўсимликларнинг хашаротлар ҳужумидан сақланишдаги асосий ҳимоявий реакциялардан бири ҳисобланади. Фенолларнинг оксидланиши ҳисобига ҳосил бўладиган хинонлар баргдаги оксиллар билан бирикади, уларнинг озучавий қийматини пасайтиради ва шунингдек хашаротларга нисбатан бевосита токсик хусусият намоён қилади. Шунга мувофиқ карбофос, ланнейт ва суми-альфа билан ишловдан кейинги 10- ва 13-кунларда ғўза баргларидаги ферментлар фаоллиги тадқиқ қилинди. Ланнейт ишловнинг 10-кунда пероксидаза фаоллигини сезиларли даражада оширган бўлсада, ишловнинг 13 кунда карбофос ва ланнейт ушбу фермент фаоллигини пасайишига олиб келган. Лекин ушбу инсектицидлар полифенолоксидаза фаоллигини икки ҳисса оширганлиги аниқланди. Суми-альфа оксигеназ ферментлар фаоллигини сезиларли даражада пасайтирди. Барча инсектицидлар билан ишлов берилган ғўза баргларида полифенолоксидаза фаоллиги ҳамда глутатион ва умумий тиол гуруҳлар миқдори ўзаро мувофиқ тарзда ўзгарганлиги аниқланди. Бу ҳолат оксидатив ва редуктив тизимларнинг мувофиқликда ўзгарганлигини кўрсатади (3-расм).



* - оч рангларда ишловнинг 10- ва тўқ рангларда ишловнинг 13-куни акс эттирилган ($P \leq 0.05$)

3-расм. Инсектицидларнинг оксигеназа ферментлар фаоллигига таъсири

Гидролаза ферментлари – хитиназа ва глюканаза патоген ва зараркунанда хашаротлар таъсирида фаолланувчи химоявий оксиллар ҳисобланади. Phytozome² маълумотлар базасида ғўза геномидаги хитиназа изоформалари келтирилган. BLAST³ гомология анализи бўйича ғўзадаги хитиназалар аминокислота кетма-кетликлари аниқланди. *in silico* усулида мавжуд биоинформатив дастурий таъминот билан хитиназалар тузилиши тавсифланди.



4-расм. Ғўза геномидаги хитиназа (I-VII синф) ларнинг бирламчи тузилиш харитаси. Ғўза хитиназалари сонининг *A.thaliana* ва *P.trichocarpa* билан солиштирилиши акс эттирилган. SP – сигнал пептидлар, CBD – углевод боғловчи домен, ■ - пролинга бой боғловчи участка, GH 18 ва GH 19 гликогидролаза доменлари, CTE – C терминал кенгайтма, △ белгиси билан I ва IV синф хитиназалари ўртасидаги узилиш участкалари кўрсатиб ўтилган; I, II ва VII синф хитиназаларида Тир-Асп-Тир-Гли, I ва II синф хитиназаларида эса Трп-Фен-Трп-Мет дан иборат мотивлар акс эттирилган. IV синф хитиназаларининг ўзидагина мавжуд бўлган мотив Цис-Арг-Гли-Про ва VII синф вакилларидаги мотив Глу-Вал-Ала-Ала-Фен кетма-кетлигидан иборат.

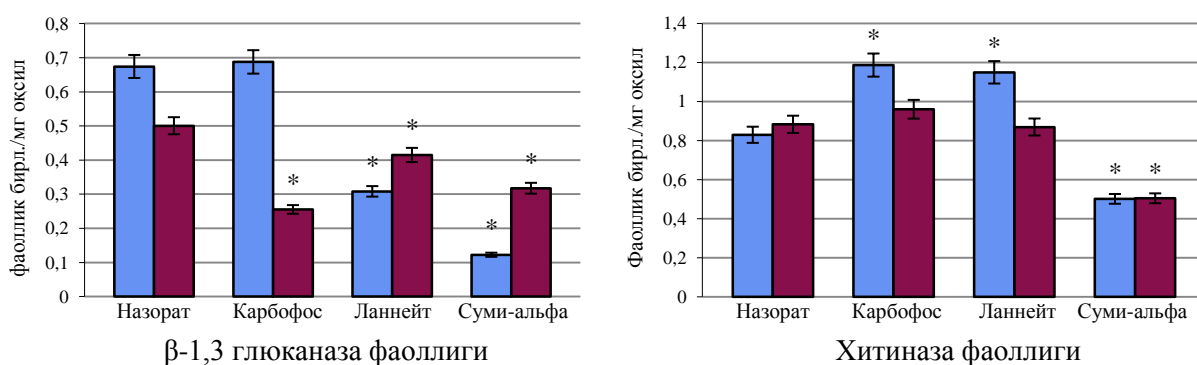
A.thaliana нинг яхши тавсифланган хитиназалари гомологияси асосида сигнал пептидлар, углевод боғловчи доменлар, пролинга бой участкалар идентификация қилинди. Илк бор ғўза хитиназаларининг бирламчи тузилиш харитаси тасвирланди. Турли синф хитиназаларининг мотивлари кўрсатиб

² <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>

³ <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#!search?show=BLAST>

берилди (4-расм). Ушбу олинган маълумотлар ғўза протеоми ва геномидаги кейинги амалий ва фундаментал тадқиқотлар учун асос вазифасини ўтайди.

Хашаротлар перитрофик матрицаси таркибида хитин тутиши ҳисобига хитиназа бевосита хашаротларга қарши ҳимоявий фермент ва β -1,3-глюканаза унинг синергисти ҳисобланади. Шундан келиб чиққан ҳолда инсектицидларнинг хитиназа ва глюканаза фаолликларига таъсири тадқиқ қилинди. Олинган натижалар суми-альфа ушбу гидролазалар фаолликларини сезиларли даражада камайтиришини кўрсатди. Карбофос ва ланнейт билан ишлов бериш хитиназа фаоллигини 10-кунги намуналарида сезиларли даражада ортишига олиб келган бўлсада, β -1,3-глюканаза фаоллигининг пасайишига сабаб бўлган (5-расм).



* - оч рангларда ишловнинг 10- ва тўқ рангларда ишловнинг 13-куни ақс эттирилган ($P \leq 0.05$)

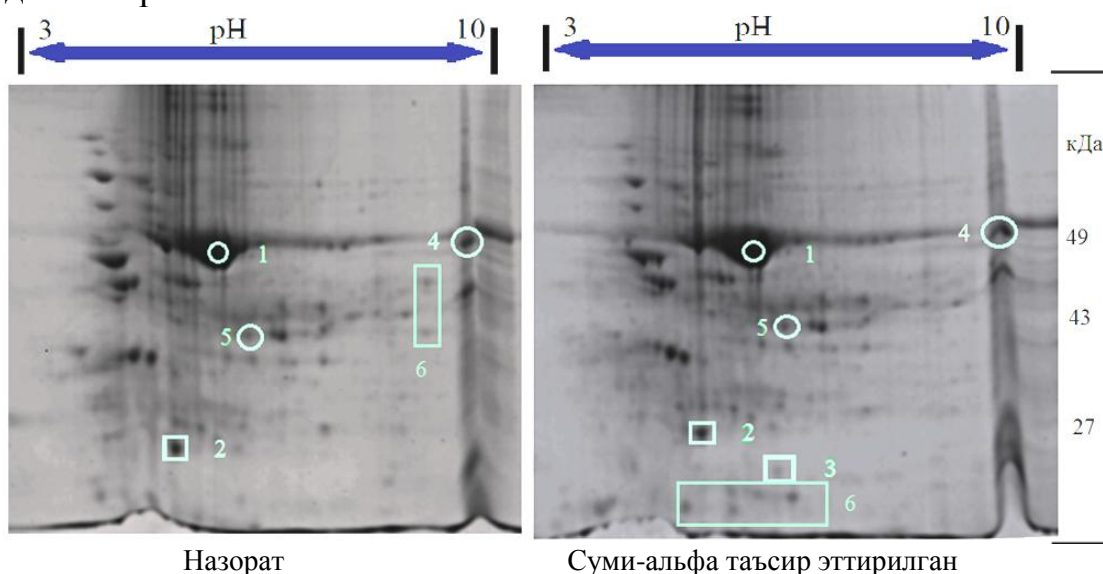
5-расм. Инсектицидларнинг гидролаза ферментлар фаоллигига таъсири

Тадқиқотларда баъзи инсектицидлар ўргимчаккана популяциясининг ортишига олиб келиши аниқланган. Шунга кўра инсектицидларнинг ўргимчаккана фертиллигига таъсир қилувчи икки омил: ғўза баргларидаги калий ва ўргимчаккана тухумидаги оксил-вителин миқдорига таъсири аниқланди. Қўлланилган барча инсектицидлар баргдаги калий миқдорини ва ланнейт ўргимчаккана тухумларидаги вителиннинг ўртача миқдорини камайишига олиб келган. Хулоса ўрнида айтиш мумкинки қўлланилган инсектицидлар ўргимчаккана фертиллигининг ортишига олиб келмайди, сўрувчи зараркунандалар миқдорининг ортишини эса озуқавий бирикмалар ортиши ва ҳимоявий бирикмалар камайиши билан тушинтириш мумкин.

Олинган натижалар асосида шуни хулоса қилиш мумкинки, ғўзага суми-альфа билан ишлов бериш ҳимоявий хусусиятли иккиламчи метаболитлар: терпеноидлар ва тиоллар, оксигеназа ва гидролаза ферментлари, шунингдек стресс фитогормонлар миқдорини камайтиради.

Суми-альфанинг кўп томонлама салбий таъсирларини ҳисобга олган ҳолда кейинчалик унинг ғўза баргларидаги оксиллар профилига ҳам таъсири тадқиқ қилинди (6-расм). Ғўза баргларида энг кўп синтезланувчи оксил 54 кДа молекуляр массага эга рибулоза-бисфосфат карбоксилаза (RuBisCo) эканлиги аниқланди. LC-MS усули билан олинган натижалар оксилларнинг қисман аминокислота кетма-кетликлари Phytozome маълумотлар базасидаги битта аминокислотага фарқ қилувчи Gohir.A11G145500.1 ва Gohir.D03G077600.1 изоформаларига мувофиқ келишини кўрсатади (6

расмдаги 1-доғ). Аниқланган оксилнинг аминокислота кетма-кетлиги 7 расмда келтирилган.



6-расм. Суми-альфа таъсирида оксиллар фонидagi ўзгаришлар

Суми-альфа таъсирида RuBisCo нинг 245 та аминокислотадан иборат бошқа бир изоформасининг парчаланиши ва бунинг натижасида кичикрок молекуляр массали янги оксил молекуласининг ҳосил бўлганлиги аниқланди. LC-MS усули билан аниқланган фрагментлар Phytozome маълумотлар базасида келтирилган Gora1.013G111200.1 гени томонидан синтезланадиган оксилга тўлиқ мос келади. Аниқланган фрагментлар қуйидаги 7-расмда кўрсатилган (6-расмдаги 2- ва 3-доғлар).

Gohir.A11G145500.1 (Gohir.D03G077600.1) (6 расмдаги 1-доғ)

MSCREGLMSPQTETKASVGFKAGVKEYKLTYYTPEYEVKDTTDILAAFRVTPQPGVPPEEAGAAV
AAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRICYDIEPVPGEEDQYICYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSIVG
NVFGFKALRALRLEDLRVPTAYIKTFQGGPPHGIQVERDKLNKYGRPLLGCTIKPKLGLSAKNYGR
AVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCAEAIKFSQAETGEIKGHYLNATAGTCEEMI
KRAMCARELGVPIVMHDYLTGGFTANTSLAHYCRDNGLLHHIRAMHAVIDRQKNHGMHFRV
LAKALRMSGGDHINAGTVVVKLEGERDITLGFVDLLRDDFIEKDRSRGIYFTQDWVSMPGVLAV
A(P)SGGIHVWHMPALTEIFGDDSVLQFGGGTLGHPWGNAPGAVANRVALEACVQARNEGRDLA
REGNEIIREASKWSPELAAACEVWKAIKFEFDAVDKLDKVEK

Gora1.013G111200.1 (6 расмдаги 2-доғ)

VKDTDILAAFRVTPQPGVPPEEAGAAVAAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRICYDIEPVPGEE
DQYICYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRVPTAYIKTFQGGPPHGIQVER
DKLNKYGRPLLGCTIKPKLGLSAKNYGRAVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCA
EAIKFSQAETGEIKGHYLNATAGTCEEMIKRAMCARELGVPIVMHDYLTGGFK

Gora1.013G111200.1 (6 расмдаги 3-доғ)

VKDTDILAAFRVTPQPGVPPEEAGAAVAAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRICYDIEPVPGEE
DQYICYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRVPTAYIKTFQGGPPHGIQVERD
KLNKYGRPLLGCTIKPKLGLSAKNYGRAVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCAE
AIFKFSQAETGEIKGHYLNATAGTCEEMIKRAMCARELGVPIVMHDYLTGGFK

7-расм. RuBisCo Gohir.A11G145500.1 (Gohir.D03G077600.1) ва Gora1.013G111200.1 оксилларининг аминокислота кетма-кетлиги. *Идентификация қилинган аминокислота кетма-кетликлари кулранг фонда ва пептид фрагментларининг N- ва C-учлари тўқ рангда кўрсатилган.

Phytozome маълумотлар базасида Gorai.013G111200.1 номи билан келтирилган оксил шунингдек рибосомал оксил S15 доменига ҳам эга эканлиги келтирилган. Аниқланган натижалар ушбу домен таркибига кирувчи аминокислоталарнинг узилиши ҳисобига янги оксил молекуласи ҳосил бўлаётганига далолат қилади ва янги полипептид RuBisCo доменининг шаклланиши учун етарли бўлиши тахмин қилинади.

Ғўза баргларида суми-альфа билан ишлов берилиши баъзи оксиллар экспрессиясининг ортишига олиб келди. Шулардан бири элонгация фактори EF1A изоформалари сифатида идентификация қилинди. Аниқланган пептид фрагментлари Phytozome маълумотлар базасида мавжуд изоформаларнинг 7 тасига энг кўп мувофиқ келиши кўрсатиб берилди. Ушбу олинган натижалардан суми-альфа таъсирида оксиллар миқдорининг ортиши рибосоманинг А-участкасига аминоацил-тРНК нинг боғланишини катализловчи элонгация фактори ферментларининг миқдори ортиши билан боғлиқ эканлиги келиб чиқади. Аниқланган изоформалардан бирининг аминокислота кетма-кетлиги 8-расмда келтирилган.

Gohir.D01G096000.1 (6 расмдаги 4-доғ)

MGKEKTHNIVVIGHVDSG**KSTTTGHLIYKLG**GIDKRVIERFEKEAAEMNKRSFKYAWVLDKLG
AERERGITIDIALWKFETTKYYCTVIDAPGHRDFIKNMITGTSQADCAVLIDSTTGGFEAGISKDG
QT**REHALLAFTLGVKQ**MICCCNKMDATTPKYS**KARYDEIVKE**VSSYLKKGYNPD**KIPFVPISGF**
EGDNMIE**RSTNLDWYKG**PTLLEALDQINEPKRPSDKPL**RLPLQDVYKIGGIGTVPVGRVETGV**LK
PGMVVTFGPSGLTTEVKSVEMHNE**ALTE**ALPGDNVGFNVKNVAVKDLKRG**F**VASNSKDDPAKE
AANFTSQVIIMNHPGQIGNGYAPVLDCHTSHIAVK**FAELL**TKIDRRSGKELEKEPKFLKNGDAGM
IKMPTKPMVVET**FSEY**PLGR**F**AVRDMRQTVAVGV**IKS**VEKE**ED**PTGAKVT**KSA**AK**K***

8-расм. Gohir.D01G096000.1 элонгация факторининг аминокислота кетма-кетлиги. Идентификация қилинган аминокислота кетма-кетликлари кулранг фонда ва пептид фрагментларининг N- ва C-учлари тўқ рангда келтирилган. Турли изоформаларда фарқ қилувчи аминокислоталар курсив ҳарфларда остига чизиб ажратиб кўрсатилган.

Суми-альфа билан ишлов берилиши натижасида экспрессияси ортан оксиллардан яна бири фруктозо-бисфосфат альдолаза эканлиги аниқланди (6-расм, 5-доғ). Аниқланган фрагментлар ферментнинг 397 та аминокислотадан иборат 4 та, 396 аминокислотадан иборат 2 та ва 394 та аминокислотадан иборат 2 та изоформасига мос келади. Ушбу изоформалардан учтасининг аминокислота кетма-кетликлари қуйидаги 9-расмда келтирилган. **KMVDV**LVEQNIVPGIKV**DKG** ва **KIVPGIKV**DKG пептид фрагментларининг мавжудлиги уларнинг 9-расмда келтирилган ферментнинг турли ҳил изоформаларига мос келишликларини кўрсатади. Фруктозо-бисфосфат альдолаза миқдорининг ортиши фруктоза-1,6-бисфосфатнинг қайтар реакция орқали гликолизнинг оралиқ бирикмалари бўлган дигидроксиацетон фосфат ва D-глицеральдегид-3-фосфатга парчаланиш жараёнининг тезлашишига олиб келади.

Gohir.A13G030500.1 (6-расмдаги 5-доғ)

MASASATLLKSSPIIDKSEWIKGQNLRHPSVCFV**RS**HPTSAAF**T**VRASSYADELVKTAKTVASPG
RGILAMDESNATCGKRLASIGLENTEAN**RQ**AYRTLLVSAPGLG**NY**ISGAILFEETLYQSTIDG**KK**
MVDVLVEQ**M**IVPGIKVDK**GL**VPLPGSNNESWCQGLDGLSSRTAAYYQQGARFAKWRTVVSIPN
GPSALAV**KE**AAWGLAR**Y**AAISQDSGLVPIVEPEILLDGDHGDRTFEVAQKVWAEVFFYLAENN
VMFEGILLKPSMVTPGAECKDKATPQQVADYTLKLLHRRIPPAVPGIMFLSGGQSEVEATLNLNA
MNQSPNPWHVSFSYARALQNTCL**KT**WGGRPEN**VKA**AQD**ALL**V**RA**KANSLAQLGKYTGEGESE
EAKKGMFVKGYVY*

Gohir.A05G317700.1 (Gohir.D05G319600.1) (6-расмдаги 5-доғ)

MACVSFAKLNAPSSSWIGGQQSLPQRSGSSARLATRRVSLPIRAGAYTDELIKTAKTIASPGRGIL
AIDENATCGKRLSSIGLDNTEPNRQAYRQLLLTTPGLGEYISGAILFEETLYQSTTDGKKFVDVL
HDQ**K**IVPGIKVDK**GL**VPLPGSNNESWCQGLDGLSSRS**AE**YYKQGARFAKWRTVVSIPCGPSALA
V**KE**AAWGLAR**Y**AAISQDNGLVPIVEPEILLDGDHPI**G(E)**RTLEV**AE**KVWAEVFFYLAENNVIFEG
ILLKPSMVTPGAENKERANPETIAKYTLTMLKRRVPPAVPGIMFLSGGQSEMEATLNLHAMNQSP
NPWHVSFSYARALQNTVLKTWQGRPENVEAAQKALLV**RA**KANSLAQLG**KY**SAEGESEEA**KK**G
MFVKGYTY*

9-расм. Фруктозо-бисфосфат альдолазалар изоформаларининг аминокислота кетма-кетликлари. *Идентификация қилинган аминокислота кетма-кетликлари кулранг фонда ва пептид фрагментларининг N- ва C-учлари тўқ рангда кўрсатилган. Gohir.A05G317700.1 ва Gohir.D05G319600.1 изоформаларида ўзаро фарқ қилувчи аминокислоталар курсив ҳарфларда остига чизиб ажратиб кўрсатилган.

Протемик таҳлилларда шунингдек суми-альфа препарати билан ишлов бериш натижасида таркибида **KVAKGKSPRK** аминокислота кетма-кетлигини тутган, нуклеозид трифосфат гидролазалар супероиласига тегишли иккита оксил изоформасининг парчаланиши аниқланди (6-расмдаги 6 доғлар). Ушбу фермент ҳозирга қадар фақатгина модел ўсимлик *A.thaliana* да аниқланган.

Диссертациянинг «**Инсектицидларнинг қўлланилиши ва улар таъсиридаги биокимёвий кўрсаткичлардаги ўзгаришларни баҳолаш усуллари**» деб номланган тўртинчи бобида флоэма орқали озикланувчи зараркунандаларга нисбатан озукавий қийматнинг ортиши баҳоланган, инсектицидлар билан ишлов берилгандан сўнг ғўзада қандлар, эрувчан оксиллар ва аминокислоталарнинг миқдори солиштирма анализ қилинган. Инсектицидлар билан ишлов берилган ғўза баргларидаги ҳимоявий функцияга эга оксиллар ва терпеноидлар даражасини аниқлаш ҳамда протеом таҳлил усуллари келтирилган.

ХУЛОСА

«Кўсак қуртига қарши кенг қўлланилувчи инсектицидларнинг ғўзадаги баъзи фаол бирикмалар биосинтезига таъсири» мавзусидаги диссертация доирасида олиб борилган тадқиқотлар асосида **қуйидаги хулосалар** тақдим этилди:

1. Турли синфларга тааллуқли инсектицидлар билан ғўзага ишлов

берилиши натижасида ўсимлик баргларида озучавий бирикмалар – эрувчан қандлар ва оксиллар миқдорининг ортиш динамикаси аниқланди. Суми-альфа, циперметрин ва аваунт билан ишлов берилиши натижасида оксиллар ва қандлар миқдори ишловнинг 10- ва 13-кунлари максимал даражада ортиши кўрсатилди.

2. ЮССХ усули билан госсипол, Н1-Н4 гелиоцидлар, гемигоссиполон ва унинг метил эфирининг миқдори аниқланди. Терпеноидлар миқдорининг максимал камайиши ишловнинг 7, 10, 13 кунларида кузатилиши кўрсатиб берилди.

3. Кислороднинг фаол шакллари глутатион – аскорбат цикли орқали зарарсизлантиришда марказий ўрин тутувчи бирикма – глутатионнинг миқдори суми-альфа таъсирида камайган, карбофос ва ланнейт билан ишлов бериш унинг миқдорини ортишига олиб келган.

4. Ғўза геномидаги хитиназа генларининг *in silico* таҳлили амалга оширилиб, *Arabidopsis thaliana* генлари кетма-кетликлари аналогияси бўйича 41 та хитиназа идентификация қилинди. Хитиназалар фаолликлари суми-альфа таъсирида деярли икки баробар пастроқ кўрсаткични намоён қилган.

5. Суми-альфа, карбофос ва ланнейт таъсирида ўргимчаккананинг репродуктив қобилияти пасайиши ҳамда унинг тухумлари фертиллигини белгиловчи оксил – вителин миқдори инсектицидлар таъсирида камайиши аниқланди.

6. Нормал ҳолатдаги ва инсектицидлар билан ишлов берилган ғўзанинг сўрувчи зараркунандаларга нисбатан чидамлилигини белгиловчи иккиламчи метаболитларнинг миқдор даражасини баҳолаш бўйича методик тавсиялар ишлаб чиқилди.

7. Суми-альфа билан ишлов берилган ғўза баргларида RuBisCo изоформаларидан бирининг парчаланиши ҳисобига янги оксил молекуласининг ҳосил бўлиши унинг қисман аминокислота кетма-кетлигини аниқлаш орқали кўрсатиб берилди.

8. Суми-альфа таъсирида элонгация фактори EF1A ва фруктозо-бисфосфат альдолаза ферментлари экспрессиясининг ортиши аниқланди. Оксиллар изоформаларининг қисман аминокислота кетма-кетликлари кўрсатиб берилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИООРГАНИЧЕСКОЙ
ХИМИИ, НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА,
ИНСТИТУТЕ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

АСРОРОВ АКМАЛ МАЖИТОВИЧ

**ДЕЙСТВИЕ ШИРОКО ПРИМЕНЯЕМЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ ПРОТИВ
ХЛОПКОВОЙ СОВКИ НА БИОСИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА**

02.00.10 - Биоорганическая химия

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

Ташкент - 2018

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2018.1.PhD/K88

Диссертация выполнена в Институте биорганической химии

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.biochem.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель:

Салихов Шавкат Исмаилович
доктор биологических наук, академик

Официальные оппоненты:

Рамазанов Нурмурод Шералиевич
доктор химических наук, профессор

Мавлонов Гафуржон Турдалиевич
кандидат химических наук

Ведущая организация:

Ташкентский химико-технологический институт

Защита диссертации состоится «___» марта 2018 года в 12 часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017./К/В/Т.37.01 при Институте биорганической химии, Национальном университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83, Тел.: (99871) 262-35-40, факс: (+99871) 262-70-63)

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биорганической химии (регистрационный номер № _____) (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83, Тел.: (+99871) 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, E-mail: asrarov54@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан «___» февраля 2018 года.

(реестр протокола рассылки _____ от «___» февраля 2018 года.)

А.С.Тураев

Заместитель председателя Научного совета по присуждению ученых степеней, д.х.н., академик

М.И.Асраров

Ученый секретарь Научного совета по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

А.А.Ахунов

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 мире исследование молекулярных механизмов резистентности растений к поражению насекомыми-вредителями и роли в этом процессе защитных соединений является важным направлением биоорганической химии, молекулярной биологии и биохимии растений. Защита урожая от насекомых-вредителей, патогенов, сорняков, бактериальных и вирусных заболеваний – перспективный путь повышения эффективности сельскохозяйственного производства и важная часть современной агрономии.

В настоящее время интенсивное использование инсектицидов против хлопковой совки нередко приводит к вспышке популяции сосущих вредителей, таких как тля и паутинный клещ. Это объясняется тем, что обработка инсектицидами влияет на биосинтез питательных веществ – растворимых белков, аминокислот, сахаров; защитных ферментов, а также соединений терпеноидной природы, обеспечивающих защиту растения от биотических и абиотических факторов. Зарубежными учеными исследовано влияние инсектицидов дельтаметрин, циперметрин, фенвалерат на биохимические параметры хлопчатника. В связи с этим, комплексная оценка влияния инсектицидов, используемых в Узбекистане, на питательные вещества, метаболиты и ферменты, определяющие защитную систему, не вызывает сомнений актуальности задачи.

В нашей республике предпринимаются комплексные меры по защите растений от насекомых-вредителей, что уже дало определенные результаты. В частности, определены эффективные концентрации препаратов от насекомых в зависимости от периода вегетации и других факторов. Следует отметить, что мировые потери хлопка от воздействия вредителей достигают 21-24%⁴, вследствие чего растения непременно обрабатываются инсектицидами. Рациональное использование инсектицидов диктует необходимость изучения влияния препаратов, используемых для сохранения урожая хлопка-сырца, на биохимические параметры растения хлопчатника. Третье направление стратегии развития Республики Узбекистан определяет задачи по «дальнейшему расширению инфраструктуры по хранению, транспортировке и сбыту сельскохозяйственной продукции, оказанию агрохимических, финансовых и других современных рыночных услуг». Для их выполнения определение влияния широко используемых инсектицидов на растения является адекватным и востребованным.

Данное диссертационное исследование в определенной степени способствует решению задач, намеченных в Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП-2640 от 24 октября 2017 года «О мерах по совершенствованию системы защиты растений и агрохимического обслуживания сельского хозяйства» и Указе Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по

⁴ <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219403002540>

дальнейшему развитию Республики Узбекистан», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в этой сфере.

Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий республики. Данное диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и защита окружающей среды».

Степень изученности проблемы. Рядом зарубежных ученых проводилась оценка системного и интегрированного воздействия пестицидов на растения и установлено, что аккумуляция пестицидов влияет на прорастание и развитие растений, вызывая при этом в них метаболические изменения. R.Ravindhran и A.Xavier установили, что обработка хлопчатника пиретроидами приводит к существенному росту популяции хлопковой тли (*Aphis gossypii*), а обработка дельтаметрином повышает уровень общих сахаров, снижает при этом уровень фенольных соединений в листьях. R.Kumar с соавторами показали увеличение популяции мучнистого клеща (*Phenacoccus solenopsis*) под воздействием препаратов циперметрин, монокротофос и спинозад. Авторы установили, что причина этого феномена связана с биохимическими изменениями в растениях и физиологии насекомых и сделали вывод, что для решения проблемы необходимо проведение комплексной и систематической работы. С.А.Jaleel и его сотрудниками показано увеличение содержания хлорофилла и понижение активности гидролазных ферментов в листьях катарантус розовый (*Catharanthus roseus*) после обработки триадимефоном.

В Узбекистане В.В.Узбеков и Ш.Э.Намазов установили корреляцию между уровнем (+) - госсипола в хлопчатнике и резистентностью к поражению хлопковой совкой. По всей вероятности, установленная зависимость объясняется наличием (+) - госсипола, снижающим эффективность переваривания зеленой массы стеблей и листьев хлопчатника в пищеварительном тракте гусениц.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена работа. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ фундаментального и инновационного проектов Института биоорганической химии по темам ФА-ФЗ-Т140 «Идентификация терпеноидов растений семейства *Malvaceae*, биоактивных пептидов животного и растительного происхождения и исследование молекулярных механизмов их антимикробной, инсектицидной и канцеролитической активностей» (2007-2011), и И5-ФА-0-18897 «Внедрение в селекцию и семеноводство хлопчатника комплексной технологии экспресс-оценки устойчивости к насекомым-вредителям» (2012-2013).

Целью исследования является установление роли вторичных метаболитов и защитных белков хлопчатника как индикаторов толерантности к абиотическим стрессам, разработка комплексной методологии оценки

негативного влияния инсектицидов на устойчивость хлопчатника к сосущим вредителям - хлопковой тле и паутинному клещу.

Задачи исследования:

анализ динамики численности тли и паутинного клеща после применения инсектицидов различных классов;

исследование динамики накопления питательных веществ в листьях хлопчатника в норме и после воздействия инсектицидов, проведение сравнительного анализа спектра аминокислот для выявления питательной ценности эпидермиса и флоэмы;

проведение сравнительного анализа общего количества терпеноидов, а также отдельных компонентов: госсипола, гелиоцидов Н1-Н4 и их предшественников методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в норме и после обработки инсектицидами;

определение активности оксигеназ, в листьях хлопчатника после обработки инсектицидами, как индикатор эффективности протекания биохимических реакций, формирующих защитный ответ на поражение насекомыми-вредителями;

проведение *in-silico* анализа для классификации хитиназ в геноме хлопчатника, а также анализ изменения активностей гидролазных ферментов листьев хлопчатника, обработанных инсектицидами;

исследование количества тиоловых группировок как индикаторов резистентности против абиотических стрессовых факторов после воздействия инсектицидов;

протеомный анализ белков листьев хлопчатника для выявления количественных и составных изменений, индуцируемых обработкой анализируемым инсектицидом.

Объектами исследования служили листья хлопчатника сортов С 26 и Дейзи 80 (*G.hirsutum*) произрастающие в полевых условиях, инсектициды: пиретроиды, фосфорорганические соединения, карбаматы, никотиноиды.

Предметом исследования является анализ изменения количественных параметров вторичных метаболитов и активностей защитных белков хлопчатника.

Методы исследования. При выполнении исследования использовались методы экстракции, выделения, очистки, колоночная хроматография, гель проникающая хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), хромато-масс спектрометрия, протеомный анализ белков, электрофорез, *in silico* идентификация генов в геноме хлопчатника, а также калориметрия.

Научная новизна диссертационного исследования состоит в следующем:

определено уменьшение количества антифидантных терпеноидных альдегидов при воздействии пиретроидов;

выявлено изменение количества глутатиона и общих тиолов в листьях хлопчатника в равной степени после воздействия инсектицидов;

доказано образование нового полипептида рибулоза-1,5-бисфосфат карбоксилазы (RuBisCo) в листьях хлопчатника после обработки препаратом суми-альфа и его частичная аминокислотная последовательность;

доказано увеличение синтеза фактора элонгации и фруктозо-бисфосфат альдолазы в результате воздействия препарата суми-альфа, а также частичная аминокислотная последовательность изоформ ферментов.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

создана комплексная методология метаболомного и протеомного анализа защитных соединений, как компонентов защитной системы хлопчатника от поражения насекомыми-вредителями;

разработаны «Методические указания» по оценке уровня вторичных метаболитов, определяющих устойчивость хлопчатника к сосущим вредителям в норме и после обработки инсектицидами.

Достоверность результатов исследования обосновывается использованием таких современных физико-химических методов анализа как двумерный электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография, хромато-масс спектроскопия, калориметрия. Подтверждением полученных результатов исследования служат также экспертные оценки специалистов, обсуждение результатов исследований на международных научных конференциях, и публикации в рецензируемых научных изданиях.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования определяется тем, что увеличение численности популяции тли и клеща после обработки хлопчатника пиретроидными инсектицидами связано с увеличением восприимчивости растения к сосущим насекомым-вредителям вследствие повышения количества питательных веществ в листьях хлопчатника, а также понижения резистентности за счет уменьшения количества антифидантных терпеноидных альдегидов и активностей защитных белков.

Практическая значимость результатов исследования заключается в разработке методологических подходов по оценке биохимических процессов в хлопчатнике и идентификации образующихся веществ после обработки инсектицидами, что привело к усовершенствованию интегрированной системы защиты хлопчатника от различных типов насекомых-вредителей. Результаты исследования используются при создании новых сортов и линий хлопчатника путем измерения установленных параметров защитных систем.

Внедрение результатов исследования. На основе результатов, полученных при изучении влияния инсектицидов разных классов на биохимические процессы в хлопчатнике:

разработаны методические рекомендации по количественной оценке изменений вторичных метаболитов хлопчатника при обработке инсектицидами аваунт, каратэ, суми-альфа, циперметрин, ланнейт и карбофос, включенные в «Список пестицидов и агрохимикатов, разрешённых для применения в сельском хозяйстве Республики Узбекистан» (Справка Государственной комиссии по химизации и средствам защиты растений

Республики Узбекистан от 13 ноября 2017 года, №2-5-187). Эти методические рекомендации дали возможность внести изменения в систему пользования химическими средствами;

повышение активностей полифенолоксидазы и хитиназы в листьях хлопчатника после обработки препаратом ланнейт было использовано при выполнении прикладного проекта КХА-9-054 «Усовершенствование интегрированной системы защиты хлопчатника от вредителей с учетом изменения состава севооборотных культур и вредителей пожнивных растений» для определения действия инсектицидов на растение (справка Агенства по науке и технологий Республики Узбекистан, ФТА-02-11/1120 от 20 ноября 2017 года). В результате этого появилась возможность определения эффективности действия препарата ланнейт на целевых вредителях;

научные результаты по *in-silico* анализу хитиназ в геноме хлопчатника признаны университетом Кирилла и Мефодия (Республика Словакия) и использованы как научный источник (справка университета от 17 августа 2017 г). Научные результаты дали возможность определить принципы функциональной эволюции растительных белков.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены, в том числе, на 5 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 12 научных работ, из них 5 научных статей, в том числе 3 статьи - в республиканских и 2 - в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 118 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и востребованность проведенных исследований, цель и задачи исследования, охарактеризованы объект и предмет исследования, показано соответствие исследования как приоритетным мировым направлениям, так и направлениям развития науки и технологии Республики Узбекистан. Изложены научная новизна и практические результаты исследования, даны сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Селективное влияние инсектицидов и механизм защиты растений от насекомых-вредителей**» проведен подробный обзор научных исследований по теме диссертации и степени изученности проблемы, проанализированы биохимические параметры растений, ответственные за развитие защитных реакций против насекомых-вредителей, описаны классификация и механизм действия современных инсектицидов, приведены примеры негативного влияния пестицидов на

биохимические процессы в растениях.

Во второй главе диссертации «Воздействие инсектицидов на вещества, определяющие пищевую привлекательность хлопчатника для флорных вредителей» представлены данные о влиянии инсектицидов различных классов на сахара, белки и свободные аминокислоты листьев хлопчатника. Показана динамика изменения содержания белков, сахаров и аминокислот в листьях хлопчатника через определенные промежутки времени после обработки инсектицидами различной химической природы.

Полученные данные показали, что пиретроиды индуцируют значительное увеличение содержания белков по сравнению с контролем, начиная с 4-го дня после обработки, достигая максимума на 10-16 день в 6 раз относительно контроля соответственно. В тоже время карбофос практически не изменяет уровень белка в листьях (рис. 1).

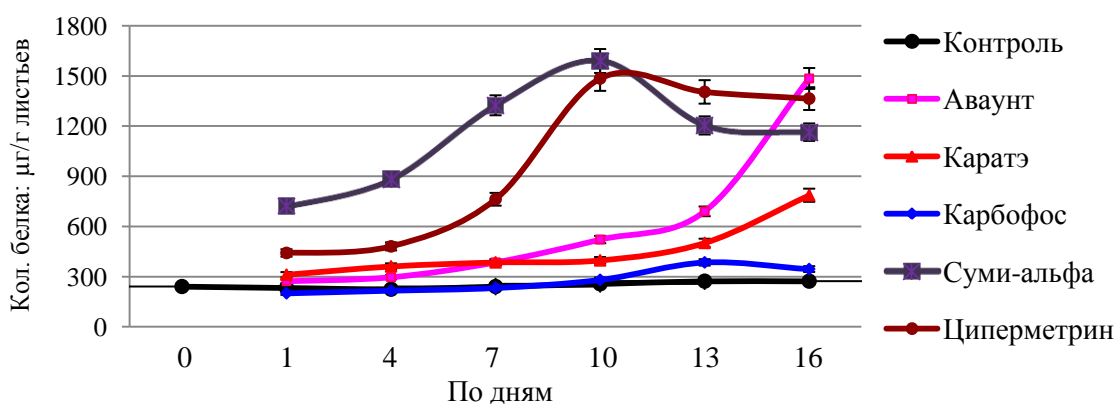


Рис. 1. Изменение количества растворимых белков листьев хлопчатника после обработки инсектицидами ($P \leq 0.05$)

Результаты по изучению динамики восстанавливающих сахаров показали, что суми-альфа, циперметрин и аваунт индуцировали сахара в течение двух недель. Эти инсектициды увеличивали содержание сахаров на 4-10 сутки в среднем на 30-40%. Обработка этими инсектицидами стимулирует образование белков и сахаров, что является одной из возможных причин большей привлекательности хлопчатника для сосущих вредителей за счет увеличения количества питательных веществ (рис. 2).

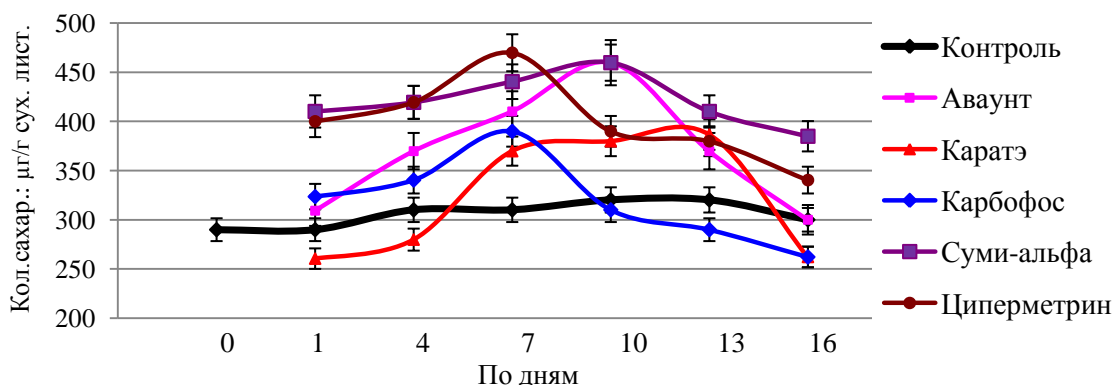


Рис. 2. Изменение количества восстанавливающих сахаров листьев хлопчатника после обработки инсектицидами разных классов ($P \leq 0.05$)

Также установлено, что обработка карбофосом увеличивала количество сахаров первые 7 дней, а каратэ в промежутке 7-13 дней (рис. 2).

Далее изучали влияние трёх инсектицидов различных классов: карбофос, ланнейт и суми-альфа на содержание свободных аминокислот, поскольку они входят в состав флоэмного сока и являются питательными веществами для сосущих вредителей, таких как тля и паутинный клещ (табл.1). Полученные результаты показали, что происходит увеличение количества незаменимых аминокислот во всех обработанных листьях, и повышение общего количества свободных аминокислот наблюдается только к 13 дню обработки. Установлено, что значительные различия в количестве общего азота происходят только после обработки карбаматом и ланнейтом. Изменение количества общего азота в обработанных листьях не коррелирует с увеличением концентрации свободных аминокислот.

Таблица 1

Изменение количества свободных аминокислот в листьях хлопчатника

Сорт С 26	Контроль	Карбофос	Ланнейт	Суми-альфа
Заменимые аминокислоты (µМоль/г листьев)				
10день	16,398±0,044	19,19±0,054	17,272±0,052	11,652±0,042
13день	13,862±0,049	16,818±0,054	25,229±0,067	17,775±0,064
Незаменимые аминокислоты (µМоль/г листьев)				
10день	8,382±0,029	13,449±0,043	10,12±0,033	11,39±0,033
13день	9,61±0,036	12,967±0,037	16,048±0,046	13,331±0,042
Общие свободные аминокислоты (µМоль/г листьев)				
10день	24,780±0,073	32,639±0,102*	27,392±0,085*	23,04±0,075
13день	23,472±0,085	29,785±0,091*	41,277±0,113*	31,106±0,106
Общий азот (в процентах от сухой массы)				
10день	4,42±0,18	4,15±0,17	5,27±0,22	4,68±0,19
13день	4,55±0,18	4,27±0,17	5,19±0,21	4,62±0,18

Пиретроиды и аваунт увеличивают привлекательность хлопчатника для сосущих вредителей за счет повышения количества растворимых белков и сахаров, т.е. повышения уровня питательности (табл.1). Увеличение количества незаменимых аминокислот в обработанных листьях суми-альфа соотносится с повышением сахаров и растворимых белков.

В третьей главе диссертации «Влияние инсектицидов на инсектоустойчивость хлопчатника и протеомные анализы» представлены данные об изменениях количественных параметров и активностей веществ, определяющих защитный механизм растения.

Терпеноидные альдегиды, найденные в хлопчатнике, действуя как антифиданты, вносят свой вклад в инсектоустойчивость. Терпеноиды – это один из важнейших классов вторичных метаболитов, биосинтез которых происходит с участием дельта-кадиненсинтазы. Экспрессия гена и активность кадиненсинтазы в ответ на биотический и абиотический стрессы является одним из важнейших составных элементов химического защитного

механизма хлопчатника. До настоящего времени влияние инсектицидов как экзогенных стрессовых факторов на уровень терпеноидов хлопчатника практически не исследовалось.

В ряде работ установлена корреляция между количеством госсипола и госсиполподобных соединений, относящихся к классу терпеноидных альдегидов, и резистентностью различных сортов хлопчатника к поражаемости насекомыми и патогенами. В связи с этим изучено в динамике содержание терпеноидных альдегидов в норме и после обработки инсектицидами.

Содержание госсипола, гелиоцидов Н₁-Н₄ и их предшественников: гемигоссиполона (HGQ) и метилового эфира гемигоссиполона (mHGQ) анализировали методом ВЭЖХ (табл. 2).

Таблица 2

Анализ индивидуальных терпеноидных альдегидов в листьях хлопчатника

Сорт С 26	Время по дням	Количество терпеноидов, $\mu\text{г}$ в 100 мг листьев							
		HGQ	mHGQ	G	H4	H1	H3	H2	Σ терп
Контроль	10	3,9	0,63	0,38	6,4	37,2	8,6	48,95	106,06
	13	5,2	0,56	0,32	5,9	43,0	5,2	48,12	108,30
Каратэ	10	1,0	0,45	0,17	4,0	20,7	3,7	30,2	60,22
	13	5,4	0,52	0,50	5,9	26,1	*	35,7	74,12
Циперметрин	10	4,9	0,46	0,30	7,2	34,3	*	41,9	89,06
	13	5,2	0,45	0,26	5,7	27,8	*	38,4	77,81
Суми-алфа	10	3,5	0,38	0,22	5,8	30,0	3,6	43,5	87
	13	4,5	0,52	0,27	8,9	38,9	*	47,7	100,79
Аваунт	10	0,63	0,83	0,30	1,9	13,4	*	16,7	33,76
	13	1,1	1,3	0,15	5,7	26,7	*	33,3	68,25
Карбофос	10	1,8	0,52	0,30	5,6	24,4	2,6	30,8	66,02
	13	8,3	0,48	0,39	4,9	22,1	*	28,6	64,77

*-не был определён из-за низкой концентрации

Полученные данные свидетельствуют об уменьшении уровня суммы гелиоцидов и других видов терпеноидов хлопчатника после его обработки изучаемыми инсектицидами, что приводит к обратному эффекту не только в отношении сосущих вредителей, но и по действию на главного вредителя хлопчатника – хлопковую совку, т.к. гелиоциды проявляют к ней высокую токсичность. На фоне увеличения содержания питательных веществ - сахаров и белков, можно говорить о синергетическом действии двух факторов и объяснить, таким образом, причину увеличения численности тли и клеща после обработки хлопчатника инсектицидами.

Имеются данные о том, что ряд небелковых и белковых тиолов наряду с другими серосодержащими соединениями вносят фундаментальный вклад в устойчивость растений к стрессу. Ключевой водорастворимый антиоксидант глутатион, синтезируемый из цистеина, играет центральную роль в захвате

свободных радикалов и является донором для глутатион-пероксидазы. Его количество уменьшается вместе с общими тиоловыми группировками белкового характера после обработки пиретроидом суми-альфа. В то же время, количество серосодержащих аминокислот – метионина и цистеина повышается. Следует обратить внимание, что обработка карбофосом и ланнейтом повышает содержание серосодержащих соединений, в результате чего устойчивость растения против стресса увеличивается (табл. 3).

Таблица 3

Изменение количества серосодержащих аминокислот в листьях хлопчатника

Сорт С 26	Контроль	Карбофос	Ланнейт	Суми-альфа
Метионин (μМоль/г листьев)				
10день	1,967±0,004	3,489±0,012	2,809±0,008	2,530±0,011
13день	2,319±0,006	2,959±0,008	3,486±0,009	2,903±0,009
Цистеин (μМоль/г листьев)				
10день	2,593±0,006	4,217±0,011	3,505±0,011	2,788±0,006
13день	2,591±0,009	3,010±0,008	4,012±0,011	3,224±0,012
Глутатион (μг/г листьев)				
10день	7,907±0,158	9,218±0,184	9,432±0,189	4,338±0,087
13день	4,111±0,082	4,084±0,082	4,411±0,088	1,896±0,038
Тиоловые группировки (μМоль/г листьев)				
10день	169,86±2,47	279,65±11,44	227,75±22,22	123,44±3,64
13день	181,28±12,70	197,22±11,30	170,99±12,18	104,91±12,03

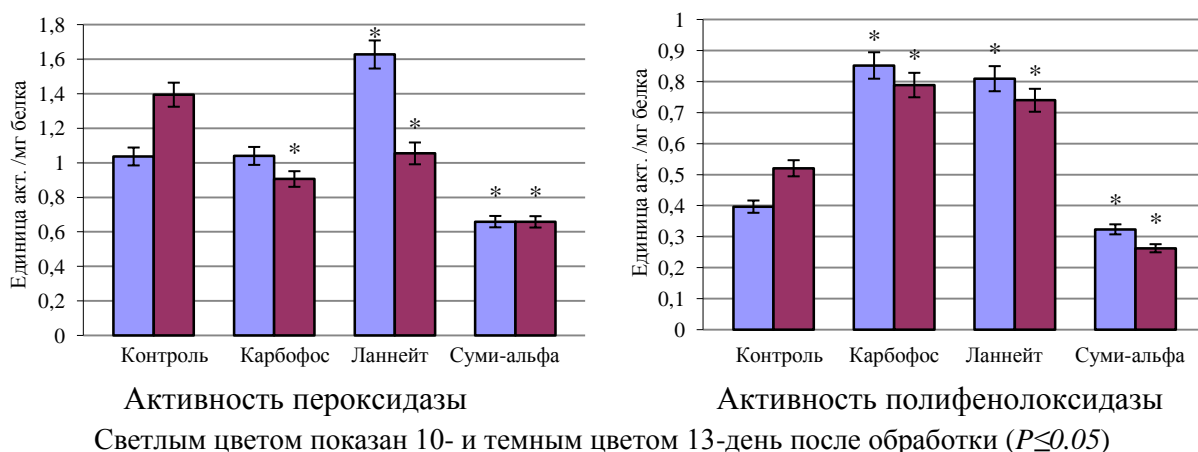
В клетках растений обычно наблюдается низкая концентрация свободного цистеина и метионина, не более 10-30 μМ, но под воздействием биотического стресса, вызванного атакой насекомых, происходит их значительное увеличение, что необходимо для биосинтеза богатых серой соединений с антистрессовой активностью, таких как глутатион, дефензины и стрессовые белки. В нашей работе установлено, что в листьях хлопчатника после обработки карбофосом и ланнейтом, количество серосодержащих соединений, таких как глутатион, предшественник глутатиона - цистеин, а также метионин, которые необходимы для биосинтеза антиоксидантных веществ, увеличивалось, что свидетельствует о повышенном уровне антиоксидативной системы.

В настоящей работе также проведено сравнительное изучение влияния карбофоса, ланнейта и суми-альфы на активность ферментов хлопчатника оксигеназной и гидролазной природы, обладающих защитной функцией от насекомых-вредителей.

Один из важнейших факторов резистентности растений к вредителям - это понижения содержания активных форм кислорода в ответ на секрецию слюны насекомых за счет активации таких ферментов как пероксидаза, полифенолоксидаза, аскорбат пероксидаза, фенилаланин аммоний лиаза, глутатион-редуктаза. Следует обратить внимание, что обработка пестицидами может вызвать оксидативный стресс и повлиять на антиоксидантную защитную систему, вызывая понижение концентрации

салициловой кислоты, основной сигнальной молекулы для инициации транскрипции защитных генов. Такой эффект ранее был установлен для абамектина, тиометаксама, пирипроксифена и ацетамиприда.

Окисление фенолов, катализируемое пероксидазой и полифенолоксидазой, является одной из основных защитных реакций растений против поражения насекомыми. Хиноны, образующиеся при окислении фенолов, связываются с белками листьев, уменьшая их питательную ценность, а также проявляют прямую токсичность на насекомых. В связи с этим, было проведено определение активности изучаемых ферментов на 10- и 13-день после обработки хлопчатника карбофосом, ланнейтом и суми-альфа. Карбофос и ланнейт понижали активность пероксидазы на 13 день обработки, хотя на 10 день ланнейт увеличивал ее активность. Однако эти инсектициды в два раза увеличивали активность полифенолоксидазы. Суми-альфа значительно уменьшала активность оксигеназных ферментов. Установлено соответствующее изменение активности полифенолоксидазы с количеством глутатиона и общих тиоловых группировок после обработки всеми инсектицидами, что свидетельствует о взаимных изменениях оксидативной и редуктазной систем (рис. 3).



Светлым цветом показан 10- и темным цветом 13-день после обработки ($P \leq 0.05$)

Рис. 3. Влияние инсектицидов на активность оксигеназных ферментов

Гидролазные ферменты – хитиназа и глюканаза являются защитными ферментами, активируемыми при воздействии патогенов и насекомых-вредителей. В базе данных Phytozome⁵ показано наличие изоформ хитиназы в геноме хлопчатника. На основе анализа гомологии BLAST⁶ определены аминокислотные последовательности хитиназ в хлопчатнике. Проводился *in silico* анализ с использованием доступного биоинформативного программного обеспечения для характеристики их структур. Идентифицированы сигнальные пептиды, углевод связывающие домены, пролин богатые участки на основе гомологии с хитиназами хорошо описанного растения *Aradopsis*. Впервые описана структурная карта хитиназ

⁵ <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>

⁶ <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#!search?show=BLAST>

хлопчатника (рис. 4). Показаны мотивы различных классов хитиназ. Полученные результаты по хитиназам хлопчатника обеспечат основу для дальнейших прикладных и фундаментальных исследований в протеоме и геноме хлопчатника.

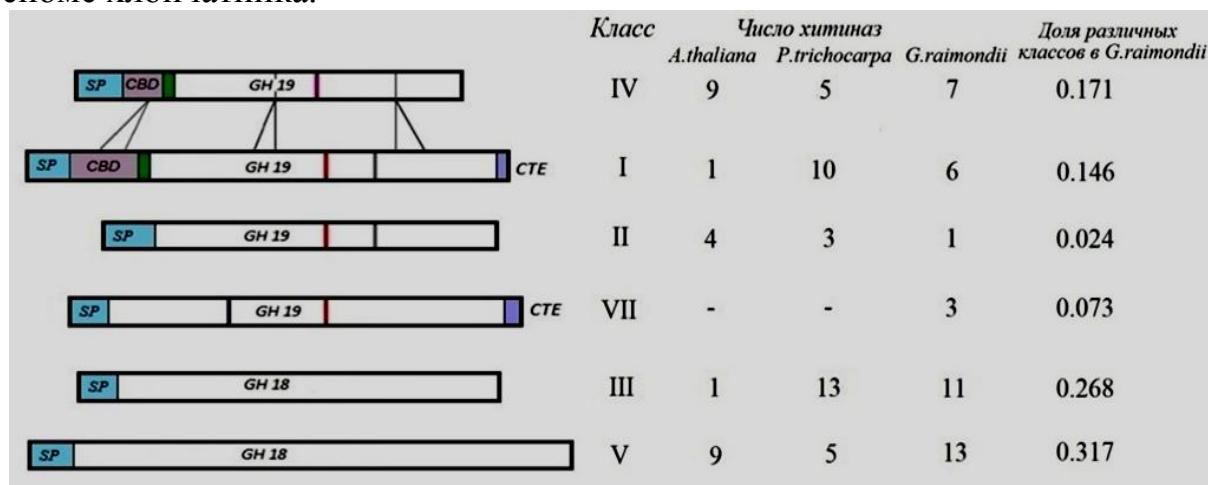


Рис. 4. Первичная структурная карта хитиназ (класс I-VII) в геноме хлопчатника. Показано сравнение число хитиназ хлопчатника с *A.thaliana* и *P.trichocarpa*. SP – сигнальные пептиды; CBD – углевод связывающий домен; ■ – пролин богатый Hinge участок; GH 18 и GH 19 – домены гликогидролаз; CTE – C концевой участок; △ - вымарки; мотивы, найденные в классах I, II, и VII показывают Тир-Асп-Тир-Гли; мотивы в классах I и II показывают Трп-Фен-Трп-Мет; Цис-Арг-Гли-Про мотивы найдены у хитиназ IV класса; Глу-Вал-Ала-Ала-Фен мотивы найдены у хитиназ VII класса.

Поскольку перитрофическая матрица насекомых включает в себя хитин, хитиназа непосредственно является защитным ферментом против насекомых, и фермент β-1,3-глюканаза считается ее синергистом. Исходя из этого, мы определили изменения активностей этих гидролаз. Полученные результаты по влиянию инсектицидов на их активность показали, что суми-альфа значительно уменьшал активность этих ферментов. А обработка карбофосом и ланнейтом значительно увеличивала активность хитиназ на 10-день, но понижала активность глюканаз (рис. 5).

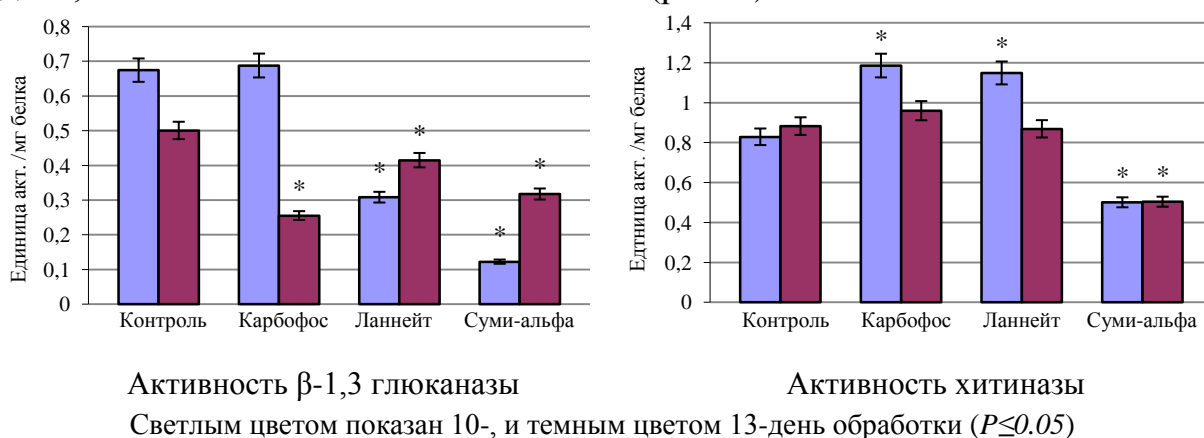


Рис. 5. Влияние инсектицидов на активность гидролазных ферментов.

Установлено, что обработка инсектицидами вызывает увеличение

численности популяции клеща. Исследовано изменение двух факторов, влияющих на фертильность клеща: содержание калия в листьях хлопчатника и белка вителина в яйцах клеща. Установлено, что все инсектициды незначительно понижают содержание калия, причем ланнейт снижает содержание вителина. Таким образом, обработка этими инсектицидами не приводит к увеличению фертильности клеща, а увеличение численности сосущих насекомых можно объяснить повышением количества питательных веществ и снижением защитных соединений.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что обработка хлопчатника суми-альфа снижает уровень защитных вторичных метаболитов: терпеноидов, тиолов, оксигеназных и гидролазных ферментов, а также стрессовых фитогормонов (салициловой и жасмоновой кислот).

Исходя из всесторонних негативных влияний суми-альфа, далее исследовали его воздействие на профиль белков в листьях хлопчатника.

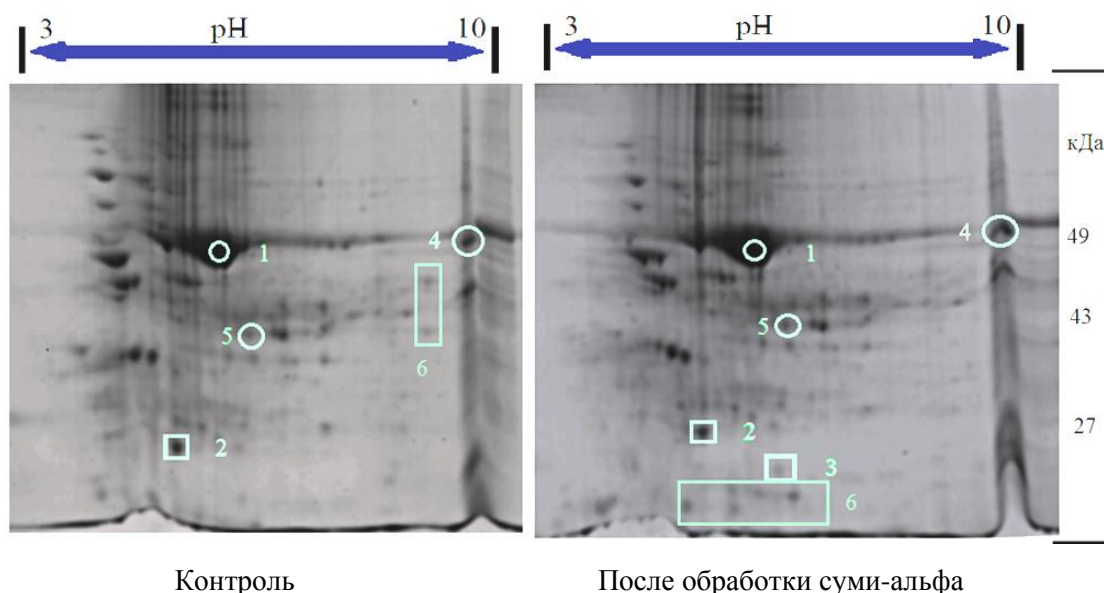


Рис. 6. Изменения в фоне растворимых белков после обработки суми-альфа

Определено, что наиболее синтезируемым белком в листьях хлопчатника является рибулоза-бисфосфат карбоксилаза (RuBisCo) с молекулярной массой 54 кДа. Результаты LC-MS анализа показали, что установленная аминокислотная последовательность этих белков соответствует изоформам Gohir.A11G145500.1 и Gohir.D03G077600.1 в базе данных Phytozome (1 пятно на рис. 6). Аминокислотная последовательность полученных фрагментов представлена на рис. 7.

Установлено, что под действием суми-альфа другая изоформа RuBisCo, состоящая из 245 аминокислот, расщепляется и формируется новая молекула белка с меньшей молекулярной массой. Пептидные фрагменты, которые были определены методом LC-MS хромато-масс спектрометрии, полностью совпадают с белком, синтезируемым геном Gorai.013G111200.1, имеющимся в базе данных Phytozome. Полученные фрагменты представлены на рис.7.

В базе данных Phytozome показано, что Gorai.013G111200.1 кроме

домена RuBisCo PF00016 имеет еще один домен PF02788. Полученные данные показывают, что за счет отщепления аминокислотной последовательности, входящей в состав домена PF02788, формируется новая молекула белка, которая предположительно может быть достаточной для формирования домена RuBisCo PF00016.

Gohir.A11G145500.1 (Gohir.D03G077600.1) (1 пятно на рис. 6)

MSCREGLMSPQTETKASVGFKAGVKEYKLTYYTPEYEVKDTTDILA~~AFRVTPQPGVPPEEAGAA~~
VAAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYDIEPVPGEEDQYICYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSI
VGNVFGFKALRALRLEDLRVPTAYIKTFQGGPPHGIQVERDKLNKYGRPLLGCTIKPKLGLSAKN
YGRAVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCAEAIFKSQAETGEIKGHYLNATAGTC
EEMIKRAMCARELGVPIVMHDYLTGGFTANTSLAHYCRDNGLLLHIHRAMHAVIDRQKNHGM
HFRVLAKALRMSGGDHINAGTVVGKLEGERDITLGFVDLLRDDFIEKDRSRGIYFTQDWVSMGP
VLAVA(P)SGGIHVWHMPALTEIFGDDSVLQFGGGTLGHPWGNAPGAVANRVALEACVQARNE
GRDLAREGNEIIREASKWSPELAAACEVWKAIKFEFDAVDKLDKVEK

Gorai.013G111200.1 (2 пятно на рис. 6)

VKDTTDILA~~AFRVTPQPGVPPEEAGAA~~VAAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYDIEPVPGE
DQYICYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRVPTAYIKTFQGGPPHGIQVER
DKLNKYGRPLLGCTIKPKLGLSAKNYGRAVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCA
EAIFKSQAETGEIKGHYLNATAGTCEEMIKRAMCARELGVPIVMHDYLTGGFK

Gorai.013G111200.1 (3 пятно на рис. 6)

VKDTTDILA~~AFRVTPQPGVPPEEAGAA~~VAAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYDIEPVPGE
DQYICYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRVPTAYIKTFQGGPPHGIQVER
DKLNKYGRPLLGCTIKPKLGLSAKNYGRAVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCA
EAIFKSQAETGEIKGHYLNATAGTCEEMIKRAMCARELGVPIVMHDYLTGGFK

Рис. 7. Аминокислотная последовательность белков RuBisCo Gohir.A11G145500.1 (Gohir.D03G077600.1) и Gorai.013G111200.1. *Аминокислотная последовательность идентифицированных фрагментов отмечена серым цветом, N- и C-концевые аминокислоты показаны жирным.

Обработка листьев хлопчатника суми-альфа привела к увеличению экспрессии некоторых белков. Один из них был идентифицирован как изоформы фактора элонгации. Показано, что установленные фрагменты наиболее соответствуют 7 изоформам, представленным в базе данных Phytozome. Эти результаты объясняют, что индуцирование белков в листьях хлопчатника, обработанных суми-альфа, связаны с повышением фактора элонгации, который катализирует связывание аминоацил-тРНК к А-участку рибосомы. Аминокислотная последовательность одной из изоформ фактора элонгации представлена на рис. 8.

Gohir.D01G096000.1 (4 пятно на рис. 6)

MGKEKTHINIVVIGHVDSG**KSTTTGHLIYKLG**GIDKRVIERFEKEAAEMNKRSFKYAWVLDKLLK
AERERGITIDIALWKFETTKYYCTVIDAPGHRDFIKNMITGTSQADCAVLIIDSTTGGFEAGISKDG
Q**TREHALLAFTLGVKQ**MICCCNKMDATTPKYS**KARYDEIVKE**VSSYLKKVGYNP**D**KIPFVPISGF
EGDNMIER**STNLDWYKG**PTLLEALDQINEPKRPSDKPL**RLPLQDVYKIGGIGTVPVGRVETGV**LK
PGMVVTFG**PSGLTTEVKS**VEMNH**EA**L**TE**ALPGDNVGFNVKNVAVKDLKRG**F**VASNSKDDPAKE
AANFTSQVIIMNHPGQIGNGYAPVLDCHTSHIAVK**FAELL**TKIDRRSGKELEKEPKFLKNGDAGM
IKMPTKPMVVET**FSEYPPLGRF**AVRDMRQTVAVGV**IKS**VE**KE**DPTGAKVTKSAA**KKK***

Рис. 8. Аминокислотная последовательность фактора элонгации Gohir.D01G096000.1. *Аминокислотная последовательность идентифицированных фрагментов отмечена серым цветом, N- и C-концевые аминокислоты фрагментов показаны жирным. Различающиеся аминокислоты в разных изоформах показаны курсивными, подчеркнутыми буквами.

Другим белком, экспрессия которого увеличилась после обработки суми-альфа, является фруктозо-бисфосфат альдолаза (5 пятно, рис. 6). Определенные фрагменты совпали с четырьмя изоформами, состоящими из 397 аминокислот, с двумя изоформами из 396 аминокислот и двумя изоформами из 394 аминокислот, представленными в базе данных Phytozome. Аминокислотные последовательности трех из этих изоформ приведены на рис. 9.

Gohir.A13G030500.1 (5 пятно на рис. 6)

MASASATLLKSSPIIDKSEWIKGQNLRHPSVCFV**RS**HPTSAAF**T**VRASSYADELVK**TAKT**VASPG
RGILAMDESNATCGKRLASIGLENTEAN**RQ**AYRTLLVSAPGLG**NY**ISGAILFEETLYQSTIDG**KK**
MVDVLVEQNIVPGIKVDK**GL**VPLPGSNNESWCQGLDGLSSRTAA**YY**QQGARFAKWRTVVSIPN
GPSALAV**KEAAWGLARY**AAISQDSGLVPIVEPEILLDGDHGIDRTFEVAQKWAEVFFYLAENN
VMFEGILLKPSMVT**PGA**ECKDKATPQ**VADY**TLKLLHRRIPPAVPGIMFLSGGQSEVEATLNLNA
MNQSPNPWHVSFSYARALQNTCL**K**TWGGRPEN**VKAAQD**ALL**VRAKANS**LAQLGKYTGEGESE
EAKKGMFVKGYVY*

Gohir.A05G317700.1 (Gohir.D05G319600.1) (5 пятно на рис. 6)

MACVSFAKLNAPSSSWIGGQQSLPQRSGSSARLATRRVSLPIRAGAYTDELIKTAKTIASPGRGIL
AIDSNATCGKRLSSIGLDNTEPNRQAYRQLLLTTPGLGEYISGAILFEETLYQSTTDGKKFVDVL
HDQ**KIV**PGIKVDK**GL**VPLPGSNNESWCQGLDGLSSRS**AE**YYKQGARFAKWRTVVSIPCGPSALA
V**KEAAWGLARY**AAISQDNGLVPIVEPEILLDGDH**PIG(E)**RTLEVAEKVWAEVFFYLAENNVIFEG
ILLKPSMVT**PGA**ENKERANPETIAKYTLT**MLKRR**VPPAVPGIMFLSGGQSEMEATLNLHAMNQSP
NPWHVSFSYARALQNTVLKTWQGRPEN**VEAAQKALLVRAKANS**LAQLGKYSAEGESEEA**KKG**
MFVKGYTY*

Рис. 9. Аминокислотные последовательности изоформ фруктозо-бисфосфат альдолазы. *Аминокислотная последовательность идентифицированных фрагментов показана серым цветом, N- и C-концевые аминокислоты фрагментов показаны жирным. Различающиеся аминокислоты в разных изоформах показаны курсивными и подчеркнутыми буквами.

Наличие пептидных фрагментов **KMVDVLVEQNIVPGIKVDKG** и **KIVPGIKVDKG** показывает, что полученные данные соответствуют разным изоформам этого фермента. Увеличение количества фруктозо-бисфосфат альдолазы приводит к ускорению обратимой реакции расщепления фруктоза-1,6-бисфосфата в дигидроксиацетон фосфат и D-глицеральдегид-3-фосфат,

которые являются промежуточными соединениями процесса гликолиза.

Протеомным анализом также определено, что обработка суми-альфа привела к распаду двух изоформ белков семейства нуклеозид трифосфат гидролаз, включающих аминокислотную последовательность **KVAKGKSPRK** (6 пятен на рис. 6). Эти ферменты до сих пор определены только у модельного растения *A.thaliana*.

В четвертой главе диссертации «**Применение инсектицидов и методы оценки изменений биохимических показателей в листьях хлопчатника**» оценено увеличение пищевой привлекательности для флорентных вредителей, приведен сравнительный анализ содержания сахаров, растворимых белков и суммы свободных аминокислот после обработки хлопчатника различными классами инсектицидов. Приведены методы определения изменений уровней защитных белков и терпеноидных альдегидов, а также методы проведения протеомного анализа листьев хлопчатника, обработанных инсектицидами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований в рамках данной диссертации на тему «Действие широко применяемых инсектицидов против хлопковой совки на биосинтез некоторых активных соединений хлопчатника» представлены следующие выводы:

1. Изучена динамика накопления питательных веществ – растворимых сахаров и белков в листьях хлопчатника после обработки инсектицидами различных классов. Показано, что после обработки суми-альфа, циперметрин и аваунт содержание белков и сахаров достигает максимум на 10 и 13 день.

2. Методом ВЭЖХ проанализировано содержание госсипола, гелиоцидов Н1-Н4, гемигоссиполона и его метилового эфира в листьях хлопчатника, обработанных инсектицидами. Показано, что наибольшее уменьшение уровня терпеноидов по сравнению с контролем происходит на 7, 10, 13 дни после обработки.

3. Количество глутатиона, центрального соединения в нейтрализации реактивных кислородных соединений через цикл глутатион-аскорбат, уменьшалось после обработки суми-альфа и обработка карбофосом и ланнейтом привела к увеличению их количества.

4. Проведен *in silico* анализ хитиназ в геноме хлопчатника. Идентифицирована 41 хитиназа по аналогии с последовательностью генов *Arabidopsis thaliana*. Активность хитиназ после обработки суми-альфа почти вдвое понижена.

5. Определено, что репродуктивность паутиного клеща понижается после обработки с суми-альфа, карбофос и ланнейт. Снижается уровень вителина – белка, определяющего фертильность паутиного клеща.

6. Разработаны методические рекомендации по количественной оценке уровня вторичных метаболитов, определяющих устойчивость хлопчатника к сосущим вредителям в норме и после обработки инсектицидами.

7. Определяя частичную аминокислотную последовательность, показано

формирование новой молекулы белка путем разрушения одной из изоформ RuBisCo в листьях хлопчатника обработанных с суми-альфа.

8. Установлено повышение экспрессии ферментов фактора элонгации EA1F и фруктозо-бисфосфат альдозы после воздействия суми-альфа. Показаны частичные аминокислотные последовательности изоформ белков.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC
CHEMISTRY, THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN AND
INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

ASROROV AKMAL MAJITOVICH

**EFFECTS OF INSECTICIDES, WIDELY USED AGAINST COTTON
BOLLWORM, ON BIOSYNTHESIS OF SOME ACTIVE COMPOUNDS IN
COTTON PLANT**

02.00.10 –Bioorganic chemistry

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

Tashkent - 2018

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2018.1.PhD/K88

The dissertation has been prepared at the Institute of Bioorganic chemistry

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

Scientific supervisor:

Salikhov Shavkat Ismailovich
doctor of biological sciences, academician

Official opponents:

Ramazanov Nurmurod Sheraliyevich
doctor of chemical sciences, professor

Mavlonov Gafurjon Turdaliyevich
doctor of philosophy on chemical sciences

Leading organisation:

Tashkent chemical-technological institute

Defense will take place on «__» March 2018 year at 12⁰⁰ at the meeting of the Scientific council DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 of the Institute of Bioorganic Chemistry, the National University of Uzbekistan and the Institute of Chemistry of Plant Substances at the following address: 100125, Tashkent, 83, M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Bioorganic Chemistry (registration number _____) (Address: 100125, Tashkent, 83, M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63., e-mail: asrarov54@mail.ru).

Abstract of the dissertation is distributed on «__» February 2018.
(protocol at the register № _____ dated ____ February 2018).

A.S.Turaev
Vice chairman of scientific council on award of
scientific degrees, D.Ch.Sc., academician

M.I.Asrarov
Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., professor

A.A.Akhunov
Chairman of scientific seminar under scientific council
on award of scientific degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is determining the role of secondary metabolites and defensive proteins as abiotic stress resistance indicators, developing complex methodology for the evaluation of the putative negative effects of insecticides on cotton plant resistance against sucking pests - cotton aphid and spider mites.

The objects of the research work were C 26 and Deizi 80 varieties of *Gossypium hirsutum*, insecticides: pyrethroids, phosphorous organic compounds, carbamates and nicotinoids.

Scientific novelty of the research work:

it has been determined that the quantity of antifeedant terpenoid aldehydes lowered after treatment with pyrethroids;

established, that the quantity of glutathion and total thiol groups in cotton leaves changed in mutual accordance after treatment with insecticides;

a new polypeptide of ribulose-1,5-bisphosphate was determined in cotton leaves treated with sumi-alfa, has been proven its partial amino acid sequence;

the quantity of enzymes – elongation factor and fructose-bisphosphate aldolase increased in cotton plant leaves, treated sumi-alfa, partial amino acid sequences of isoforms have been proven.

Implementation of the results. On the basis of obtained results on studying effects of different classes' insecticides on biochemical processes in cotton plant:

methodical guidelines by the estimation of quantitative changes of secondary metabolites of cotton plant, treated by insecticides karate, sumi-alfa, cypermethrin, avaut, lannate, carbophos included in the "List of pesticides and agrochemicals permitted to be used in agriculture of Republic of Uzbekistan" have been developed (reference, №-2-5-187, by State commission of chemicalization and plant defensive means, dated on 13th November, 2017). These results made it possible to introduce changes to the usage system of chemical means;

wether the treatment with lannate preparation increased polyphenoloxidase and chitinase activities was used to perform applied research project "Improvement of integrated cotton protection system against pests, by taking the changes in the composition of crop rotation and pest of stubble plants into consideration" to determine the effects of insecticides on plants (reference №-02-11/1120, by Agency of science and technologies of Republic of Uzbekistan). As a result, it had made it possible to determine the efficiency of lannate preparation on targeted pests.

scientific results, on *in-silico* analysis of chitinases in cotton plant genome, are recognized by University of Cyril and Methodius (Slovak Republic) and used as a scientific source (reference by the University, dated on 17th August, 2017). Scientific results were used to determine the principles of functional evolution of plant proteins.

The structure and volume of the thesis. Containing 118 pages of text, the dissertation has introduction, four chapters, conclusions, list of references and appendices.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS
I бўлим (I часть; I part)

1. A.M.Asrorov, H.A.Aisa, O.N.Veshkurova, A.Yili, E.M.Sultanova, Sh.I. Salikhov. Influence of five Chinese Insecticides to PR Enzymes activity of Upland Cotton Leaves // Ўзбекистон биология журнали. Тошкент, 2011. 3. – Б. 6-11. (03.00.00. № 5).

2. A.Asrorov, E.Sultanova, O.Veshkurova, N.Sattarov, Sh.Khodjayev, Sh.Salikhov. Effects of different classes of insecticides on the activity of oxidoreductase PR proteins in cotton leaves // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2013. 1. – Б. 41-45. (02.00.00. №6).

3. Асроров А.М., Зиявитдинов Ж.Ф., Ишимов У.Ж., Султанова Э.М., Вешкурова О.Н., Матжанов А.Д., Салихов Ш.И. Сравнительное влияние различных классов инсектицидов на уровень свободных аминокислот, азота и калия в листьях хлопчатника // Ўзбекистон кимё журнали. Тошкент, 2014. 1. – Б. 49-53. (02.00.00. №6).

4. Asrorov A., Matusikova I., Dalimova S., Galova Z., Sultanova E., Veshkurova O., Salikhov Sh. Agrochemicals Affect the Antioxidative Defense Potential of Cotton Plants // Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences. Nitra, 2016. 5(6). – P. 505-508. (IF № 40 (Researchgate), 0.29).

5. Asrorov A.M., Matusikova I., Galova Z., Gregorova Z., Meszaros P., Dalimova S., Salikhov Sh. The family of chitinases in cotton *G. raimondii* // The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. Nitra, 2017. 6(6). – P. 1284-1289. (IF № 40 (Researchgate), 0.29).

II бўлим (II часть; Part II)

1. Asrorov A.M., Sultanova E.M., Veshkurova O.N., Salikhov Sh.I. The influence of some pyrethroid insecticides to the content of proteins of cotton plant // Bioorganik kimyo muammolari VI Respublika yosh kimyogarlari konferensiyasi. – Namangan. -2009. – B. 10-12.

2. Асроров А.М., Султанова Э.М., Узбеков В.В., Вешкурова О.Н., Ходжаев Ш.Т. Влияние инсектицидов на содержание терпеноидных альдегидов в листьях хлопчатника *Gossypium hirsutum* // Материалы IV всероссийской конференции «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул.-2009. (II Книга) – С. 172.

3. Асроров А.М., Вешкурова О.Н., Султанова Э.М., Ходжаев Ш.Т., Узбеков В.В., Салихов Ш.И. Динамика изменения содержания полифенолов и активности пероксидазы в листьях хлопчатника после обработки инсектицидами // Международный симпозиум по фенольным соединениям: Фундаментальные и прикладные аспекты. – Москва. 2009. – С. 21-22.

4. Асроров А.М., Сатторов Н.Р., Вешкурова О.Н., Султанова Э.М.,

Ходжаев Ш.Т. Изучение влияния различных инсектицидов на количество общих и восстанавливающих сахаров в листьях *Gossypium hirsutum* // Конференция молодых ученых посвященной памяти акад. С.Ю.Юнусова. – Ташкент. 2011. – С. 80.

5. Asrorov A.M., Veshkurova O.N., Sultanova E.M., Salikhov Sh.I. Cotton leaf Urease and other PR proteins activity under insecticide treatment // Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. – Tashkent. - 2013. – P. 333.

6. Asrorov A, Matušíková I, Gálová Z, Dalimova S, Kelemenová A, Mészáros P, Salikhov Sh. Studying The Gene Family of Chitinases in Cotton (*Gossypium raimondii*) // IX. Vedeckej konferencie doktorandov. – Nitra (Slovakia). 2015. – P.32.

7. Asrorov A.M., Matušíková I., Dalimova S.N., Galova Z., Salikhov Sh.I. Genomic survey of cotton for presence of chitinases // International Network AgroBioNet “Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality”. – Nitra (Slovakia). 2015. (Part I). – P. 29-32.

Автореферат «Ўзбекистон биология журналы» таҳририятида таҳрирдан ўтказилди ва унинг ўзбек, рус ва инглиз тили матнлари мос келади (05.02.2018).

Босишга рухсат этилди. **17.02.2018** й. Бичими 60x84 1/16 Офсет қоғози.
Ризограф усулда. Times гарнитураси. Шартли босма табоғи 2.7.
Адади 70 нусхада. Буюртма № 07.02

“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмахонасида чоп этилди. Манзил: Тошкент ш.,
Қушбеги кўчаси, 6 уй.