Современная биология и генетика
(Международный научный журнал)

Modern Biology and Genetics
(International scientific journal)

2023

№3

Современная биология и генетика
Международный научный журнал, №1 (3), 2023

Журнал основан в 2022 г.
ISSN 2181-340X (Online)
ISSN 2181-3396 (Print)

Журнал выходит 4 раз в год

Журнал зарегистрирован Агентство информации и массовых коммуникаций при Администрации Президента Республики Узбекистан (свидетельство о государственной регистрации средства массовой информации № 1587 от 20.04.2022 г.).

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор:
Б.Х.Аманов – д-р биол. наук, доцент (ЧГПУ, Узбекистан)
Заместители главного редактора:
В.Б. Файзиев – д-р биол. наук, доцент (ЧГПУ, Узбекистан)
Х.А.Муминов – д-р биол. наук, доцент (ЧГПУ, Узбекистан)
Ответственный редактор:
Д.У.Закиров – стар. учит. (ЧГПУ, Узбекистан)
Члены редакционного совета:
А.Х.Вахобов – д-р биол. наук, профессор (НУУз, Узбекистан)
К.Д. Давранов – д-р биол. наук, профессор (ИМ АНРУз, Узбекистан)
О.Э.Зиядуллаев – д-р хим. наук, профессор (ЧГПУ, Узбекистан)
С.Г.Бобоев – д-р биол. наук, профессор (НУУз, Узбекистан)
А.А. Нариманов – д-р биол. наук, профессор (ИГиЭБР АНРУз, Узбекистан)
А.К.Рахимов- д-р пед. наук, профессор (ЧГПУ, Узбекистан)
И.Дж.Курбанбаев – д-р биол. наук, профессор (ИГиЭБР АНРУз, Узбекистан)
А.Г.Шерембетов - д-р биол. наук, стар.науч.сотр. (ИГиЭБР АНРУз, Узбекистан)
С.Н.Чирков – д-р биол. наук, профессор (МГУ, Россия)
Б.А.Сирожидинов - д-р биол. наук, доцент (АГПИ, Узбекистан)
А.Абдуллаев- д-р биол. наук, профессор (ИБФиГР АНРТ, Таджикистан)
Саид Хамода – д-р биол. наук, профессор (Каирский Университет Египет*)*
Равипракаш Г. Дани - д-р биол. наук, профессор (Биотехнологический центр, Индия)
А.Т.Ашуров - кан. биол. наук, доцент (Таджикского медицинского государственного университета имени Абу али ибн Сино, Таджикистан)
А.А.Темиров – кан. биол. наук, доцент (ЧГПУ, Узбекистан)
Б.Р.Рамазанов – кан. биол. наук, доцент (ЧГПУ, Узбекистан)
М.М.Ишмуратова – д-р биол. наук, профессор (БашГУ, г. Уфа, Россия)
А.С.Кистубаева – д-р биол. наук, профессор (КазНУ имени аль-Фараби, Казахстан)
А.Н.Худжанов – д-р фил. биол. наук, доцент (СГУ, Узбекистан)
А.К.Буронов – д-р фил. биол. наук, доцент (ЧГПУ, Узбекистан)
М.С.Аюбов – д-р фил. биол. наук, ст.н.с. (ЦГиБ АНРУз, Узбекистан)
Ш.У.Бобоходжаев – д-р фил. биол. наук, доцент (НУУз, Узбекистан)
Ш.Н.Кузиев - д-р фил. биол. наук, доцент (НУУз, Узбекистан)
Ж.Ш.Шавкиев – д-р фил. биол. наук (ЧГПУ, Узбекистан)
Ф.Б.Эшбоев – д-р фил. биол. наук, (Институт Химии Растительных Веществ АН РУз)

За достоверность сведений, изложенных в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов материалов.

Адрес редакции: 111700, Республика Узбекистан, Ташкентская область, город Чирчик, ул. А.Темура, д. 104.

E-mail: modern_biology.genetics.uz@mail.ru, www.cspi.uz
Учредитель и издатель: ООО «Lesson press»

Состав редакционного совета утвержден заседанием Чирчикского государственного педагогического института Ташкенской области (протокол № 13 от 31 март 2022 года).

Modern Biology and Genetics

International scientific journal, №1 (3), 2023

The journals is founded in 2022.
ISSN 2181-340X (Online)
ISSN 2181-3396 (Print)

The journal is issued 4 times year.

The journal registered by Agency for Information and Mass Communications under the Administration of the President of the Republic of Uzbekistan (certificate of state registration of mass media No. 1587 от 20.04.2022).

EDITORIAL ATAFF:

Head editor:
B.Kh.Amanov – DSc, associate professor (ChSPU, Uzbekistan)
Deputy Chief Editors:
V.B.Fayziyev – DSc, associate professor (ChSPU, Uzbekistan)
Kh.A.Muminov – DSc, associate professor (ChSPU, Uzbekistan)
Executive editor:
D.U.Zakirov – senior teacher (ChSPU, Uzbekistan)
Members of the editorial board:
A.Kh.Vakhobov – DSc, professor (NUUz, Uzbekistan)
K.D.Davranov – DSc, professor (NUUz, Uzbekistan)
O.E.Ziyadullayev – DSc, professor (ChSPU, Uzbekistan)
S.G.Boboyev – DSc, associate professor (NUUz, Uzbekistan)
A.A.Narimanov - DSc, professor (Institute of *Institute of Genetics and Experimental Biology of Plants* the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan)
A.K.Raximov- DSc, professor (ChSPU, Uzbekistan)
I.Dj.Kurbanbayev – DSc, professor (Institute of *Institute of Genetics and Experimental Biology of Plants* the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan)
A.G.Sherembetov - DSc, senior Researcher (Institute of *Institute of Genetics and Experimental Biology of Plants* the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan)
S.N.Chirkov – DSc, professor (Lomonosov Moscow State University, Russia)
B.A.Sirojidinov-DSc, associate professor (ASPI, Uzbekistan)
A.Abdullayev - DSc, professor (IBPPhandG NAST, Tajikistan)
Said Hamoda - DSc, professor (Cairo University, Egypt)
Raviprakash G. Dani – PhD, professor (Biotechnology Centre, India)
A.T.Ashurov- PhD, associate professor (Tajik Medical State University named after Abu Ali ibn Sino, Tajikistan)
A.A.Temirov – PhD, associate professor (ChSPU, Uzbekistan)
B.R. Ramazanov – PhD, associate professor (ChSPU, Uzbekistan)
M.M.Ishmuratova – DSc, associate professor (Bashkir State University, Ufa, Russia)
A.S.Kistubayeva – DSc, professor (Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan)
A.N.Khudjanov – PhD, associate professor (SSU, Uzbekistan)
A.K.Buronov – PhD, associate professor (ChSPU, Uzbekistan)
M.S.Ayubov – PhD (Center of Genomics and Bioinformatics, Uzbekistan)
Sh.U.Boboxodjayev – PhD, associate professor (NUUz, Uzbekistan)
Sh.N.Kuziyev - PhD, associate professor (NUUz, Uzbekistan)
J.Sh.Shavkiev – PhD, Senior Researcher (ChSPU, Uzbekistan)
F.B.Eshboev – PhD, Senior Researcher (Institute of Chemistry of Plant Substances AS RUz)

Authors have responsibility for credibility of information set out in the articles. Editorial opinion can be out of phase with opinion of the authors.

Address: 111700, Republic of Uzbekistan, Tashkent region, Chirchik city, st. A.Temur, 104.

modern_biology.genetics.uz@mail.ruwww.cspi.uz

Founder and publisher: «Lesson press» Ltd.

The composition of the editorial board was approved by the meeting of the Chirchik State Pedagogical Institute of the Tashkent region (minutes №13 dated March 31, 2022).

СОДЕРЖАНИЕ

Биофизика

Асраров М.И., Курбанова Н.Б., Позилов М.К.
ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ФЛАВОНА ГИПОЛАЭТИНА-8-ГЛИКОЗИДА НА МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ ПОРУ ПРОНИЦАЕМОСТИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИБЕТЕ…… 5

Вирусология

Махмудов Т.Х.,.Кодирова З.Н., Абдикаримов Б.К., Абдувалиев Б.А., Зияев З.М., Назаров Ш.Н.
ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛЮТЕОВИРУСОВ В ЗЕРНОВЫХ РАСТЕНИЯХ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ…… 11

Холматова М.М., Файзиев В.Б.
ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ Л ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР…… 17

Генетика

Абдикодиров М.А., Насириллаев Б.У.
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ, СБАЛАНСИРОВАННЫХ ПО ДВУМ НЕАЛЛЕЛЬНЫМ Z-ЛЕТАЛЯМ, С ПОВЫШЕННЫМИ КАЧЕСТВЕННЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КОКОНОВ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *BOMBYX MORI* L…… 25

Аманов Б.Х., Набиева Н.Н., Тутушкина Н.В.
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВИДОВ ХЛОПЧАТНИКА СЕКЦИИ MAGNIBRACTEOLATA…… 39

Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Силкова О.Г.
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АНЕУПЛОИДНЫХ БЕККРОССНЫХ ГИБРИДОВ F_1BC_1, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ СКРЕЩИВАНИЙ МОНОСОМНЫХ И МОНОТЕЛОДИСОМНЫХ ЛИНИЙ ХЛОПЧАТНИКА (*G.HIRSUTUM* L. × *G.BARBADENSE* L.) × *G.HIRSUTUM* L. …… 52

Физиологии и биохимии растений

Собирова З.Ш.
ВЛИЯНИЕ MDMV НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ КУКУРУЗЫ…… 72

Рамазонов Б.Р.
ПРОЦЕССЫ ДЕГУМИФИКАЦИИ, НАБЛЮДАЕМЫЕ В ОРОШАЕМЫХ ГИДРОМОРФНЫХ ПОЧВАХ НИЖНЕГО ТЕЧЕНИЯ АМУДАРЬИ…… 00

Геномика, протеомика, биоинформатика

Кадырова Д.А., Нормуродова К.Т., Ибрагимов А.А., Норкобилова З.А.
ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА MDR1 ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ…… 78

Юбилеи

Закиров Д.У., Мадиева Н.
НАУЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ АКАДЕМИКА АРИПОВОЙ ТАМАРАХОН УКТАМОВНЫ…… 87

Память

Курбанбаев И.Дж ., Абдушукирова С.К., Аманов А.М., Агаева Л.Ф.
ПАМЯТИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ПРОФЕССОРА МИРАДХАМ ФУЗАИЛОВИЧА АБЗАЛОВА…… 89

CONTENTS

Biophysics

Asrarov M.I., Kurbanova N.B., Pozilov M.K.
THE INHIBITORY EFFECT OF PLANT FLAVON HYPOLAETIN-8-GLUCOSIDE ON THE LIVER MITOCHONDRIAL PERMEABILITY PORE IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC RATS..... 00

Virusology

Maxmudov T.H., Kadirova Z.N., Abdikarimov B.K., Abduvaliev B.A., Ziyaev Z.M.., Nazarov Sh.N.
STUDY OF THE SPREAD OF LUTEOVIRUSES IN CEREAL PLANTS BY POLYMERASE CHAIN REACTION..... 00

Kholmatova M.M., Fayziyev V.B.
DETECTION AND IDENTIFICATION OF SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POTATO L-VIRUS USING REAL-TIME PCR METHOD..... 00

Genetics

Abdikodirov M.A., Nasirillaev B.U.
DEVELOPMENT OF A NEW METHOD FOR OBTAINING GENETIC LINES BALANCED BY TWO NON-ALLELIC Z-LETALS WITH INCREASED QUALITY TRAITS OF SILKWORM *BOMBYX MORI* L. COCOONS…….. 00

Amanov B.Kh., Nabiyeva N.N., Tutushkina N.V.
PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF SOME POLYMORPHOUS COTTON SPECIES OF THE SECTION MAGNIBRACTEOLATA…….. 00

Sanamyan M.F., Bobokhujayev Sh.U., Silkova O.G.
CYTOGENETIC ANALYSIS OF ANEUPLOID F_1BC_1 BACKCROSS HYBRIDS OBTAINED FROM CROSSINGS OF MONOSOMIC AND MONOTELODISOME COTTON LINES (*G.HIRSUTUM* L. × *G.BARBADENSE* L.) × *G.HIRSUTUM* L. ……. 00

Plant physiology and biochemistry

Sobirova Z.Sh.
INFLUENCE OF MDMV ON THE PIGMENT COMPOSITION OF DIFFERENT ZEA MAYS GENOTYPES……. 00

Ramazanov B.R.
DEHUMIFICATION PROCESSES OBSERVED IN IRRIGATED HYDROMORPHIC SOILS OF THE LOWER AMUDARYA…….. 00

Genomics, proteomics and bioinformatics

·Kadirova D.A, Normurodova K.T., Ibragimov A.A., Norкobilova Z.A.
SIGNIFICANCE OF MDR1 GENE POLYMORPHISMS IN CANCER CHEMOTHERAPY…….. 00

Anniversaries

Zakirov D.U., Maduyeva N.
SCIENTIFIC ACTIVITY OF ACADEMICIAN ARIPOVA TAMARAKHON UKTAMOVNA…… 00

Memory

Kurbanbayev I.Dj., Abdushukurova S.K., Amanov A.M., Agayeva L.F.
IN MEMORY OF DOCTOR OF BIOLOGICAL SCIENCES, PROFESSOR MIRADKHAM FUZAILOVICH ABZALOV…… 00

Биофизика
BIOPHYSICS

УДК 76.311.347:616.379

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ФЛАВОНА ГИПОЛАЭТИНА-8-ГЛИКОЗИДА НА МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ ПОРУ ПРОНИЦАЕМОСТИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИБЕТЕ

М.И.Асраров[1], Н.Б.Курбанова[2], М.К.Позилов[2]
[1]Институт биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека
[2]Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека,
Адрес: 100174, г.Ташкент, Алмазарский район, Вузгородок, ул. Университетская, 174.
*Соответствующий автор email: asrarov54@mail.ru
Адреса электронной почты соавторов: mamurjon2281@mail.ru

Аннотация. Показано, что флавон гиполаэтин-8-глюкозид оказывает гипогликемический эффект у белых крыс с аллоксановым диабетом. При пероральном введении гиполаэтин-8-глюкозида в течение 10 дней в дозе 10,0 мг/кг/день массы тела лабораторных животных, снижается индуцированное Fe^{2+}/цитратом перекисное окисление липидов (ПОЛ) и ингибируется открытие митохондриальной поры проницаемости (mPTP) в митохондриях печени у диабетических крыс.

Ключевые слова: митохондрии, аллоксановый диабет, пора проницаемости, гиполатин-8-глюкозид, рутин.

THE INHIBITORY EFFECT OF PLANT FLAVON HYPOLAETIN-8-GLUCOSIDE ON THE LIVER MITOCHONDRIAL PERMEABILITY PORE IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC RATS

M.I.Asrarov[1], N.B.Kurbanova[2], M.K.Pozilov[2]
[1]Institute of Biophysics and Biochemistry at the Mirzo Ulugbek National University of Uzbekistan
[2]National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek Tashkent, Uzbekistan
Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University St. 174
**Corresponding author email: asrarov54@mail.ru*
E-mail addresses of co-authors: mamurjon2281@mail.ru

Annotation. The flavone hypolaetin-8-glucoside shown to have a hypoglycemic effect in white rats with alloxan diabetes. Oral administration of hypolaetin-8-glucoside for 10 days at a dose of 10.0 mg/kg/day of body weight in laboratory animals reduces Fe^{2+}/citrate-induced lipid peroxidation (LPO) and inhibits the opening of the mitochondrial permeability pore (mPTP) in liver mitochondria in diabetic rats.

Keywords*:* mitochondria, permeability transition pore, alloxan diabetes, hypolaetin-8-glucoside, rutin.

Introduction

According to the latest data from the World Health Organization, the prevalence of diabetes is increasing. Determining the pathogenesis of diabetes, searching for pharmacological drugs against them and researching mechanisms of hypoglycemic action remain one of the most urgent problems.

It is important to study the membrane disorders at the cell and organelle level and correct them with plant polyphenols in diabetes conditions.

Normally, insulin is secreted from β-cells of pancreatic islets. Insulin increases glucose uptake in muscle and adipose tissue, while decreasing glucose production in the liver [1]. Insulin stimulates cell growth and differentiation, enhances lipogenesis, glycogen and protein synthesis. It also inhibits lipolysis, glycogenolysis and breakdown [2]. As a result of impaired utilization of glucose through the glucose transporter in the plasma membrane of the pancreas, there is a decrease in ATP synthesis and membrane depolarization does not take place. As a result, the Ca^{2+} channel is inhibited in the membrane, potassium channels are activated, and insulin secretion does not take place [3].An increase in the amount of glucose in the blood affects the activity of various organs as a factor of oxidative stress. In particular, it has a harmful effect on the enzymatic system of the liver, protein exchange and mitochondrial metabolic processes. The mitochondrial membrane regulates a variety of cellular functions, including Ca^{2+} signaling, lipid metabolism, production of reactive oxygen species, mitochondrial dynamics, and cell apoptosis. These functions are necessary to ensure the physiological function of the organelle, as well as to control homeostasis in cell metabolism. Mitochondrial dysfunction is responsible for the pathogenesis of many diseases [4]. Ca^{2+} ions are important for the maintenance of ion homeostasis in mitochondria, bioenergy production and the functional state of the cell (survival), in addition to participating in the signaling system in cells. This is because several mitochondrial enzymes involved in the synthesis of ATP through the tricarboxylic acid cycle are controlled by Ca^{2+} ions. For example, α-ketoglutarate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase and ATP synthase [5]. At the same time, prolonged or excessive accumulation of Ca^{2+} ions in the matrix can lead to the opening of the mitochondrial permeability transition pore (*mPTP*) and subsequent release of pro-apoptotic factors [6].

In diabetic conditions, mitochondrial respiratory dysfunction and *mPTP* opening opening is determined [7]. As a result of energy deficiency, the overall functional activity of cells, tissues and organs is disturbed. This makes it necessary to search for biologically active substances that significantly reduce the amount of glucose in the blood and correct the functional state of tissues in diabetes.

One of these biologically active substances is rutin flavonoid, whose antidiabetic effect is manifested by reducing the absorption of carbohydrates from the small intestine, improving glucose absorption by tissues, suppressing gluconeogenesis, activating insulin secretion in β-cells and protecting the islets of Langerhans. Rutin significantly reduces the level of glucose in the blood plasma [8]. Oral administration of rutin to diabetes model animals activates liver hexokinase enzyme involved in gluconeogenesis and lipid metabolism [9]. Currently, the hypoglycemic activities of many flavonoid compounds studied and antidiabetic drugs are being prepared based on them.

At the experiments *in vitro* has been shown antioxidant and antidiabetic properties of the hypolaetin-8-glucoside and another flavonoids [10], wherein

presence of C-2-C-3 double bond and C-4 kenotic group are two essential structural features in the bioactivity of flavonoids especially for antidiabetic property. However, mechanisms of cytoprotective and membrane-active effects of flavonoid compounds at the level of membranes have not been fully explored. One such flavonoid compound is hypolatin-8-glucoside, whose effect on liver mitochondrial dysfunction in alloxan diabetes has not been studied.

The purpose of this work. The effect of hypolaetin-8-glucoside flavon on the case of mPTP and lipid peroxidation of rat liver mitochondria research comparatively with rutin flavonoid in condition of alloxan diabetes.

Research materials and methods. Experiments was researched in without breed, weight 180-200 gr male white rats. Experimental animals were consisted of IV groups: I group - healthy (control), II group - experimental (alloxan diabetes), III group - experimental (alloxan diabetes + hypolaetin-8-glucoside) and IV group - experimental (alloxan diabetes + rutin). Alloxan 150 mg/kg (0.2 ml) solution was injected once into the subcutaneous area of the abdomen in group II, III and IV laboratory animals after one day of fasting to induce diabetes.

After alloxan injection to rats, 12 days later, after the blood glucose level exceeded 11 mmol/l once a day, animals of group II were given 0,2 ml of 0,9% NaCl solution, group III of the experiment hypolatin-8-glucoside flavonoid 10,0 mg/kg and rutin to group IV flavonoid in in the amount of 20 mg/kg was administered orally (per.os) for 10 days. The amount of glucose in the blood was determined by the glucose oxidase method ("Glucose - enzymatic-colorimetric test", Cypress diagnostic, Belgium). Rat liver mitochondria were isolated by differential centrifugation.

Kinetics of mitochondrial swelling (0.3-0.4 mg/ml protein) was determined by spectrophotometer (spectrophotometer V-5000) at 540 nm in an open cell (volume 3 ml) with constant stirring of the mitochondrial suspension at 26°C. was determined. The following incubation medium (IM) was used to determine mitochondrial PTP permeability: 200 mM sucrose, 20 μM EGTA, 5 mM succinate, 2 μM rotenone, 1 μg/ml oligomycin, 20 mM Tris, 20 mM HEPES, and 1 mM KH_2PO4, pH 7.4 [11].

We used from Fe^{2+}/citrate system to study the process of LPO in the mitochondrial membrane and the mitochondrial volume change was determined photometrically in the experiments. Incubation medium (mM): KCl – 125, KCl –65, HEPES –10, pH 7.2; The amount of mitochondria is 0.5 mg/ml; Mitochondria were incubated for 2 min in a medium containing 2 mM citrate before adding 50 μM Fe^{2+} [12].

In the experiments, the kinetics of mitochondrial swelling was calculated as a percentage of the maximum, as the arithmetic mean value of 4-5 different experiments was calculated. Statistical processing of the results and drawing of pictures were performed using the Origin 6.1 (USA) computer program. Where *P<0.05 and **P<0.01 values represent statistical reliability.

The obtained results and their analysis. Several flavonoid compounds are strong antioxidants and antiradicals, and can neutralize free radicals produced during pathological processes. Flavonoid compounds in diabetic conditions increase ATP synthesis, increase resistance to insulin resistance and restore mitochondrial dysfunction [13]. It

has been extensively studied that these compounds have antidiabetic properties, but their effect on mitochondrial function is yet to be investigated. We compared hypolaetin-8-glucoside flavonoids isolated from plants with rutin flavonoids on rat liver mitochondrial *mPTP* and LPO processes. Under alloxan diabetes conditions initially examined the effects of hypolaetin-8-glucoside flavon on the contraction of rat liver mitochondria in the presence of $CaCl_2$. When a coconcentration of 20 μM of $CaCl_2$ is added to the incubation medium, mitochondrial inhibition is taken as a control (100%) (Fig. 1).

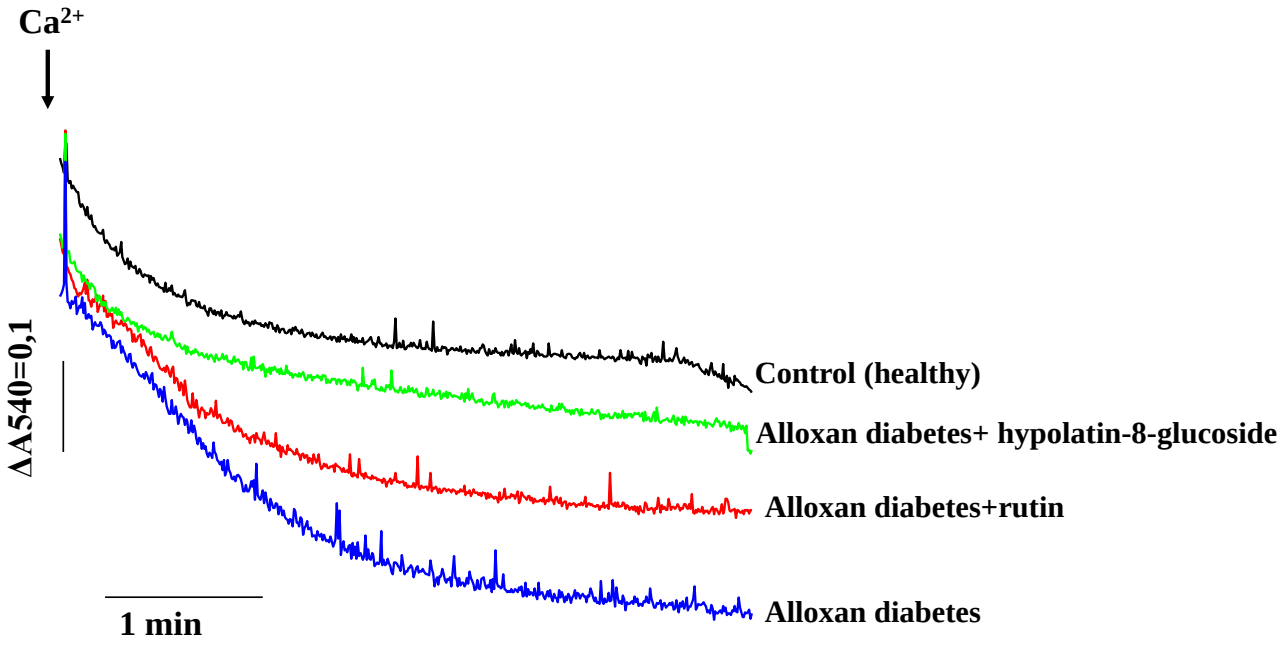


Figure 1. Effects of hypolaetin-8-glucoside and rutin on Ca^{2+} ion-induced swelling of rat liver mitochondria under alloxan diabetes conditions. Original recording of the recording of changes in the light transmittance of the mitochondrial suspension.

A comparison of the alloxan diabetes group with the control group (group I) revealed that the number of mitochondria isolated from rat liver increased by 79,9%. The glucose level in group III animals with alloxan diabetes decreased to a normal level as a result of administration of hypolaetin-8-glucoside flavonoid (orally once a day during 10 days). The inhibition of mitochondria isolated from the liver was significantly decreased by 52,7% as compared to alloxan diabetes when Ca^{2+} ions were present was found (Fig. 2). In group IV animals with alloxan diabetes, ruton flavonoid administration inhibited the throttling of liver mitochondria with Ca^{2+} ions by 34.5% (Fig. 2).

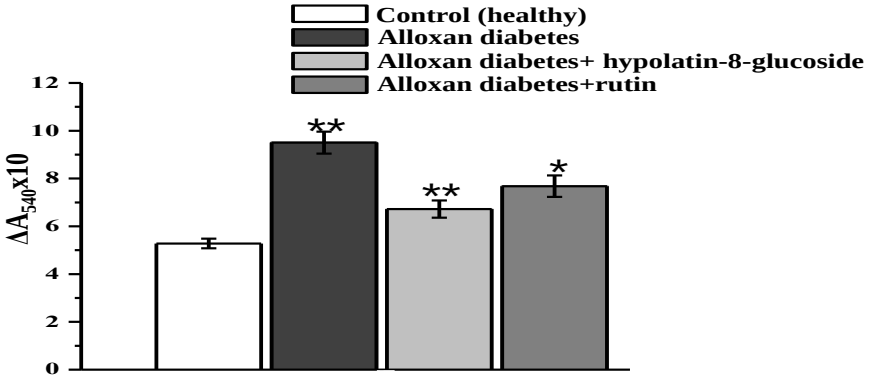


Figure 2. Effects of hypolaetin-8-glucoside and rutin flavonoids on Ca^{2+} ion-induced swelling of rat liver mitochondria under alloxan diabetes conditions. On the ordinate axis - the division of mitochondria is shown based on the optical density change of DA540, on the abscissa axis - the experimental groups are presented; *P<0.05; **P<0.01; n=5.

The obtained results indicate that in alloxan diabetes, the conformation of rat liver mitochondria *PTP* in a highly conductive state may be the mechanism of disruption of cell and mitochondrial ion homeostasis and reduction of ATF synthesis. Thus, hypoglycemic activity hypolatin-8-glucoside flavonoid, alloxan, reduces *mPTP* permeabilization by reducing mitochondrial damage in diabetic conditions.

Diabetes results in a sharp increase in mitochondrial number and LPO of mitochondrial membranes in both the inner and outer membranes. As a result of mitochondrial damage, the LPO process in its membrane is accelerated, the membrane potential decreases, and ion permeability may change. The formation of free radicals as a result of LPO is of great importance. Increased generation of ROS from the respiratory chain in mitochondria not only weakens the antioxidant system, but also damages the lipoprotein parts of membranes. In conditions of experimental diabetes and many other pathologies, LPO develops on the basis of oxidative stress. In the conditions of experimental diabetes, the role of biologically active substances in reducing the intensity of LPO is incomparable.

In our next experiment, the effects of hypolaetin-8-glucoside and rutin flavonoids on the inhibitory effect of alloxan on hepatic mitochondrial function in diabetes on the Fe^{2+}/citrate-induced LPO process were investigated (Fig. 3).

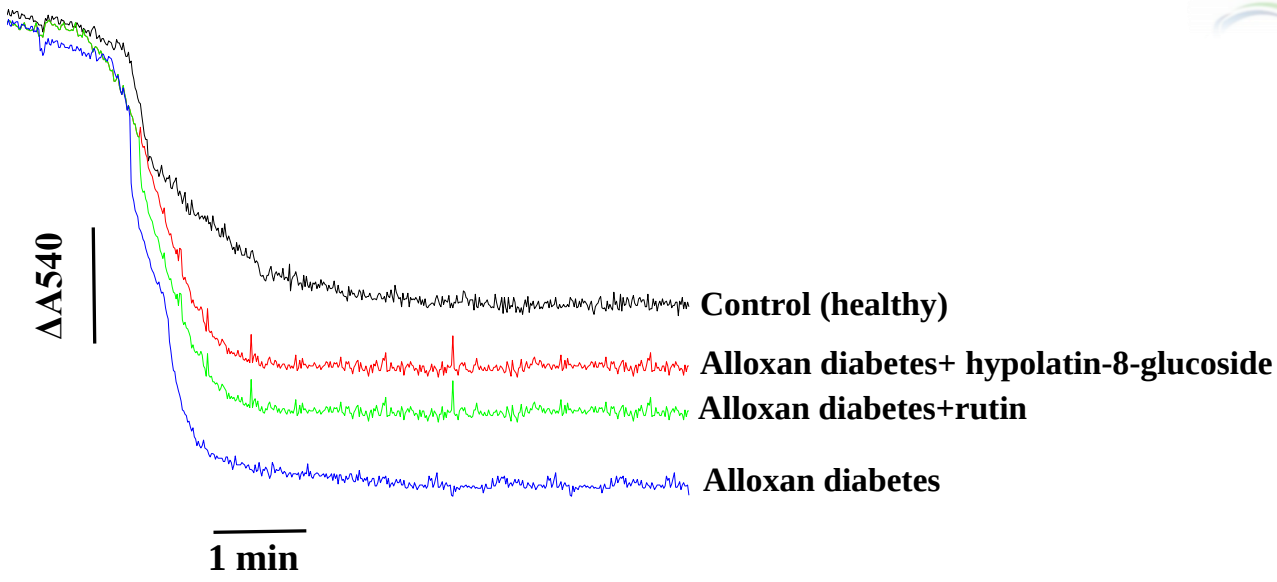


Figure 3. Effect of hypolaetin-8-glucoside and rutin flavonoid on Fe^{2+}/citrate-induced LPO process of rat liver mitochondria under alloxan diabetes condition. Original recording of the recording of changes in the light transmittance of the mitochondrial suspension.

According to the experimental results, the induced LPO process, i.e., the rate of mitochondrial collapse was taken as 100% after the introduction of Fe^{2+}/citrate into the IM. LPO was rised to 68% from control in mitochondria which alloxan diabetec rat. This indicates that the hydrolysis of phospholipids in the mitochondrial membrane is increased in diabetic conditions. As a result of administration of hypolaetin-8-glucoside flavonoid to group III rats with alloxan diabetes, it was found that the process of LPO induced by Fe^{2+}/citrate in their liver mitochondria was inhibited by 43% compared to the indicators of group II (Fig. 4). It was found that under the influence of rutin flavonoid, the intensity of LPO was inhibited by 31% compared to group II.

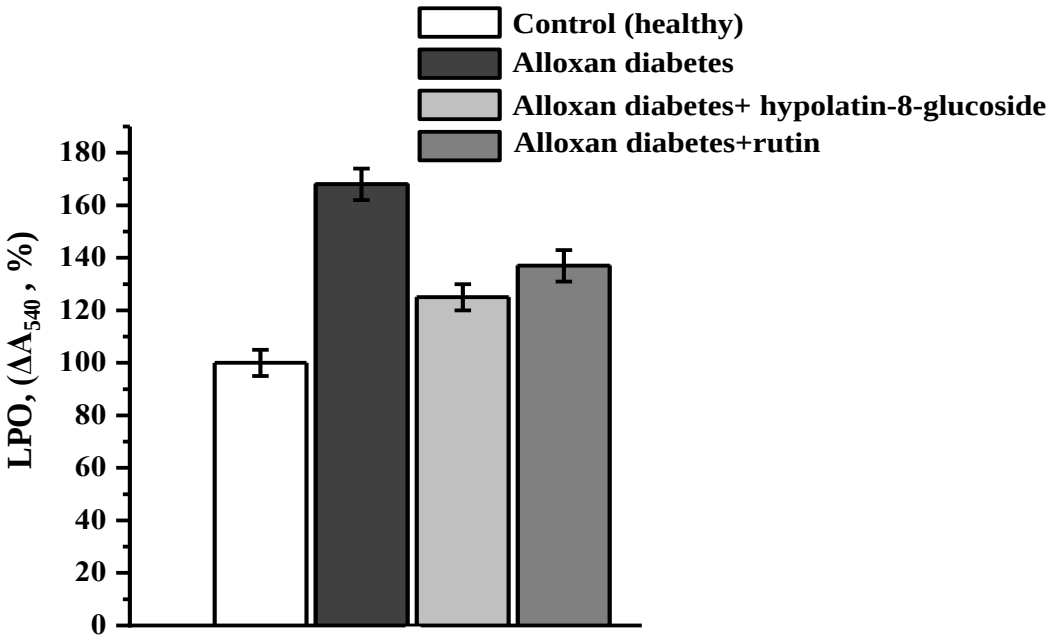


Figure 4. Effect of hypolatin-8-glucoside and rutin flavonoids on Fe^{2+}/citrate-induced LPO process of rat liver mitochondria under alloxan diabetes conditions. Statistically (R<0.05) difference from control is marked (*).

These obtained results indicate that hypolaetin-8-glucoside flavonoid has antioxidant properties. The analysis of the results obtained from the experiments shows that the antioxidant property of hypolaethin-8-glucoside indicates that it has a stabilizing effect on the mitochondrial membrane because of the inhibition of the mitochondrial LPO process and *mPTP*.

Summary

Hypolaetin-8-glucoside flavon has hypoglycemic activ and alloxan normalizes blood glucose in diabetic conditions. Alloxan permeabilizes mPTP permeability by inhibiting mitochondrial dysfunction of the liver under diabetic conditions. Hypolaetin-8-glucoside inhibited the intensity of LPO process induced by Fe^{2+}/citrate in liver mitochondria under alloxan diabetes conditions and showed antioxidant properties.

References

1. Zhang X., Yang S., Chen J., Su Z. Unraveling the regulation of hepatic gluconeogenesis // Front. Endocrinol. – 2018. – V.9: (802). – P. 1-17.
2. Saltiel A.R., Kahn C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism // Nature – 2001. – V. 414. – P. 799–806.
3. Maechler P. Mitochondrial function and insulin secretion // Molecular and Cellular Endocrinology – 2013. – V.379. (1-2). – P. 12-18.
4. Yang S., Zhou R., Zhang C., He S., Su Z. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus // Frontiers in Cell and Developmental Biology – 2020. – V.8. – P. 1-14.
5. Pallafacchina G., Zanin S., Rizzuto R. Recent advances in the molecular mechanism of mitochondrial calcium uptake // F1000Research – 2018 – V.7: – P. 1-13.
6. Rizzuto R., De Stefani D., Raffaello A., Mammucari C. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signaling // Nat. Rev. Mol. Cell Biol – 2012 – V.13 – P. 566–578.
7. Sakurai K., Katoh M., Fujimoto Y. Alloxan-induced mitochondrial permeability transition triggered by calcium, thiol oxidation, and matrix ATP // J. biol chem. - 2001. – V. 276 (29). - P. 26942-26946
8. Stanley Mainzen P.P,Kamalakkannan N.Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes // JBMT-206-V.20.(2).-P.96-102
9. AL-Ishaq R.K., Abotaleb M., Kubatka P., Kajo K., Büsselberg D. Flavonoids and their anti-diabetic effects: cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels // Biomolecules. – 2019. – V. 9(9): – P. 1-35.
10. Sarian, M.N.; Ahmed, Q.U.; Zaiton, S.; So, M.; Alhassan, A.M.; Murugesu, S.; Perumal, V.; Nurul, S.; Syed, A.; Khatib, A. Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: A structure-activity relationship based study. BioMed Res. Int. - 2017, 2017, 8386065.
11. He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // J. Biol. Chem. – 2003. – V. 278(19). – P. 16755-16760.
12. Almeida A.M., Bertoncini C.R., Borecky J., Souza-Pinto N.C., Vercesi A.E. Mitochondrial DNA damage

associated with lipid peroxidation of the mitochondrial membrane induced by Fe^{2+}-citrat // An. Acad. Bras. Cienc. – 2006. – V. 78(3). – P. 505-514.

13. Heinonen S., Buskova J., Muniandy M., Kaksonen R., Ollikainen M., Ismail K., Hakkarainen A., Lundbom J., Lundbom N., Vuolteenaho K., Moilanen E., Kaprio J., Rissanen A., Suomalainen A., Pietilдinen K.H. Impaired mitochondrial biogenesis in adipose tissue in acquired obesity // Diabetes. – 2015. – V.64(9). – P. 3135-3145.
14. Haider R., Subbuswamy K.P., Annie J., Narayan G.A. // Impaired mitochondrial respiratory functions and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats // Int. j. mol. sci. – 2011. – V. 12. – P. 3133-3147.

Вирусология
Virusology

УДК 578.74. 578.85. 578. 083. 577. 15

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛЮТЕОВИРУСОВ В ЗЕРНОВЫХ РАСТЕНИЯХ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Т.Х.Махмудов[1]., З.Н.Кодирова[1]., Б.К.Абдикаримов[1].,
Б.А.Абдувалиев[1] ., З.М.Зияев[1]., Ш.Н.Назаров[2]
[1]*Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Узбекистан, Ташкент обл, 111208, район Кибрай Юқори-Юз МФЙ,*
[2]*Институт Зоологии АН РУз, Узбекистан, 100053, Ташкент, ул.Багишамол, 232б.*
*Соответствующий автор email: tohir_m@inbox.ru

Аннотация: Настоящая научно-исследовательская работа направлена на изучение лютеовирусов, распространенных в зерновых культурах Навоийской области. Исследовательская работа заключается в изучении лютеовирусов, то есть вируса желтой карликовости ячменя, на зерновых полях Навоийской области методом ПЦР.

Ключевые слова: *Lyuteovirus*, вирус желтой карликовости ячменя, штамм, вирион, флоэма, полимерная цепная реакция.

STUDY OF THE SPREAD OF LUTEOVIRUSES IN CEREAL PLANTS BY POLYMERASE CHAIN REACTION

T.H.Maxmudov[1], Z.N.Kadirova[1], B.K.Abdikarimov[1],
B.A.Abduvaliev[1] , Z.M.Ziyaev[1], Sh.N.Nazarov[2]
[1]Institute of Genetics and Experimental Plant Biology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Uzbekistan, Tashkent region, 111208, Yuqori-Yuz MFY
[2]Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Uzbekistan, 100053, Tashkent, Bagishamol st., 232b.
Corresponding author email: tohir_m@inbox.ru

Annotation. This research work is aimed at studying luteoviruses common in grain crops of the Navoi region. The research work consists of the study of luteoviruses, that is, the barley ellow dwarf virus, in the grain fields of the Navoi region using the PCR method.

Key words: luteoviruses, barley ellow dwarf viruses, phloem, polymerase chain reaction, strain, virion

Введение

Климатические условия Республики Узбекистан благоприятны для возделывания злаковых и зерновых культур, а злаковые и зерновые культуры поражаются болезнями и вредителями во всех регионах Республики. Изучение распространения болезней, постановка точных диагнозов, проведение профилактических мероприятий. Профилактические мероприятия являются одним из эффективных способов борьбы с болезнями. На сегодняшний день в мире идентифицировано более 1000 фитовирусов, поражающих растения, ряд авторов сообщают из них более чем 100 фитовирусов поражающих зерновые культуры. Впервые вирус ВЖКЯ был обнаружен в ячмене в 1950

г., а затем в зерновых культурах, пшенице, сорго и кукурузе. [1] В Узбекистане идентифицированы лютеовирус вирус желтой карликовости ячменя, потивирус полосатой мозаики пшеницы и рабдовирус желтой полосатой мозаики ячменя [2, 3]. Изучена степень распространения вирусов, обнаруженных в зерновых культурах, в областях Республики Узбекистан [4]. Лютеовирусы географически широко распространены и зарегистрированы во всех регионах Земли, поражая однодольные и двудольные растения, т. е. посевы пшеницы, ячменя, картофеля, сахарной свеклы. В результате болезни наблюдаются мелкость растений, деформация листьев, изменение окраски растений. Обычно симптомы этого заболевания похожи с действием абиотических факторов, они схожи с недостатком минеральных веществ или стрессорными факторами внешней среды или биотическими воздействиями. По классификации Дэвида Балтимора вирусы растений делятся на группу VII. Лютеовирусы относятся к IV группе [5]. Род лютеовирус относятся к семейству Luteoviridae, семейства Luteoviridae по биологическим особенностям делятся на группы. Отличаются серологическими особенностями и геномом. Среди них 23 вида относятся к трем родам: Лютеовирус содержит 7 видов, Поларовирус содержит 15 видов и Энамовирус содержит только один вид. [6]. Лютеовирусы в основном передаются насекомыми [7]. Вирус сохраняется в слюнных железах и желудке тли, питающейся соком растений. Вирусы, принадлежащие к этому семейству, распространяются через флоэмный слой растения и повреждают все органы растения. Вирус воспроизводится только внутри зараженной растительной клетки, а не в насекомом-переносчике [8, 9].

Материалы и методы: В качестве объекта исследования были исследованы поля, засеянные пшеницей. биоматериалы отбирали с полей и хранили в холодильнике при -20°C в лабораторных условиях.

Выделение тотальной РНК. Выделение тотальной РНК из растительных образцов проводили с помощью набора RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия) согласно прилагаемому протоколу. Набор R Neasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия) и протокол использовался для выделения тотальной РНК (мРНК) из биологических образцов исследуемого листа растения. 0,2-0,4 г растительной ткани из образцов растений помещали в пробирку объемом 1,5 мл и образцы измельчали с помощью дробилки “Beads” со скоростью 2200 оборотов в течение 1 минуты. Добавляли 1000 мкл буфера Маккензи и этот процесс повторяли 2 раза. Добавляли еще 700 мкл буфера Маккензи и встряхивали. Центрифугировали при 13000 об/мин в течение 2 минут и удалили 900 мкл супернатанта из пробирки 1,5 мл эппиндорфа и помещали в новую пробирку эппиндорф на 2 мл. с добавлением 10 мкл меркаптэтанола и 100 мкл 20% саркозила и перемешали с помощью шейкера. Инкубировали на водяной бане при 70°C в течение 10 мин. 800 мл супернатанта переместили в пробирку на 2 мл и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 2 минут. Супернатант осторожно переносили в новую пробирку эппиндорфа. К надосадочной

жидкости из пробирки добавляли примерно 425 мкл 100% этанола, тщательно перемешивали пипеткой, и пипеткой переносили 800 мкл смеси в пробирку объемом 2 мл. Центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 секунд. После центрифугирования супернатант сливали, в колонку добавляли 500 мкл буфера RW1, центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 секунд и слили супернатант. Колонку помещали в пробирку на 2 мл и добавляли 500 мкл буфера RPE, центрифугировали 15 секунд при скорости вращения 10000 об/мин и повторили этот процесс снова. Образец центрифугировали при 10000 об/мин в течение 2 минут. Фильтрующая часть снимается, а нижняя часть снимается. Помещали новую чистую пробирку объемом 1,5 мл, медленно добавляли к фильтру 50 мл воды, не содержащей РНКазы, и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 5 минут. Выделенная молекула тотальной РНК долгое время хранилась в морозильной камере при температуре -80.

Получение кДНК методом обратной транскрипции.

Смесь для ПЦР готовят в соответствии с рекомендациями по обратной транскриптазе M-MLV (Invitrogen™ USA). Этот метод осуществляется в следующие этапы. 1-й этап; смесь (мастер-микс) РНК-3 мкл, dNTP-1 мкл, ddH_2O-1 мкл, Праймер PAVP1-0,5 мкл, разложить в пробирки. ПЦР проводят в амплификаторе при 65°C в течение 5 минут. 2-й этап; смесь (мастер-микс) 5X буфер ПЦР-2 мкл, 0,1 M ДТТ-1 мкл, ddH_2O - 0,5 мкл, M-MLV - 0,5 мкл, помещают в пробирки. к-ДНК синтезируют в ПЦР-амплификаторе в течение 2 минут при 37ºC, 50 минут при 37ºC, 15 минут при 70ºC. Использовался праймер PAVR1-ATTGTGAAGGAATTAATGTA [10].

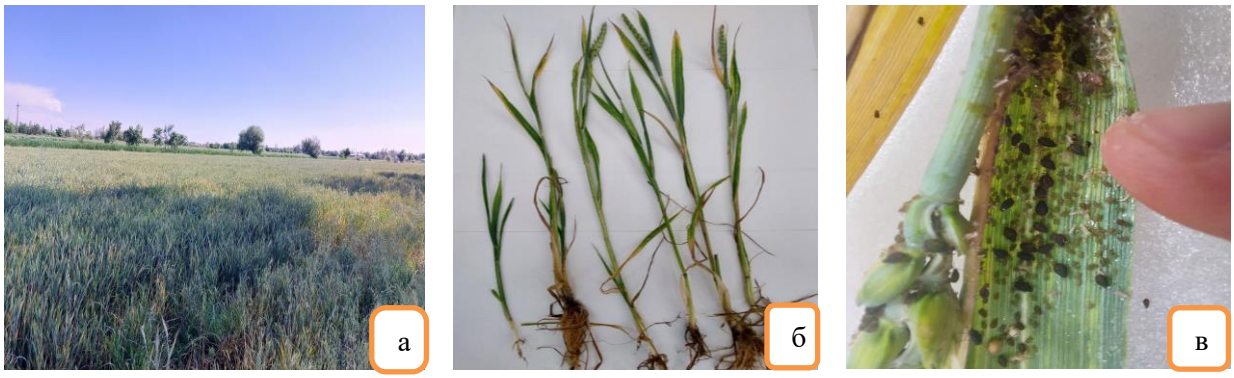
Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Метод ПЦР используется для амплификаци исследуемого гена или участков ДНК с помощью специальных праймеров. наборе реагентов для ПЦР проводилась с помощью набора реагентов Platinum™ Hot Start PCR Master Mix (2X). Для ПЦР приготовили следующую смесь (мастер-микс) на одну пробу: ddH_2O-6,6мл, смесь (Мастер-микс) PLATINUM-12,5мл, MgCL-0,9мл, праймер-F-0,5мкл, праймер-R-0,5мкл, кДНК-4мл. Программа термоциклирования ПЦР: начальная стадия денатурация при 94°C в течение 2 минут, 1 цикл при 94°C в течение 1 минуты, отжиг при 41°C в течение 2 минут и элонгация при 72°C в течение 2 минут, при 94°C в течение 1 минуты, отжиг при 41°C. °C в течение 1 минуты, цикл повторения 45 последовательных циклов; этап элонгация запрограммирован при 72 на 2 минуты, этап конечной элонгаци при 72 на 5 минут. Праймеры, используемые в полимеразной цепной реакции.

1-таблица

Праймеры	Нуклеотидная последовательность 5′--------3′
ВЖКЯ-PAV-L1	AGAGGAGGGGCAAATCCTGT
ВЖКЯ-PAV-R1	ATTGTGAAGGAATTAATGTA

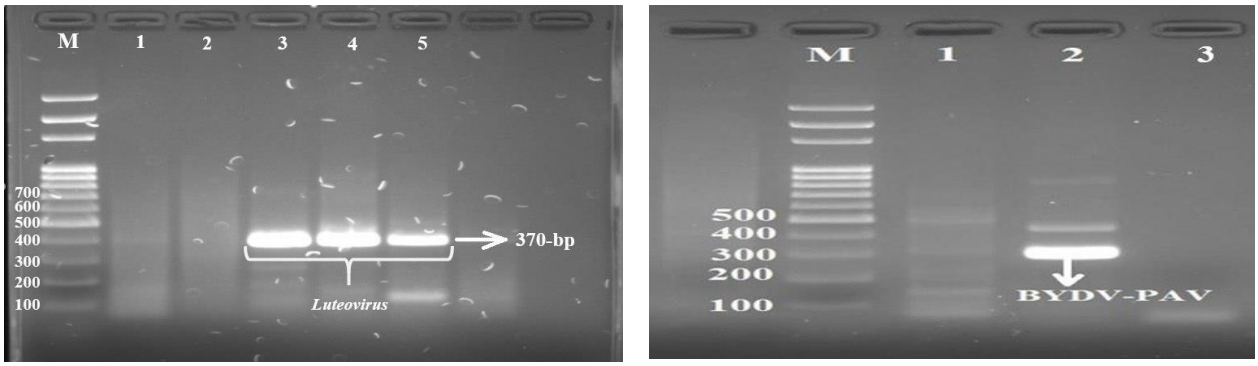
Результаты исследования и обсуждение: В 2022 году методом визуального осмотра были изучены пшеничные поля Навоийской области. Лютевирусы также поражают злаки и бобовые, а также многие сорняки из других семейств злаков. К симптомам заболевания относят пожелтение листьев, покраснение листовой пластины, малый размер растения. Симптомы болезни в поле аналогичны симптомам, вызванным дефицитом питательных веществ или воды



1-рисунок. Зараженные поле пшеницы: а-поле пшеницы , б- зараженные растения, в-коллония тлей

Образцы отбирали на основании симптомов заболевания. Лютеовирусы идентифицировали в собранных образцах методом ПЦР.

Использовалось праймеры AS3R и Pol3870F общие олигонуклеотиды для лутеовирусов. Анализ продуктов ПЦР проводили электрофорезом на 1,5% агарозном геле, в 10-кратном буфере трис-борат-ЭДТА (TBE, Thermo Scientific), с RedSafe™ (intron Korea). 5 мкл красителя на 10 мкл образца (6x DNA loadshng de, Fermentas) помещали в лунку с агарозой вместе с образцом. В качестве маркеров использовали смесь молекул ДНК длиной 100 п.н. (Invitrogen USA). Электрофорез проводили на горизонтальной ячейке электрофореза Mini Sub Cell GT (BIO RAD, США) при 100 В в течение 60 мин. Гель анализировали и фотографировали на трансиллюминаторе Gel Doc XR+ (BIO RAD, США) Обратную транскрипцию тотальной РНК и реакции ПЦР проводили в термоциклере (Mini AmpTMPlus) (Applshed BioSystems, США).



2-рисунок.ПЦР-анализ ВЖКЯ в образцах растений пшеницы

При ПЦР-анализе образцов пшеницы в 3-4-5 образцах были обнаружены лютевирусы размером 370 bp. В наших дальнейших исследованиях при тестировании PAV штамма вируса желтой карликовости ячменя методом ПЦР было установлено, что штамм PAV вируса желтой карликовости ячменя присутствует в образце 2 в количестве 295 bp. Штамм PAV вируса ВЖКЯ был молекулярно идентифицирован в растении пшеницы.

Заключение. На пшеничных полях Навоийской области было обнаружено широкое распространение штамма ВЖКЯ-PAV методом полимеразной цепной реакции.

Список литературы

1. Jensen, Virology 38: 83, 1969. Orlob, Arny & Medler, Phytopathology 51: 515, 1961.*Oswald & Houston*, *Pl. Dis. Reptr 35:471,1951.*

2. Горбунова Н.И., Успенская Н.В., и Шевакова, М.Н. 1966.Полосатой мозаики пшеницы в Узбекистане . Вирусные болезни сельскохозяйственных растений и методы защиты. Киев. 378-381 стр.

3. Kadirova Z.N., Zueva A.A. and A.A. Abdikarimov Identification of Cereal Viruses in Uzbekistan Barley Yellow Dwarf Disease: Recent Advances and Future Strategies Proceedings of an International Symposium Held at El Batán, Texcoco, Mexico 1-5 September 2002. pp 108-109.

4. Қодирова З.Н., Махмудов Т.Х,.,Ахмаджонов М., А.А.Абдукаримов Ўзбекистон Республикасининг айрим вилоятларида буғдойнинг вирус касалликларини тарқалишини ўрганиш. O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining Maruzalari 4-2020. 83-88 bet

5. David Baltimore Expression animal virus genomes BACTERIOLOGICAL REVIEWS, 1971 American Society for Microbiology Sept.1971, p.235-241

6. Hai-Ying Xiang, Shu-Wei Dong, Hui-Zhong Zhang, Wei-Lin Wang, Min-Quan Li, Cheng-Gui Han, Da-Wei Li, Jia-Lin Yu. Molecular characterization of two Chinese isolates of Beyet western yellows virus infecting sugar beyet. 2010. Virus Genes (2010) 41:105–110

7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – Москва: Вишая школа,1990 – 323 с

8. Blackman, R.L. & Brown, P.A. (1991) Morphometric variation within and between populations of Rhopalosiphum maidis with a discussion of the taxonomic treatment of permanently parthenogenetic aphids Yent. Gen. 16: 97-113

9. Chay CA, Gunasinge UB, Dinesh-Kumar SP, Miller WA, & Gray SM (1996) Aphid transmission and systemic plant infection determinants of barley yellow dwarf luteovirus-PAV are contained in the coat protein readthrough domain and 17-kDa protein, respectively. Virology 219(1):57-65 pp

10. Mahua Deb Joseph M. Anderson Development of a multiplexed PCR detection method for Barley and Cereal ellow dwarf viruses, Wheat spindle streak virus, Wheat streak mosaic virus and Soil-borne wheat mosaic virus Journal of Virological Methods 148 (2008) 17–24 M.

УДК: 578.74 578.85 578.083 577.015

DETECTION AND IDENTIFICATION OF SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POTATO L-VIRUS USING REAL-TIME PCR METHOD

M.M.Kholmatova[1],
V.B.Fayziyev[2]
[1]*Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology Tashkent city, Chilanzarsky district, microdistrict 20, building 35 A*
[2]*Chirchik State Pedagogical University, Tashkent, Uzbekistan region, 100074, Universitetskaya street, 4, ChDPU*
**Corresponding author email:* Iymona.92@mail.ru,
E-mail addresses of co-authors: v. fayziyev@cspi.uz

Abstract. Nowadays, several phytopathogenic viruses infect the potato plant and cause great economic damage. Early detection of the virus from sowing material and natural reservoir plants is the main reason to prevent its spread, so that measures can be taken to control these viruses. This article presents the results of research on detection and identification of potato L-virus (PLV) from natural host plants and different disease symptoms, using real-time polymerase chain reaction (PCR-real-time) method.

Key words: PCR, RNA, virus, identification, potato, amplification, variety, reservoir.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ Л ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР

М.М.Холматова[1],
В.Б.Файзиев[2]
[1]*Самаркандская государственная ветеринарная медицина,Университет животноводства и биотехнологии.Ташкент, Чиланзарский р-н, микрорайон 20, дом 35 А*
[2]*Чирчикского Государственного Педагогического Университет, Узбекистан, Ташкент обл, 100074, ул.Университетская 4, ЧГПУ*
*Соответствующий автор email: Iymona.92@mail.ru,
Адреса электронной почты соавторов*: v. fayziyev@cspi.uz*

Аннотация. В настоящее время некоторые фитопатогенные вирусы поражают растения картофеля и наносят большой экономический ущерб. Раннее обнаружение вируса из эквивалентного материала и природных растений-резервуаров является основной причиной предотвращения его распространения, чтобы можно было принять меры против этих вирусов. В этой статье проведены исследования по обнаружению и идентификации L-вируса картофеля (KLV) из природных растений-хозяев и различных симптомов заболевания с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР в реальном времени), а результаты представлены эти исследования.

Ключевые слова: ПЦР, РНК, вирус, идентификация, картофель, амплификация, сорт, резервуар.

INTRODUCTION

Agricultural products are of great importance in human life. Potatoes, one of these products, play an important role in the diet. In developed countries, potatoes are used as raw materials for food, fodder, starch and alcohol production. As in other plants, there are phytopathogenic diseases in potatoes, which have a serious negative impact on its growth, yield and product quality. In most cases, during the growth period of the plant, under the influence of various infectious diseases,

most of the crop is lost and its quality decreases sharply. As a result of the lack of regular control measures and other preventive measures, diseases are often found in crop sown fields and private farms and cause great damage.

Potatoes are the fourth major food crop in the world and feed a large part of the world's population. In recent years, many diseases and pests have negatively affected the productivity of agricultural crops. Among agricultural crops, potato is one of the main crops, and the productivity of this plant is also decreasing due to various diseases. Viruses are the most dangerous pathogens that damage potato plants in agriculture. More than 50 viruses naturally infect the potato plant worldwide. These viruses can reduce the yield of potato plants by up to 80%. Of the 400 phytoviruses known to date, 52 cause damage to the potato plant, 36 of which are widespread, and the rest are found only in South American countries. Of these, 16 species are very common, and 6 species are found in the Republic of Uzbekistan. They are: PVX, PVY, PVM, PVS, PLV, PVA [6,7].

Despite the improvement of breeding efforts to introduce disease-resistant and high-yielding varieties, potato production in cultivated fields is low due to various biotic and abiotic factors, including viruses. Viral diseases play a major role in the drastic reduction of plant productivity, insects (beetles, leafworms and whiteflies), fungi and tubers serve as a source of virus infection and a vector of virus, as well as, a reservoir of infection. Low phytopathogenic isolates of potato L-virus alone can reduce yield by 15-35%, strong pathogenic isolates by 65-80%. Studies have shown that infected potato tubers replanted over many years reduce yield by almost 50% [6, 10, 12].

L- virus belongs to the Luteovirus family, and its virions are spherical in shape, 23-25 nm in size. The protein (m.m) of the virus is 28,3×106 D, virion consists of 28% RNA and 72% protein. The RNA m.m. 2,0×106 D, protein m.m. 26,3×103 D, sedimentation coefficient 127 C, E260 0,1% 1cm≈5. The degree of the temperature resistance of the virus is 80°C, the virus is stored at 42-43°C for 1-5 days, and at 20°C for more than a month.

PLRV is not mechanically transmitted, but is very easily transmitted by stem and tuber-core grafting. In natural conditions, it is transmitted by a number of aphids and plant lice, such as *Myzus persicae Sulz., Myzus ascalonium, Myzus circum flexus Buckt., Myzus ornofus, Myzus convolvuli Kalt., Macrosiphum solanifolii Ashm*.

PLRV is transmitted by sap in a circulation way: from the phloem they move to the hemocoel and through the hemolymph to the salivary glands. Its localization in plants is in the phloem, it causes tissue necrosis, stunted growth, loss of chlorophyll and yellowing of leaves. *Myzus persicae* is its main vector. Studies have shown that PLRV can be transmitted to infected plants by aphids and exert pathogenicity on infected plants. However, the molecular mechanisms mediating these relationships are still poorly understood.

A plant infected with the PLRV virus through aphids will retain the virus for the next year. The seeds of an infected potato plant in the first year are a reservoir for the virus, resulting in unhealthy plants. Infected potato seeds serve as a systemic translocation of PLRV to all plant tissues. The degree of

temperature resistance of this virus is 80%, and the virus can survive at 42-43°C for 1-5 days, at 20°C for more than a month [6, 7, 9].

I.T. Ergashev detected natural reservoirs of potato L – virus in several wild plants and weeds: including, field ivy (*Convolvulus arvensis*), sorrel (*Rumex confertus*), plantain (*Plantago lanceolata*), jimsonweed (*D. stramonium*), black nightshade (*Solanum nigrum*), etc.. In the research work of V.B. Fayziev it was reported that the plants, such as eggplant *(S. melongena L.)*, rough cocklebur (*Xanthium strumarium L)*, wormwood *(Artemisia annua L.)*, black nightshade *(Solanum nigrum L.),* thornapple *(Datura metel L.),* water foxtail *(Alopecurus geniculatus L.),* mugwort *(Artemisia vulgaris L.),* alfalfa *(Medicago sativa L.),* tomato *(Lycopersicum esculentum Mill.),* goosefoot (*Ch. amaranticolor*), cucumber *(Cucumis sativus L.),* dodder *(Cuscuta approximata Babing.),* common marshmallow *(Althaea officinalis L.)*, common mallow *(Malva neglecta Wall.),* velvetleaf *(Abutilon theophrasti Medic.),* curly dock (Rumex crispus L.) are natural reservoirs of L-virus [7, 9].

The cryptogram of this virus is R/1:2/28:S/S:S/Ap; S/Ap. The protein of the virus (m.m) is 26,3×103 D, the diameter of the virion is 25-30 nm, each nucleocapsid contains 32 capsomeres. About 28% of the virion is RNA, 78% is protein. According to the classification of luteoviruses, it belongs to IV group of viruses. Each virion contains a single strand of (+) RNA. The genome consists of a sequence of 5300 to 5900 nucleotides [2, 3, 4, 9, 14].

Potato L-virus causes disease symptoms such as yellowing and coarsening of the leaf color and crinkled or wavy leaf plate in the plant. The abovementioned disease symptoms are differentiated from other potato virus diseases.

The PCR method was chosen for accurate and precise diagnosis of the disease and identification of the virus.

1. Polymerase chain reaction (PCR) is considered the most acute, accurate and fast method of molecular diagnosis of phytopathogenic viruses. When analyzed by real-time PCR method in a biological sample taken from the stem, leaf or tuber of a potato plant, it allows to determine the genetic molecule (DNA/RNA) of the pathogen. PCR diagnostics can detect even the lowest stage of viral infection in plant samples. The difference between the molecular diagnostic method and other methods is that the causative agent (pathogen) of the disease is diagnosed not by the connection between the antigen and the antibody, but by the direct recognition of the genetic molecule of the infection [10,11,16].

MATERIALS AND METHODS

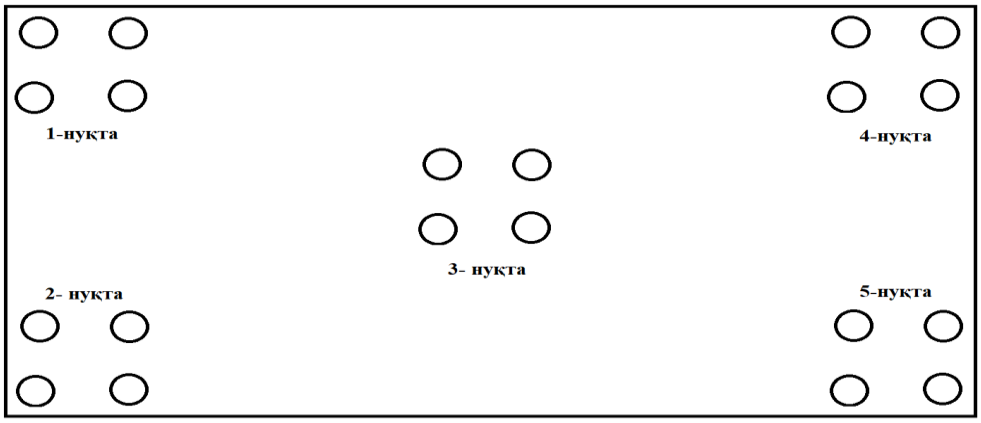
Conditions for research

The research work was carried out in the "Molecular Biology and Bioinformatics" scientific research laboratory of the "Biology" department of the faculty of Chirchik State Pedagogical University and in the IFT and PCR laboratory of the State Center for the Diagnosis of Animal Diseases and Food Safety of the Republic, as well as a potato growing farms in the Tashkent and Qibray districts of the Tashkent region.

The methods of research

Sampling for PCR analysis. For conducting analysis, potato leaves by 4 pieces from each site of the potato planting area, a total of 80 plant leaves from 20 sites, including plant stems and leaves of weeds growing among the

potato plants, were collected and placed in separate polyethylene bags and then put in a thermos with special ice packs (+4°C) and brought to the laboratory for PCR analysis



(*Fig.1*).

Figure-1. Scheme of envelope method of sampling from field crop area

The infestation level of plants was determined by using PCR based on the collected samples. During scientific research, monitoring was carried out by RV-PCR method for symptomatic differentiation of PVL with other viruses [1, 2].

Sequencing was performed according to the following algorithm to determine PVL by polymerase chain reaction method:

1. Isolation of RNA of PVL from the sample;

The set of reagents "PhytoSorb" RN-520 manufactured by the "SINTOL" scientific production company (Russia) was used for the isolation of RNA of virus from the plant sample.

2. Mixing isolated RNA with specific primers and enzymes (TAQ-polymerase, revertase, etc.);

"Reagent set for detection of RNA of PVL by real-time-polymerase chain reaction-repetitive transcription (RV-PCR-QT) method" (SINTOL PV-002) manufactured by "SINTOL" scientific production company (Russia) was used for the research. This test set can detect the RNA of the pathogen of PVL in any vegetation period of plants.

3. Amplification of the RNA storage mixture placed in microtubes in PCR amplifiers and interpretation of the result.

The amplification process was carried out in qTOWER^3/G amplifier equipment. The first 15 minutes of amplification were reverse transcribed at 45°C. After that, 50 cycles of denaturation, annealing and elongation processes were carried out sequentially.

RESULTS AND THEIR DICUSSION

4 samples of potato plant leaves of 4 varieties from 5 sites were taken from the fields of potato farms in Kibray district. During the sampling, plants with typical PVL symptoms shown in the literature were selected. Selected samples were sorted to differentiate PVL from other viral diseases of potato (PVY, PVX). Also, in order to study the preservation of the virus from one season to another in the fields planted with potatoes, samples of wild plants were taken and monitored.

Samples were homogenized using extracting solution in autoclaved sterile porcelain flasks. RNA of PVL was isolated from the homogenized sample using sequencing nucleic acid isolation reagents. Using a special PCR mixture, the isolated RNA of PVL was mixed with primers. The prepared mixture was placed in the equipment for amplification. At the end of the amplification, the following result was obtained (Table 1).

1-Figure. A) healthy leaf B) PVL infected leaf

Table-1

Expertise conclusion on PVL detection by PCR amplifier.

Tested samples	Sample name	Dye	Ct	mean Ct
A1	Santa variety 1 site	FAM	38,83	38,83
B1	Santa variety 2 sites	FAM	35,54	35,54
C1	Santa variety 3 sites	FAM	32,55	32,55
D1	Santa variety 4 sites	FAM	33,35	33,35
E1	Azara variety 1site	FAM	42,17	42,17
F1	Azara variety 2 sites	FAM	37,78	37,78
G1	Azara variety 3 sites	FAM	31,15	31,15
H1	Azara variety 4 sites	FAM	39,56	39,56
A2	Pikasso variety 1 site	FAM	32,66	32,66
B2	Pikasso variety 2 sites	FAM	30,56	30,56
C2	Pikasso variety 3 sites	FAM	21,65	21,65
D2	Pikasso variety 4 sites	FAM	26,36	26,36
E2	Kizil kuz variety 1 site	FAM	15,53	15,53
F2	Kizil kuz variety 2 sites	FAM	17,59	17,59
G2	Kizil kuz variety 3 sites	FAM	19,56	19,56
H2	Kizil kuz variety 4 sites	FAM	21,20	21,20
A3	PKO (K+)	FAM	30,74	30,74
B3	OKO (K-)	FAM	no Ct	

According to the results of the research, Santa, Azara, Picasso and Kizil kuz potatoes were infected with PVL. From all 4 samples, it was determined from the results of PCR that the infestation of Kizil kuz variety potato with the virus was higher.

The samples provided for the identification of potato L-virus reservoirs were examined by PCR method and the following results were obtained (Table 2).

2-Figure. PVL reservoirs: a- *Malva L.,* b- *Brossica campestris* L.

Table-2

Expertise conclusion on the identification of PVL reservoirs carried out by the PCR amplifier

Tested samples	Sample name	Dye	Ct	mean Ct
A1	Fizalis *(Physalis)*	FAM	no Ct	
B1	Potato *(S.tuberosum) Kayroki variety tuber*	FAM	34,1	34,1
C1	Goosefoot *Chenopodiumalbum*	FAM	no Ct	
D1	Henbane *(Hyoscyamus L.)*	FAM	no Ct	
E1	Field mustard *(Brossicacampestris L.)*	FAM	no Ct	
F1	Purslane *(Portulacaoleracea L.)*	FAM	no Ct	
G1	Clover *(Trifolium)*	FAM	no Ct	
H1	Hedge bindweed *(Convolvulussepium)*	FAM	no Ct	
A2	Black nightshade *(Solanumnigrum)*	FAM	no Ct	
B2	Potato *(S.tuberosum) tuber of red potato*	FAM	29,79	29,79
C2	Tomato *(Solanumlycopersicum)*	FAM	no Ct	
D2	Malva *(Malva L.) mallow*	FAM	no Ct	
E2	Sweet pepper *(Capsicum annuum L)*	FAM	no Ct	
F2	Thistle *(Cirsiumarvense)*	FAM	30,37	30,37
G2	Potato *(S.tuberosum) local Gala variety tuber*	FAM	no Ct	
H2	PKO (K+)	FAM	no Ct	
A3	OKO (K-)	FAM	28,86	28,86

According to the results of the analysis conducted to identify the reservoirs of PVL in the weeds grown in the potato fields: it was found that the body of the wild and cultivated potato plants shown in the literature has a high titer of the virus. (Fig. 1. a, b).

3-Figure. PVL reservoir: a-*(S.tuberosum) Kayroki variety tuber,* b-*(S.tuberosum) local Gala variety tuber.*

Taking into account that wild and cultivated potato plants grow in autumn, their tubers overwinter under the soil, and continue to grow in spring, the storage of PVL in reservoir plants causes the periodic circulation of the virus and its spread to a wider area.

CONCLUSION

One of the main conditions for ensuring a high and quality harvest from plants is timely detection of the disease, correct and prompt diagnosis, and proper protection of crops from diseases. Therefore, it is necessary to have information about the identification of the causative agent, its development, spread, and how it is preserved from one season to another.

In this study, disease symptoms such as leaf discoloration or yellowing and coarsening, as well as crinkling of the leaf plate were studied by PCR monitoring.

From the studied literature and conducted experiments, it was found that: PVL is found mainly in representatives of the nightshade family. It was also found that these plants, which are found in potato fields as weeds, keep PVL in their bodies and participate in the periodic cycle.

Identifying natural reservoir plants and avoiding their growth in fields is very important in preventing the spread of this virus.

Список литературы

1. Ахабов А.Х. Учебник по основам русской науки . Ташкент - 2017. С. 286-295.
2. Владимирович К.Р. Экология вируса картофеля М в семействе пасленовых. Диссертация доктора философских наук.
3. Джевора С.В. , Зейрук В.Н. , Белов Г.Л. Передовые методы диагностики возбудителей картофеля : науч. анал _ вид – М.: ФГБНУ « Росинформагротекс », 2019. – 92 с.
4. Гасанов Б.А., Очилов Р.О., Гулмуродов Р.А. Болезни овощных, картофеля и картофельных культур и борьба с ними. Ташкент: «Виза Принт», 2009. - С. 101-120.
5. Рогозина Е.В., Мироненко Н.В., Афанасенко О.С., Мацухито Ю. Широко распространенные и потенциально опасные для российского агропроизводства возбудители вирусных болезней картофеля / Вестник защиты растений 4(90) – 2016, с. 24–33
6. Файзиев В.Б. Выделение Х-вируса картофеля, распространенного в Узбекистане, изучение его особенностей и диагностика . Докторская диссертация _ _ _
7. Файзиев В.Б. Современная диагностика вирусов картофеля и научно обоснованные меры борьбы, монография Ташкент - 2021.
8. Файзиев В.Б., Юсубахмедов А.А. Систематика и биологическая характеристика вируса М картофеля // Национальные

исследования в Узбекистане: периодические конференции: сборник материалов 38-й междисциплинарной научной дистанционной онлайн-конференции, Ташкент: «Исследования», 2022. - 15-16 с.

9. Холматова М.М. Файзиев В.Б. Картофельный L- вирус биологический характеристика и систематический // Академические исследования в области наук об образовании, Ташкент - 2022. С. 923-933 .
10. Юсубахмедов А.А. Файзиев В.Б. Вирус картофеля М, поражающий картофель, и его биологическая классификация // Академические исследования в области наук об образовании, Ташкент - 2022. С. 424-429.
11. Юсубахмедов А.А., Файзиев В.Б. Определение некоторых биологических свойств и идентификация М вируса картофеля вспомогательным методом ПЦР // Международный научный журнал «Современная биология и генетика», 2022. №1-2, с. 14-21.
12. Юсубахмедов А.А. Файзиев В.Б. Преимущества использования метода полимеразной цепной реакции при идентификации фитопатогенов в клубеньках картофеля // Ташкентский государственный аграрный университет. «Актуальные вопросы и проблемы, ожидающие решения в селекции сельскохозяйственных культур, семеноводстве и агротехнологиях » сборник материалов республиканской научно-практической конференции .
2022. С. 298-299.
13. Юсубахмедов А.А., Файзиев В.Б. Преимущества использования метода полимеразной цепной реакции при выращивании безвирусных семенных клубеньков картофеля. Генетика и растения экспериментальный Институт биологии наука, образование и упражняться интеграция : проблемы и инновационный решения республика научно-практический конференция коллекция . 2022 год . 90-92 стр.

Интернет-сайты

14. https://www.sciencedirect.com/topics/agriculture-and-biological-sciences/potato-virus-m
15. https://link.springer.com/article/10.1007/BF02356053
16. https://naukarus.com/effektivnyy-method-diagnostiki-i-identifikatsii-virusnyh-patogenov-kartofelya
17. https://viralzone.expasy.org/739?outline=all_by_species

Генетика
Genetics

УДК 575.1:638.2:677.37 (575.1)

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ, СБАЛАНСИРОВАННЫХ ПО ДВУМ НЕАЛЛЕЛЬНЫМ Z-ЛЕТАЛЯМ, С ПОВЫШЕННЫМИ КАЧЕСТВЕННЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КОКОНОВ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *BOMBYX MORI* L.

М.А.Абдикодиров[1], Б.У.Насириллаев[2]
[1]*Чирчикский государственный педагогический университет, г. Чирчик, Узбекистан*
[2]*Узбекский научно-исследовательский институт шелководства, Ташкент, Узбекистан*
*Соответствующий автор email: abdumurodxoja@gmail.com
bahtiyor6503@mail.ru

Аннотация. В данной статье представлены результаты исследований по улучшению уникальной породы С-8нгл тутового шелкопряда *Bombyx Mori* L., сбалансированной по двум эмбриональным Z-летальям и меченной по полу на стадии яйца. С использованием простой генетической линии, с высокими технологическими свойствами проведены беккросс скрещивания. В эксперименте использовали, также, транслокантную, меченную по полу линию trw_2w2×Л-67. На втором этапе усовершенствования было выполнено скрещивание анализатора с использованием транслокационной линии для получения информации о том, какой из двойных генотипов присутствовал в полученном генотипе поколений F_1, F_2, F_3 и F_4. Были разработаны генетические схемы для мониторинга эмбриональных генов ℓ_1 и ℓ_2, прикрепленных к Z-хромосоме в поколениях F_1, F_2, F_3 и F_4, полученных путем обратного скрещивания, и для демонстрации степени их присутствия в каждом поколении. Баланс эмбриональных неаллельных генов в селекционной линии селекции был достигнут благодаря получению поколения F_4. Было обнаружено, что недавно полученная генетическая линия обладает более высокой жизнеспособностью и качеством шелковых волокон по сравнению с оригинальной породой С-8нгл. Эта новая линия успешно прошла лабораторные испытания и может быть широко использована только на предприятиях гренопроизводства для получения гибридных комбинаций только мужского пола.

Ключевые слова: половая хромосома, шелкопряд, порода, генетическая линия, транслокация, эмбриональная Z-летальность, обратное скрещивание, маркировка пола.

DEVELOPMENT OF A NEW METHOD FOR OBTAINING GENETIC LINES BALANCED BY TWO NON-ALLELIC Z-LETALS WITH INCREASED QUALITY TRAITS OF SILKWORM *BOMBYX MORI* L. COCOONS

M.A.Abdikodirov[1], B.U.Nasirillaev[2]

[1]Chirchik State Pedagogical university, Chirchik, Uzbekistan
[2]Uzbek research institute of Sericulture, Tashkent, Uzbekistan
*Corresponding author email: abdumurodxoja@gmail.com
E-mail addresses of co-author: bahtiyor6503@mail.ru

Annotation. This article presents the results of research to improve the unique breed of C-8ngl silkworm *Bombyx Mori L.*, balanced by two embryonic Z-lethal and marked by sex at the egg stage. Backcross crosses were carried out using a simple genetic line with high technological properties. In the experiment, a translocated, sex-marked trw2w2×L-67 line was also used. At the second stage of improvement, the analyzer was crossed using a translocation line to obtain information about which of the double genotypes was present in the resulting genotype of generations F_1, F_2, F_3, and F_4. Genetic schemes were developed to monitor the embryonic genes ℓ_1 and ℓ_2 attached to the Z chromosome in generations F_1, F_2, F_3, and F_4 obtained by backcrossing, and to demonstrate the degree of their presence in each generation. The balance of embryonic non-allelic genes in the breeding line was achieved by obtaining the F_4 generation. It was found that the newly obtained genetic line has a higher viability and quality of silk fibers compared to the original C-8ngl breed. This new line has successfully passed laboratory tests and can be widely used only in production facilities to produce hybrid combinations of male-only.

Keywords: sex chromosome, silkworm, breed, genetic line, translocation, embryonic Z-lethality, reverse crossing, sex marking.

Введение

Коконы тутового шелкопряда вида *Bombyx mori L.* являются основным сырьем для производства пользующихся наибольшим спросом натуральных шелковых волокон. Во всем мире, ежегодно в 21 странах мира производится 917 650 тонн коконов. Среди стран по выращиванию коконов ведущее место занимают КНР, Индия и Узбекистан. На долю этих 3 государств приходится 97,16 процентов выращиваемого в мире кокона. Другие страны заготавливают оставшиеся 2,84 процента. В шелководстве, на основе методов управления полом тутового шелкопряда, при создании пород и гибридов, дающих шелковые волокна типа 3А, 4А и 5А, использование генетического материала, содержащего в своем генотипе двух летальных гена, а также разработка эффективных методов получения новых генетических линий с их участием является одной из актуальных проблем.

В мире уделяется особое внимание генетическим исследованиям в области создания пород, линий и гибридов тутового шелкопряда, дающих высокий урожай коконов, и вместе с тем тонкое шелковое волокно высокого качества, а также повышения жизнеспособности гусениц и устойчивости к различным неблагоприятным факторам. Одной из актуальных задач является создание генетических линий с новыми свойствами на основе меченых по полу на стадии яйца пород, содержащих в

генотипе тутового шелкопряда вида *Bombyx mori* L. неаллельные сцепленные с полом эмбриональные летальные гены, сохранение баланса эмбриональных летальных генов в их генотипе, а также обеспечение баланса полов в соотношении 1:1 и получение гибридов с участием этих форм, отвечающих требованиям современной шелковой промышленности [15, 16].

Метод регулирования пола тутового шелкопряда на основе Z-леталей разработан В.А.Струнниковым и С.С.Леженко в 1970 году [4]. В.А.Струнников, С.С.Леженко и У.Н.Насириллаев вывели гибриды мужского пола “Турон 1”, “Турон 2” с участием сбалансированных по парным леталям и крупнококонных пород Орзу, Юлдуз. С целью маркировки пола С.С.Леженко и Б.У.Насириллаев получили новую транслокацию [3]. Скрещиванием меченых по полу линий с простыми линиями выведены промышленные гибриды “Зарафшон 2” и “Зарафшон 3”.

Из зарубежных учёных Z.Xin-rong получили гибрид мужского пола с участием линий S-8 и S-14 [3]. X.Jianguo вывел гибридные поколения с участием линий группы Ping, полученных на основе сбалансированных по леталям S-8 и S-14, меченых по полу на стадии яйца пород [6]. H.Kerong работал над выведением новой породы посредством включения сцепленных с полом летальных генов в породы с высокими хозяйственными и технологическими показателями [7]. F.Marec внедрил новые методы в цитогенетические исследования [8], A.Ohnuma успешно завершил исследования, проведённые над усовершенствованием методов получения сбалансированных по эмбриональным леталям, меченых по полу на основе окраски кожи личинок [11], W.Traut и A.Ohnuma широко внедрили усовершенствование [12, 10]. J.Chen изучал влияние сцепленных с Z-хромосомой рецессивных неаллельных леталей на аномалии в эмбриональном развитии [5]. В настоящее время регулируемые по полу породы используются на практике лишь частично. Проблема их низкой эффективности в гренопроизводстве заключается в несовершенствовании этих пород [14]. Особенность уникальной породы С-8нгл, созданной В.А. Струнником, заключается в том, что как женские, так и мужские эмбрионы выживают при скрещивании внутри породы, а при скрещивании с обычными породами любого другого пола в охарактеризованном поколении F_1 выживают только особи мужского пола [2]. Некоторые Японские ученые успешно завершили свои исследования по совершенствованию метода получения сбалансированных пород с маркировкой пола по цвету кожи личинок на эмбриональной стадии. Схема смешивания состояла из коммерческих линий (обычно первого поколения) под названием «Platina Boy», которые отличались своей производительностью и высоким качеством шелка от предыдущих линий, созданных таким же образом [9].

Целью исследования являлась разработка генетического метода, направленного на улучшение качественных показателей сбалансированных по Z-леталям породы С-8 нгл и получение

гибридных комбинаций тутового шелкопряда, 100% мужского пола с участием породы С-8 нгл с мониторингом летальных генов.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили гусеницы F_1, F_2 и F_3 поколений, полученные скрещиванием породы С-8 нгл вида *Bombyx mori* L. тутового шелкопряда, сбалансированной по парным сцепленным с полом эмбриональным Z-летальным генам с линией Линия-28, обладающей высокими технологическими свойствами, а также новые гибридные комбинации мужского пола.

Методы гибридизации тутового шелкопряда, особенности проведения исследований по генетическому анализу в лабораторных условиях, а также примененные статистические методы при обработке полученных результатов. В этой главе приведен метод получения только самцового поколения на основе сбалансирования эмбриональных Z-леталей и общие особенности полученных в результате этого метода гибридов F_1, «контроля леталей», генетического анализа наследования летальных генов, критерия χ^2 и обработки полученых цифровых данных биолого-статистическим методом. Кроме того изложены метод получения только мужского поколения на основе сбалансирования применённых в экспериментах эмбриональных Z-летальных генов, репродуктивные показатели, признаки оживления и жизнеспособности, продуктивность коконов, а также методы определения технологических особенностей, методика статистической обработки результатов [1].

Результаты исследования и обсуждение

Как показали полученные результаты, были проведены анализы в общем 186779 штук грен первого поколения породы С-8 нгл, и подтвердилось, что значение χ^2 составило 1,84 в соотношении 1:1. Анализы, проведённые с помощью метода χ^2 критерия показали, что улучшаемую породу можно использовать в качестве исходного материала. Стало ясно, что между ожидаемым соотношением серой и светло-жёлтой окраски грен и теоретически рассчитанным соотношением большой разницы не наблюдалось (114 штук). Этот результат получен посредством проведения анализа по χ^2 критерию соотношения 23903 штук грен комбинации ♀(С-8 нгл×Л-28)×♂(Л-28×С-8 нгл). Половина поколения самок, полученного в первом направлении анализируемой кладки яиц, было убито летальным геном l_1. Кладки яиц дали расщепление в соотношении 3 части серой: 1 часть светло-жёлтой окраски. Во втором F_2 поколении усовершенствования анализ соотношения яиц по критерию χ^2 в комбинации ♀(тр24w_2w_2×Л-67)×♂(Л-28×С-8нгл) анализирующего скрещивания, показал, что полученный в экспериментах результат по соотношению серых и светло-жёлтых грен к общему количеству грен, полученных в яйцекладах, был близок к теоретически ожидаемому результату. Анализы, проведённые с помощью метода χ^2 показали, что для определения наличия эмбриональных Z-леталей в генотипе улучшаемой

породы можно использовать данные кладки яиц (χ^2=0,96). Примечательным аспектом является то, что в поколении, полученном из комбинации ♀(тр24w_2w_2×Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл) анализирующего скрещивания, на этапе данного улучшения, определяются не только эмбриональные летали, но и последующая вторая линия улучшателя после линии улучшителя Л-28. По этой причине были проанализированы все показатели гучениц, полученных из комбинации ♀(тр24w_2w_2×Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл) на втором этапе усовершенствования. Что касается кладки яиц, полученных при анализирующем скрещивании, то у 16 из 33 семей, полученных с двух разных направлений, обнаружены эмбриональные летали. Из 16 кладок яиц количество кладок яиц, содержащих летальный ген ℓ_1, составило 5 штук, а количество кладок яиц, содержащих летальный ген ℓ_2, составило 11 штук. Эти 16 кладок яиц были включены в следующий этап усовершенствования.

На 3-й день 1/3 часть грен самок (у серых грен) погибла на стадии побеления. 1/3 часть серых грен были самцами, и их нельзя было отличить гетерозиготности по летали ℓ_1. Несмотря на несколько низкую оживаемость грен желтой окраски, их жизнеспособность была почти нормальной. Все желтые грены были гомозиготными по гену окраски грен w_2 и гетерозиготными по летали ℓ_1. Опираясь на вышеуказанные признаки, все кладки яиц, полученные при анализирующем скрещивании, были разделены на 2 группы: сохраняющие в генотипе леталей ℓ_1 и ℓ_2. Только на 3-й день появилась возможность различать данные летали (рис. 1).

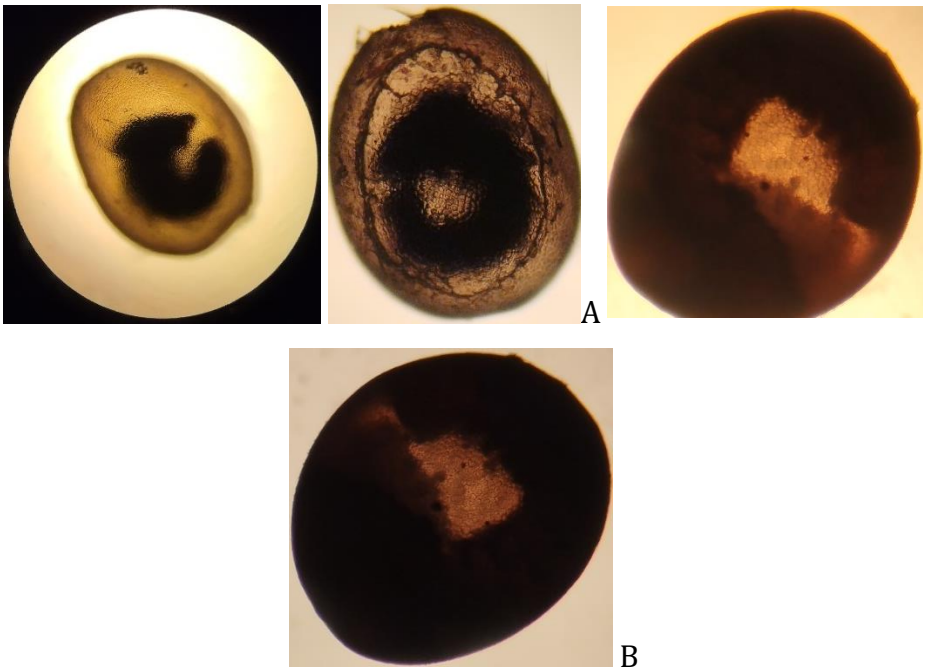


Рисунок 1. А. Грены серой окраски, погибшие под влиянием летали ℓ_1 (♂♂+♀♀)
В. Грены серой окраски, погибшие под влиянием летали ℓ_2 (♂♂ + ♀♀)

На третьем этапе усовершенствования, при приведении леталей в баланс, их привлекали к

скрещиванию по заранее разработанной теоретической схеме для объединения каждой летали из разрозненного состояния в парные Z-хромосомы. А до этого проводили анализ соотношения подготовленных кладок яиц. При этом в генотипе полученного поколения ген $+w_2$, расположенный в 10-й хромосоме, был гомозиготном и гетерозиготном состоянии, а серые и светло-желтые грены расщеплялись в двух соотношениях – 3:1 и 1:1. Исходя из небольшой разницы между гренами, полученными на практике, и гренами, рассчитанными с теоретической точки зрения (χ^2=1,24 и 0,34 соответственно), видно, что погрешность здесь минимальна. На третьем этапе усовершенствования, в промежуточных процессах сбалансирования леталей, было проанализировано соотношение окраски грен во втором варианте кладки яиц, также как и в первом варианте. Полученное значение χ^2 в соотношениях 3:1 и 1:1 составило 0,43 и 0,14 соответственно. Полученные при анализирующем скрещивании мужские кладки яиц были индивидуально пронумерованы и скрещены один раз с самками основной кладки яиц, и один раз с самками линий, меченных по полу в следующих направлениях:

♀[♀(С-8 нгл×Л-28)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ₁ серая*) → ♂[♀(тр24w_2w_2 x Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ₂ светло-желтая*)

♀[♀(тр24w_2w_2 x Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ₁ серая*) → ♀[♀(С-8 нгл×Л-28)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ₂ серая*) → ♂[♀(тр24w_2w_2 x Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ₁ светло-желтая*)

♀[♀(тр24w_2w_2 x Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ₂ серая*) →

Для проведения работ по общему анализирующему скрещиванию были подготовлены 237 кладок яиц. Из них количество кладок яиц, содержащих летальный ген ℓ_1, составило 40 из 135 штук, а количество кладок яиц, содержащих летальный ген ℓ_2, составило 32 из 102 штук (рис. 2).

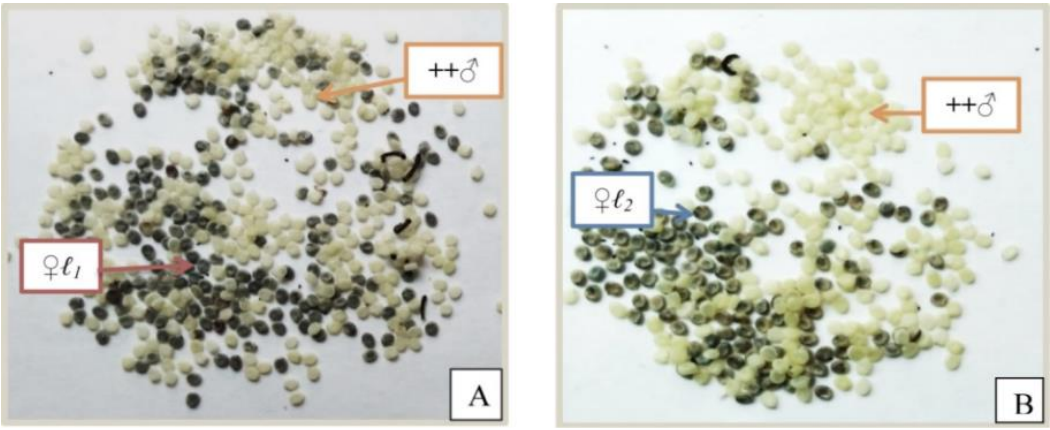


Рисунок 2. Гибель эмбрионов в яйце под влиянием летальных генов ℓ_1 и ℓ_2:
A. Грены серой окраски, погибшие под влиянием летали ℓ_1 (♂♂ + ♀♀)
B. Грены серой окраски, погибшие под влиянием летали ℓ_2 (♂♂ + ♀♀)

После разделения по деталям основных двух вариантов

усовершенствования, учитывая идентичность женских организмов первого варианта с фенотипической точки зрения, их всех откармливали, и скрещивали с бабочками белоглазых самцов, оживленных из светло-жёлтых грен второго варианта. 1/4 часть мужских организмов основного II-варианта усовершенствования, или 1/2 часть мужских организмов, оживленных из светло-жёлтых яиц, имели парные летали, которые были максимально вовлечены в процесс скрещивания.

Путем проведения анализирующего скрещивания было выявлено, что 23 из всего взятых 231 кладок яиц потомства, обладающего сбалансированными по Z-леталям генами из основных кладок яиц, действительно содержат летальные гены ℓ_1 и ℓ_2. Таким образом, в результате усовершенствования породы С-8 нгл в качестве нового аналога была получена улучшенная линия (рис. 3).

P $W^{+w_2+l_1}Z^{l_1,w_2/w_2}$ × $Z^{l_1}Z^{l_2,w_2/w_2}$

♀ I-вариант F_3 ♂ II-вариант F_3

F_4 $W^{+w_2+l_1}Z^{l_1,w_2/w_2}$ $\cancel{W^{+w_2+l_1}Z^{l_2,w_2/w_2}}$ $Z^{l_1}\cancel{Z^{l_1,w_2/w_2}}$ $Z^{l_1}Z^{l_2,w_2/w_2}$

1♀ серая 1♀ серая, гибнут 1♂ светло-жёлтая, гибнут 1♂ светло-жёлтая

Рисунок 3. Получение усовершенствованного поколения F_4.

Используя новый генетический метод возможен перенос свойств улучшающей породы (линии) в генотип сбалансированной по эмбриональным леталям породы (линии) посредством беккросс скрещивания. Важно отметить, что необходимо строго контролировать летальные гены от первого беккросс поколения до четвертого беккросс поколения, чтобы обеспечить передачу их в следующее поколение. В результате, в четвертом поколении эмбриональные летальные гены балансируются. Преимущество данного нового генетического метода перед ранее созданными методами состоит в том, что нет необходимости получения транслокации под действием γ-лучей и индуцировать эмбриональные ℓ_1 и ℓ_2 летальные гены. В результате сокращается объем проводимых генетико-селекционных мероприятий, повышается производительность труда, в 2-3 раза экономятся труд и денежные средства. Возможно эффективное использование рекомендуемого нами метода усовершенствования на племенных станциях тутового шелкопряда, обладающих достаточными ресурсами.

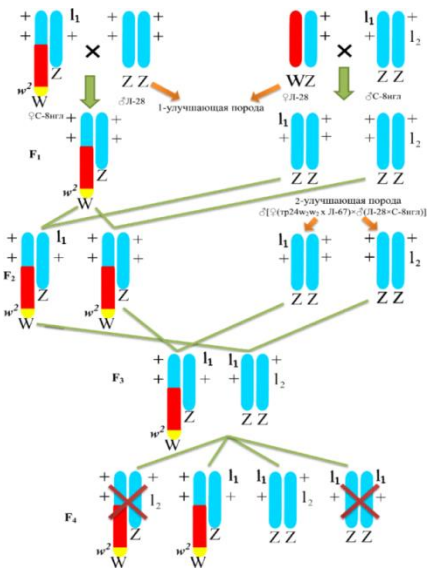


Рисунок 4. Схема усовершенствования линии тутового шелкопряда, сбалансированной по эмбриональным Z-леталям, дающее возможность получения только мужского поколения [С.С.Леженко, Б.У.Насириллаев, М.А.Абдикодиров; 2022).

Кроме того, при наличии в предлагаемом новом методе улучшения необходимых пород и линий, возможно его внедрение в научных организациях любой зарубежной страны, занимающихся шелководством, с получением идентичных результатов. В таблице 1 приводятся биологические показатели породы-сопоставителя С-8 нгл и новой усовершенствованной линии

Таблица 1

Биологические показатели гусениц на третьем этапе усовершенствования породы С-8 нгл тутового шелкопряда

Оживление яиц, %	Жизнеспособность гусениц, %	Масса кокона, г	Шелковистость, %
С-8 нгл (сопоставитель)			
85,0	90,9±2,26	1,96±0,01	23,1±0,13
Усовершенствование F_3 ♀[♀(С-8 нгл×Л-28)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ_2 серая*) × ♂[♀(тр24w_2w_2 х Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ_1 светло-жёлтая*)			
82,9	91,3±3,32	1,74±0,01	23,1±0,15
Усовершенствование F_3 ♀[♀(С-8 нгл×Л-28)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ_1 серая*) × ♂[♀(тр24w_2w_2 х Л-67)×♂(Л-28×С-8 нгл)] (*ℓ_2 светло-жёлтая*)			
92,6	90,67±2,53	1,6±0,02	25,4±1,44

Показатель жизнеспособности породы С-8 нгл был относительно низким (89,3%). Показатели оживления яиц включенных в усовершенствование первой линии Л-28 (93,0%) и второй линии тр24w_2w_2×Л-67 (94,0%) были на удовлетворительном уровне. Жизнеспособность породы С-8 нгл в период гусеницы составило 83,7%, а у линии Л-28 было 91,1 % и линии тр24w_2w_2×Л-67 - 86,8%. Доля гусениц, не достигших до завивки кокона у

породы С-8 составила 2,4%, у линии Л-28 – 6,6%, у линии тр24w_2w_2×Л-67 – 4,8% от общего числа гусениц. При усовершенствовании у прямых и обратных поколений F_1 Л-28×С-8 нгл и С-8 нгл×Л-28 в эмбриональный период жизнеспособность была одинаковой – 94,6%, а жизнеспособность в период гусеницы 94,9% и 91,8% соответственно. Процент же заболеваемости составил 2,7% и 5,2% соответственно. К третьему поколению по плодовитости порода-сопоставитель С-8 нгл показала лучшие результаты. В частности, количество серых, а также светло-жёлтых грен составило 300 и 334 штук соответственно. Масса яиц в кладке была равна 401 мг. Это на 140-165 штук больше направления основного усовершенствования и аналитического скрещивания. Доля физиологически непригодных яиц, где между гренами основного и анализирующего направления усовершенствования не было существенного различия по сравнению с сопоставителем и составило на 0,2-0,35 % больше.

Признаки жизнеспособности имели более высокие показатели. В частности, если показатель эмбриональной жизнеспособности сопоставителя составил 85,0%, то в направлении усовершенствования, состоящего из потомства самок, данный показатель составил 82,91%, во втором направлении, состоящего из поколения самцов, задал верхний предел с 82,91%. Только самки серой окраски первого направления усовершенствования в стадии гусеницы имели относительно хороший показатель жизнеспособности 91,3%. Соотношение гусениц, которые под влиянием каких-либо факторов не смогли завить здоровые коконы, к здоровым гусеницам, как и ожидалось составило 1,89% только в потомстве самцов F_3, оживленных из светло-жёлтых грен второго направления. Следует отметить, что калибр коконов двух основных направлений достиг значительного увеличения по массе оболочки и шелконосности. Действительно, в результате укрупнения коконов и более мягких, чем обычно, оболочки и полюсов коконов породы С-8 нгл, взятой в качестве сопоставителя, ещё раз продемонстрировано на цифровых данных по ускорению процесса снижения шелконосности, а также серьёзного изменения породистости совершенствованном поколении F_3 самый высокий уровень шелковистости наблюдался у первой группы серой окраски – 25,4 %.

Таблица 2

Технологические показатели коконов на третьем этапе усовершенствования породы С-8 нгл тутового шелкопряда

Показатели	С-8 нгл	Совершенствование F_3 серая (♀ ℓ_2 × ♂ ℓ_1)	Совершенствование F_3 светло-жёлтая (♀ ℓ_1 × ♂ ℓ_2)
Масса сухого кокона, г	0,791	0,761	0,686
Выход шелка-сырца, %	35,70	49,37	52,29
Выход шелковой продукции, %	44,38	53,59	54,21

Разматываемость кокона, %	80,44	91,08	86,97
Длина непрерывно разматываемой нити, м	258	967	1033
Общая длина шелкового волокна, м	1071	1358	1592
Метрический номер волокна, м/г	3145	3056	3374

Если проанализировать непосредственно важнейшие технологические признаки полученных коконов, то среди них, считающихся важными, выход шелка-сырца у породы С-8 нгл составил 35,7%. Развившиеся из серых грен поколения F_3 женские организмы дали 49,37%, а мужские организмы – 52,29% шелка (таблица 2).

У породы С-8 нгл общая длина шелкового волокна (1071 м) была короче поколений самцов и самок, полученных от усовершенствования, на 287-521 м соответственно. Метрический номер волокна, т.е. тонина, у новых полученных самцовых коконов поколения F_3 составила 3374 м/г и по сравнению с сопоставителем С-8 нгл наблюдался результат выше на 229 м/г.

Работы проводились по мониторингу посредством разделения на группы с целью построения генеологии семей породы С-8 нгл, приготовленных для весеннего сезона 2020-2022 годов. Результаты представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3

Показатели мониторинга леталей и процента оживляемости в поколении женского пола породы С-8 нгл (2020-2022 гг.)

Самка ♀♀				
количество яиц, штук [quantity of eggs, pieces]				**процент оживления, %**
Общее	**Оживших**	**неоживших летальных**	**Неоживших**	
2020 г.				
357±3,02	132±1,54	197±2,70	19±0,06	37,0±0,10
2021 г.				
340±6,94	151±4,11	168±5,11	20±1,94	45,0±0,67
2022 г.				
325±4,46	138±5,11	173±3,20	14±1,44	46,0±0,49
Среднее				
341±9,24	140±5,61	179±8,95	17±1,91	43,0±2,86

Как показал анализ трехлетних результатов мониторинга, у полученного поколения самок показатель оживляемости был ниже 50%, где высокий предел составил 47%, а нижний предел 37%. Отсюда следует, что баланс леталей поколения самок, полученных внутри породы не был смещён ни в одну, ни в другую сторону. Также можем наблюдать, что у полученного внутри породы поколения самцов произошли

неожиданные изменения. В некоторых семьях оживаемость самцов составила 54%. Это свидетельствует о нарушении баланса леталей в семье. Эта семья была забракована без привлечения самцового поколения для выращивания в следующем сезоне.

Таблица 4 [Table 4]

Показатели мониторинга леталей и процента оживляемости в поколении мужского пола породы С-8 нгл (2020-2022 гг.)

Самец ♂♂				
количество яиц, штук [quantity of eggs, pieces]				процент оживления, %
Общее	Оживших	неоживших летальных	Неоживших	
2020 г.				
399±1,14	144±0,40	184±1,37	19±0,86	37,0±0,17
2021 г.				
374±9,67	169±6,14	141±4,84	14±5,99	45,0±0,91
2022 г.				
343±6,52	138±6,59	181±3,47	24±2,98	43,0±0,86
Среднее				
372±6,13	150±6,57	154±4,86	19±2,89	42,0±2,42

В следующей 5-таблице приведены биологические показатели 100% самцовых гибридов, полученных с участием породы С-8 нгл в качестве отцовской формы и новых линий в качестве материнской формы

Таблица 5 [Table 5]

Биологические показатели самцовых гибридов F_1, полученных при скрещивании породы С-8 нгл с обычными породами (линиями) (2020-2022 гг.)

Гибриды	Оживление яиц, %	Жизнеспособность гусениц, %	Масса кокона, г	Шелковистость, %
Истикбол	90,2±3,48	92,9±1,23	1,86±0,04	24,99±0,55
Л-66хС-8 нгл	89,2±4,61	93,8±1,75	1,77±0,04	25,87±0,37
Л-28хС-8 нгл	87,3±5,16	90,4±2,33	1,78±0,09	27,2±0,55
Л-203хС-8 нгл	88,2±2,10	91,5±3,05	1,85±0,08	25,6±0,44
Л-207хС-8 нгл	87,0±1,52	92,9±1,73	1,77±0,04	25,1±0,37
Узбекистан 5 (контроль)	85,2±3,13	92,9±1,17	2,20±0,09	21,7±0,63

Выше видно, что среди самцовых гибридов, хороший результат показал гибрид Истикбол с высокой жизнеспособностью 90,2%. Гибрид Л-66хС-8 нгл можно привести в качестве удовлетворительного результата среди поколений самцовых гибридов с высокой долей гусениц, достигших коконозавивки (93,8%). Следующим показателем является процент заболеваемости, измеряющимся соотношением количества гусениц,

которым не удалось завить здоровый кокон, к общему количеству здоровых гусениц. Результаты проведённого трехлетнего эксперимента показали, что этот результат был различным. В частности, комбинация Л-66хС-8 нгл отличалась наличием всего 1,91% нездоровых коконов среди общего количества коконов. Проанализированные данные

гибрида Узбекистан 5, взятого в качестве сопоставителя показали, что, несмотря на их плодовитость жизнеспособности гусениц находилась на не достаточном уровне. Во-первых, Узбекистан 5, взятый

в качестве сравнения, имеет крупные коконы благодаря своему тетрагибридному происхождению. Это, в свою очередь, отражается на весе коконов. В частности, данный гибрид отличался массой кокона 2,22 г от остальных самцовых гибридов и материнских пород, а также линий. К этому гибриду с относительно близкими показателями были ближе Л-207хС-8 нгл и Истикбол (1,86-1,89 г). Примерно такая же тенденция наблюдалась и по массе оболочки кокона. В частности, у тетрагибрида Узбекистан 5 она составила 503 мг, тогда как наиболее близкий показатель был выявлен у Л-28хС-8 нгл и составил 489 мг. Порода Марварид также имела относительно высокую массу кокона (441 мг). Соотношение массы оболочки кокона к общей массе кокона, т.е. свойство высокой шелковистости, отчетливо проявила самцовая гибридная комбинация Л-28хС-8 нгл (27,2%). У линии Л-28, взятой в качестве материнской данный, показатель составил 24,7%.

Заключение

1. Отмечено, что начиная со второго этапа усовершенствования было проведено анализирующее скрещивание, из 33 семей выявлено 5 семей, содержащих летальный ген ℓ_1 и 11 семей, содержащих летальный ген ℓ_2. В результате анализирующего скрещивания, проведенного на третьем этапе усовершенствования, доказано наличие летального гена ℓ_1 в генотипе 40 из 135 семей и наличие летального гена ℓ_2 в генотипе 32 из 102 семей. Всего из 231 семей было выделено 23 семьи, достигших сбалансирования к поколению F_4, содержащих парные летали.

2. Выявлено, что жизнеспособность (92,63%) и высокий метрический номер шелкового волокна (3374 м/г) у новой линии, полученной в качестве аналога породы С-8 нгл, позволяет рекомендовать ее для гренажных предприятий.

3. Отмечено, что эмбриональная и постэмбриональная жизнеспособность гибридного потомства F_1 на уровне 85,2-95,5% и 85,0-93,5% соответственно, означает отсутствие в их генотипе негативного влияния 2-х неаллельных летальных генов ℓ_1 и ℓ_2.

4. Выявлено, что показатели выхода шёлка-сырца из коконов (46,99-50,43%), общей длины волокна (1214-1356 м) и метрического номера волокна (тонины) (2859-3213 м/г) показывают значительное превосходство по качеству коконов самцовых гибридов для производства.

5. Полностью доказано, что летальные гены ℓ_1 и ℓ_2 в генотипе самцовых гибридов F_1 не оказывают негативного влияния на хозяйственные признаки и

жизнеспособность тутового шелкопряда.

6. Отмечено, что высокие технологические показатели шелкового волокна, размотанного из коконов промышленных самцовых гибридов, повышают возможность получения в Узбекистане шелковых мотков типа 4А и 5А.

Список литературы

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. (С основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. Изд. Высшая школа, 1989. - С. 555-560.
3. Леженко С.С. Тут ипак қуртида жинс билан боғлиқ рецессив эмбрионал леталларни аниқлашнинг генетик ва математик усули. Ўзбекистон ипакчилиги ривожланишининг илмий асослари. – Т., 2011. – 38-46 б.
4. Струнников В.А., Леженко С.С. Искуственная регуляция пола у тутового шелкопряда. Сооб.4. Генетика. – 1979. – 15. № 6. – С. 1096-1114
5. Chen J.N., Niu B.L., Wang Y., Liu Y., Liu P.G., Meng Z.Q. Proteome analysis on lethal effect of l2 in the sex-linked balanced lethal strains of silkworm, *Bombyx mori*. // Biotechnol Bioproc. E. – 2012. – 17 (2). – P. 298-308.
6. Jianguo X., Xinrong Z. Studies on the trans-breeding and improvement of sex-controlled silkworm (*Bombyx Mori*) Race and It's application // Silkworm mulberry through Report. – 1998. 4 (29). 4-8 p.
7. Kerong H., Xinrong Z., Hui H. Silkworm sex chain balance lethal line sex research on methods of controlled gene transfer // J. Chinese Agricultural Sciences, 2002, 35 (2): P. 213-217
8. Marec F., Neven L.G., Robinson A.S., Vreysen M., Goldsmith M.R. Development of genetic sexing strains in Lepidoptera: From traditional to transgenic approaches // J. Econ. Entomol. – 2005. № (98). – P. 248–259.
9. Ohnuma A. Establishment of the practical male-rearing technology by a balance sex-linked lethal // J. Sric. Sci. Jpn. 2005. - 74 (2·3), P. 81-87.
10. Ohnuma A. The history of the development of male-rearing silkworm strain, *Bombyx mori* (in Japanese) // Rep. J. Dainippon. Silk Found. – 2006. – № (54). – P. 1-10.
11. Ohnuma, A. Establishment and verification of the balanced sex-linked lethal theory for genetic sexing of the silkworm, *Bombyx mori.* (in Japanese) // SANSHI-KONCHU BIOTEC. – 2010, 79, P.13-20.
12. Traut W., Sahara K., Marec F. Sex Chromosomes and sex determination in Lepidoptera // Sex Dev. – 2008. – № (1). – P. 332-346. DOI: https://10.1159/000111765
13. Xin-rong Z., Ke-Rong H., Jianguo X., Jianhui H. Analysis for the sex-controlled ability of the sex-linked and balanced lethal lines S-8 and S-14 on the *Bombyx Mori* // Silkworm mulberry through Report. – 1997. (28), 1. P. 15-17.
14. Yong Z., Zhonghuai X., Xiaogui L. Breeding of limited tea spots in silkworm // J. News. – 1991. (4), P.14-16.
15. Abdiqodirov, M. (2021, November). VITALITY INDICATORS OF F2 GENERATION IN IMPROVING BALANCED C-8 NGL BREED OF SILKWORM BY DOUBLE LETHAL. In

International Scientific and Current Research Conferences (pp. 32-35).

16. Nasirillaev, B. U., Abdikodirov, M. A., & Khalilova, M. F. Development of a new genetic method of improving the Mulberry Silkworm Bombyx Mori L. breed balanced on Embryonic Z-Lethal. International Journal of Health Sciences, (I), 4454-4470.

Авторский коллектив:

Абдикодиров Муродкхужа Алишер угли – д.ф.б.н., Чирчикский Государственный Педагогический университет, Чирчик, Узбекистан (111173, г. Чирчик, проспект Амира Темура, 104)

e-mail abdumurodxoja@gmail.com

Насириллаев Бахтияр Убайдуллаевич – д.с.х.н., Научно-исследовательский институт шелководство, Ташкент, Узбекистан (100169,, г. Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. Ипакчи, 1)

e-mail bahtiyor6503@mail.ru

УДК 633: 511: 575: 22.2

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВИДОВ ХЛОПЧАТНИКА СЕКЦИИ *MAGNIBRACTEOLATA*

Б.Х.Аманов[1], Н.Н.Набиева[2], Н.В.Тутушкина[3]

[1]Чирчикского Государственного Педагогического Университет, г. Чирчик, Узбекистан
[2]Андижанский институт сельского хозяйства и агротехнологий, г. Андижан, Узбекистан
[3]Ташкентский государственный педагогический университет имени Низами
*Соответствующий автор email: amanov.81@bk.ru

Аннотация. В результате межвидовой гибридизации выявлена фенотипическая близость вида *G.darwinii* к рудеральными и субтропическим формам видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., отдаленность от дикой формы subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) и направленность его эвалюции в сторону культурных видов. Высокие показатели жизнеспособности пыльцевых зерен у гибридов F_1-F_2 свидетельствуют о филогенетической близости изучаемых внутривидовых разновидностей и видов. Выявлено, что у межвидовых гибридов F_1 признак требовательности к длине дня в основном, наследуется по доминантному типу, а у гибридов F_2 - под некумулятивним влиянием полимерных генов. Наследование данного признака в соотношении 15:1 указывает, что у полудикой формы f.*parnat* и дикого вида *G.darwinii* Watt, требовательность к длине дня контролируется рецессивными генами а у культурного сорта «Келажак»- доминантными генами. Установлено, что исходные формы различаются по показателям изученных признаков, доля количества волоконец на новерхности семени зависит не только от объема семени, количества и величины эпидермальных клеток, но и числа клеток, окружающих каждого волоконца. Создана схема, окределяющая степень филогенетических отношений внутиривидовых разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt, облегчающая отбор первичного материала, служащая повышению эффективности и ускорению генетических и селекционных исследований, позволяющая получить уникальных рекомбинантных форм по хозяйственно - ценным признакам.

Ключевые слова: хлопчатник, тетраплоид, *Magnibracteolata*, *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L., *G.darwinii* Watt, вид, форма, гибрид, гетерозис, беккросс.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF SOME POLYMORPHOUS COTTON SPECIES OF THE SECTION MAGNIBRACTEOLATA

B.Kh.Amanov, N.N.Nabiyeva, N.V.Tutushkina

[1]Chirchik State Pedagogical University, Chirchik, Uzbekistan
[2]Andijan Institute of Agriculture and Agrotechnologies, Andijan, Uzbekistan
[3]Tashkent State Pedagogical University named after Nizami
Email: amanov.81@bk.ru

Annotation. As a result of interspecific hybridization, the phenotypic closeness of the species *G.darwinii* to the ruderal and subtropical forms of the species *G.hirsutum* L. and *G.barbadense* L., the remoteness from the wild form subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Yucatan) and the direction of its evolution towards cultivated species were revealed. The high viability of pollen grains in F_1-F_2 hybrids indicates the phylogenetic closeness of the

studied intraspecific varieties and species. It was found that in F_1 interspecific hybrids, the trait of daylength requirement is mainly inherited by the dominant type, and in F_2 hybrids - under the non-cumulative influence of polymeric genes. The inheritance of this trait in the ratio of 15:1 indicates that the daylength requirement in the semi-wild form f.rarnat and the wild species G.darwinii Watt is controlled by recessive genes and in the cultivated variety "Kelajak" - by dominant genes. It was established that the original forms differ in terms of the studied traits, the proportion of the number of fibers on the surface of the seed depends not only on the volume of the seed, the number and size of epidermal cells, but also on the number of cells surrounding each fiber. A scheme has been created that determines the degree of phylogenetic relationships of the intraspecific varieties *G.hirsutum* L. and *G.barbadense* L. and the species *G.darwinii* Watt, which facilitates the selection of primary material, which serves to increase the efficiency and speed up genetic and breeding research, which makes it possible to obtain unique recombinant forms harboring economically-valuable traits.

Key words: cotton, tetraploid, *Magnibracteolata*, *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L., *G.darwinii* Watt, species, form, hybrid, heterosis, backcross.

Введение

В мире в удовлетворении всевозрастающих требований сельского хозяйства, при создании скороспелых, урожайных, с высоким качеством и выходом волокна, устойчивых к болезням, вредителям и неблагоприятным факторам среды сортов хлопчатника и повышении их сортности важным является рациональное использование уникальных генетических ресурсов биоразнообразия тетраплоидных видов рода *Gossypium* L.. На сегоднящий день использование наследственного потенциала внутривидовых разнообразий *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt секции *Magnibracteolata* имеет важное значение при решении ряда актуальных проблем хлопководческой отрасли.

В мире при создании новых сортов хлопчатника видов *G. hirsutum* L. и *G.barbadense* L. большое внимание уделяется решению спорных вопросов дифференциальной классификации тетраплоидных видов рода *Gossypium* L., изучению взаимной филогении внутривидовых биоразнообразий, вовлечение в селекционные проекты связей этих показателей с эффективностью применения в практической селекции, хозяйственно-ценных признаков отдельных видов и форм и неиспользованных источников генофонда. В этом направлении уделяется особое внимание получению генетически обогащенных новых трансгрессивных рекомбинантных форм в результате выявления наследования, изменчивости, анатомической структуры морфобиологических, в том числе хозяйственных признаков у внутри - и межвидовых гибридов и переноса уникальных хозяйственно - ценных признаков внутривидовых биоразнообразий *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L. и дикого вида *G.darwinii* Watt к культурным сортам.

Вопросы филогенеза и эволюции некоторых полиморфных видов секции *Magnibracteolata* хлопчатника изучены в

исследованиях ряда местных и зарубежных ученых [1, 3, 10, 12, 14, 15, 21]. В частности, в опытах Б.Х.Аманова на основе применения методов внутри- и межвидовой гибридизации, сравнительной морфологии и генетического анализа впервые получены новые сведения о генетических разнообразиях вида *G.barbadense* L., его филогенетических отношениях с видом *G.darwinii* Watt, морфобиологии полученных гибридов и возможности их использования в практической селекции [2]. D.R. Dejodie, J.F. Wendel проводили многочисленные исследования по фотопериодическим коллекциям видов *G.tomentosum* L., *G.mustelinum* L., *G.darwinii* Watt и *G.hirsutum* L. В этих работах отмечено, что большинства диких и примитивных видов рода Gossypium L. являются чувствительными к длине дня, цветение не наступает в условиях длинного дня, что не дает возможность использовать разных экзотических видов в селекционных целях [17].

У тетраплоидных видов исследования, проведенные с помощью радиационными, молекулярно - генетическими, цитогенетическими и анатомическими методами и полученные результаты освещены в работах Ф. Джаникулова [6], М.Ф.Санамьян, Ш.У.Бобохужаева [13], Ф.Н.Кушанова [8], Н.В.Грабовец [5], J.E.Endrizzi, E.L.Turcotte, R.J.Kohel [18, 20] и других ученых.

Однако, недостаточно проведены исследования по выявлению особенностей наследования, изменчивости ценности для практической селекции у гибридов F_1, F_2 ва F_1B_1, полученные скрещиванием внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L., *G. barbadense* L. между собой и с видом *G.darwinii* Watt и на этой основе получению генетически обогащенных форм. Выше приведенные сведения обозначают актуальность работы. Исходя из этого,в результате проведенных в этом направлении исследований, будет создана возможность переноса в культурные сорта генов диких, полудиких, культурно - тропических подвидов и форм видов *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L. и *G.darwinii* Watt.

Целью исследования является выявление взаимных филогенетических отношений внутривидовых разновидностей полиморфных видов *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L. секции *Magnibracteolata*, а также с видом *G.darwinii* Watt и получение форм с новой генетической основой.

Материалы и методы исследования

Научно-исследовательские работы выполнены в лаборатории экспериментальной полиплоидии и филогении хлопчатника института Генетики и экспериментальной биологии растений и на кафедре земледелия и лесной мелиорации Агробиологического факультета Андижанского института сельского хозяйства и агротехнологий.

Объектом исследования является внутривидовые разновидности *G.hirsutum* L. - subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан), subsp.*punctatum* (Мексика, Юкатан), subsp.*paniculatum* (Индия), сорт «Келажак» (Узбекистан), subsp.*ruderale* f.*parnat* (Перу) с кремовым волокном, subsp.*vitifolium* f.*brasilense* с красным стебелем, (Бразилия), сорт «Сурхан-9» (Узбекистан) вида *G.barbadense* L. и дикий вид *G.darwinii* Watt (Галапагосские острова). Использованы

системы P.A. Fryxell [19] и А.А. Абдуллаев, В.П. Клят [2].

В исследованиях использованы растения F_1 - F_2 и F_1B_1, полученные в результате межвидовой гибридизации внутривидовых разновидностей полиморфных видов *G. hirsutum* L., *G. barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt. В исследованиях использованы методы межвидовой и беккросс гибридизации. Жизнеспособность пыльцевых зерен исходного материала и растений F_1 определена использованием ацетокармина [11]. При изучении морфобиологических признаков родительских форм и растений F_1-F_2, F_1B_1 применены метод сравнительной морфологии и методическое пособие по определению морфобиологических признаков [9]. У гибридов первого поколения степень доминантности (hp) по признакам определена по G.M.Beil, R.E.Atkins [16], особенности опущения семян и эпидермальная поверхность исходного материала - по методу Н.А. Власовой [4]. Статистический анализ результатов исследования проведен по методу Б.А.Доспехова [7].

Результаты исследования и обсуждение

В исследованиях использованы растения F_1 - F_2 и F_1B_1, полученные в результате межвидовой гибридизации внутривидовых разновидностей полиморфных видов *G. hirsutum* L., *G. barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt. У 28 гибридных комбинаций, полученные в результате межвидовых скрещиваний внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt был определен процент завязываемости гибридных коробочек и полноценных семян в коробочках.

Анализ полученных данных показал хорошую скрещиваемость внутривидовых разновидностей *G. hirsutum* L. и *G. barbadense* L. между собой и с видом *G.darwinii* Watt, при этом завязываемость гибридных коробочек составила 33,3 - 93,3 %, а завязываемость полноценных семян в коробочке – 22,2 - 86,0 %.

Скрещиваемость форм внутривидовых диких и рудеральных подвидов *G.hirsutum* L. и *G. barbadense* L. между собой, т.е. процент заязываемости гибридных коробочек и полноценных семен в коробочке был равен 53,3 - 56,2 % и 50,7 - 59,5 %. У комбинации полудикой f.*parnat* x subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) завязываемость коробочек составила 56,2 %, завязываемость полноценных семян также была сравнительно высокой и составила 50,7 %, тогда как у обратной комбинации завязываемость коробочек и полноценных семен в коробочке составила соответетвенно 53,3 % и 59,5 %.

Выявлено, что у комбинации *G.darwinii* Watt x «Келажак» вида *G.darwinii* Watt и подвида subsp.*euhirsutum* вида *G.hirsutum* L., завязымость гибридных коробочек составила 87,3-93,3 %, а завязываемость в них полноценных семен 62,4 %.

Процент завязываемости полноценных семен в одной коробочке у внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L., и вида *G.darwinii* Watt составил, в основном, 72,1 - 91,8 %, у культурно - субтропического сорта «Келажак» - 91,8 %, а у вида *G.darwinii* Watt этот показатель составил 77,3 %.

У гибридов F_1, полученные в результате гибридизации форм диких и полидиких внутривидовых подвидов

G.hirsutum L. и *G.barbadense* L. между собой, показатели продуктовности были разными. В частности, у реципрокных гибридов subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) и subsp.*ruderale* f.*parnat* этот показатель составил 72,8-76,4 %, амплитуда изменчивости была высокой (50,0 - 93,0 %), коэффициент вариации имел средние показатели (17,6 - 17,4 %).

У реципрокных растений F_1, полученные в результате гибридизации *G.darwinii* Watt и дикого подвида *G.hirsutum* L. subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) завязываемость полноценных семен в одной коробочке составила 75,2 - 77,9 %.

Выявлено, что отобранные в качестве исходного материала внутривидовые разновыдности *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L. и вид G.darwinii Watt по количеству пыльников в цветке (117,5 - 125,5 шт.) пачти не различаются друг от друга. Дикая форма subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) по количеству пыльников имела сравнительно низкий (117,5 шт.) показатель. Установлено, что сорт «Келажак» subsp.*euhirsutum* вида *G.hirsutum* L., по количеству пыльников отличается от других внутривидовых разновидностей, т.е в цветке данного сорта количество пыльников составляет 125,5 шт. Полудикая форма f.*parnat* проявила высокие показатели по количеству пыльников (122,0 шт), а у культурно- тропическая формы subsp.*vitifolium* f.*brasilense* отмечено сравнительно низкий показатель (117,0 шт) данного признака. У вида *G.darwinii* Watt по количеству пыльников наблюдается аналогичная картина.

Жизнесноспособность пыльцевых зерен в цветках разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt имела высокие показатели и составила 93,9 - 96,9 %. Самый высокий показатель по признаку жизнеспособности пыльцевых зерен наблюдался у сорта «Келажак» (96,9 %), сравнительно низкий показатель - у формы *G.barbadense* L. subsp.*vitifolium* f.*brasilense* - 93,9 %. У вида *G.darwinii* Watt жизнеспособности пыльцы также была высокой, т.е, 94,8 %.

Дикие, рудеральные и культурно - тропические формы видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. и дикий вид *G.darwinii* Watt очень востребовательны и фотопериоду и вегетационный период составляет 156,0 - 200,1 дней. Культурные сорта «Келажак» и «Сурхон-9» отличаются приспособленностью и длинному дню, выделяются признаком скороспелости и их вегетационный период составляет 114,8 - 115,0 дней.

У межвидовых растений F_1, полученные на основе гибридизации диких и полудиких форм, по наследованию скороспелости наблюдались различные результаты. У изученных реципрокных комбинаций вегетационный период составил 158,0 - 165,0 дней, амплитуда изменчивости была невысокой, в соответствии с этим коэффициент вариации составил 2,2 - 3,8 %.

У комбинации F_1 subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) x subsp.*ruderale* f.*parnat* вегетационный период составил 158,0 - 165,0 дней, наследование промежуточная по доминантному типу (hp=0,9; hp=0,6). Если смотреть на результаты реципрокных комбинаций

анализируемой группы, то увидем зависимость продолжительности вегетационного периода или скороспелости от особенности формы, участвовавшей в качестве материнского родителя.

У растений F_1 комбинаций, относящиеся к полудиким х культурно - тропическим, полу диким х культурно - субтропическим, культурно - тропическим х полудиким, полудиким х культурно - тропическим, культурно - тропическим х культурно - тропическим, культурно - тропическим х культурно - субтропическим, культурно - субтропическим х полудиким, культурно - субтропическим х культурно - тропическим группам, по признаку вегетационного периода наблюдалось положительное промежуточное, отрицательное промежуточное и отрицательное сверхдоминантное наследование. Например, вегетационный период комбинации F_1 subsp.*ruderale* f.*parnat* x subsp.*paniculatum* составляет 156,6 дней, в наследовании наблюдалось положительное промежуточное состояние (hp=0,9), т.е. форма оказалась позднеспелой.

На основе анализа показателей, полученные по признаку веса хлопка-сырца одной коробочки установлено, что *G.darwinii* Watt и дикая форма subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) вида *G.hirsutum* L. по сравнению с другими образцами являются мелкокоробочными (1,1 г; 1,9 г), а из разновидностей *G.barbadense* L. полудикая форма subsp.*ruderale* f.*parnat*, subsp.*vitifolium* f.*brasilense* имеют каробочки средней крупности (2,0-2,3 г). У культурно - тропической формы subsp.*paniculatum* и сортов «Келажак» и «Сурхон-9» вес хлопка - сырца одной коробочки составил 3,4 - 5,8 г (рис.1).

Анализ показателей признака веса хлопка - сырца одной каробочки хлопчатника показал, что наследование данного признака у растений F_1, полученные на основе гибридизации, диких, полудиких, культурно - тропических, культурно - субтропических форм видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., относящиеся разным биологическим группам, протекает по разному. Наблюдалось, что у растений F_1, относящиеся к межвидовым культурно - тропическим х полудиким, культурно - тропическим х культурно - тропическим, культурно - тропическим х культурно - субтропическим группам, признак веса хлопка - сырца одной коробочки наследуется по сверх доминантному типу. У реципрокных комбинаций культурно - тропических форм subsp.*paniculatum* x subsp.*vitifolium* f.*brasilense* вес хлопка - сырца одной коробочки составил 4,5-5,1 г. и признак наследовался по сверхдоминантному (hp=3,0; hp=4,0) типу.

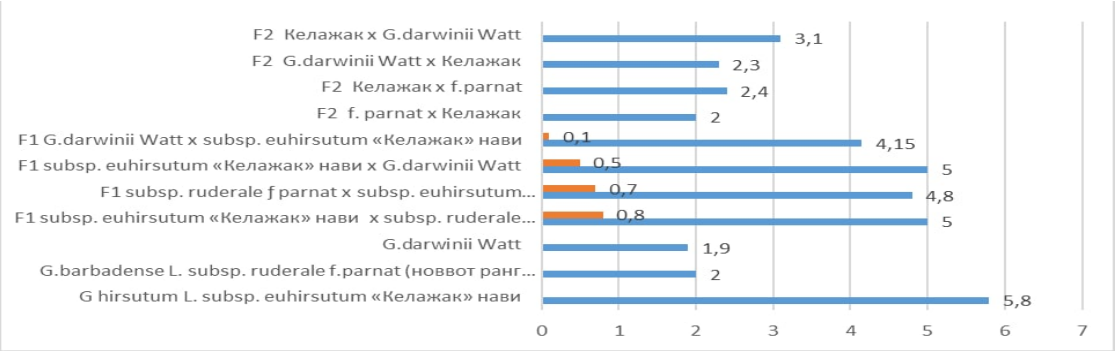


Рис.1. Наследование и изменчивость признака веса хлопка- сырца одной коробочки у исходных форм и межвидовых F_1- F_2 растений.

Установлено, что у межвидовых растений F_2 полученные в результате гибридизации форм видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., показатели гетерозиса по признаку веса хлопка - сырца одной коробочки не только сохраняются, но вместе с этим, повышаются. У растений F_2 размах изменчивости по признаку веса хлопка - сырца одной коробочки охватил 6 классов. Проводилась повторная гибридизация, т.е. беккросс культурных и полудиких форм. У межвидовой комбинации F_1B_1 («Келажак» x f.*parnat*) x «Келажак» сорта наблюдалось некоторое снижение показателя веса хлопка - одной коробочки. У анализируемых межвидовых комбинаций проявилось наличие правосторонней трансгрессивной изменчивости по весу хлопка - сырца одной коробочки и значимость этих рекомбинантных форм с генетико - селекционной точки зрения. Это показывает на возможность широкого использования в процессе практической селекции гибридов, полученные с участием диких, полидиких, культурно - тропических форм при создании новых генетически обогащенных семьей, линий и сортов.

В результате изучения признака длины волокна у внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. и дикого вида *G.darwinii* Watt высокий показатель, как и ожидался, был отмечен у культурных сортов «Сурхон-9» (39,0 мм), «Келажак» (35,7 мм), а вид *G.darwinii* Watt проявил болсе низкий показатель (30,5 мм). У подвида *G.hirsutum* L. subsp. *paniculatum* длина волокна составила 30,0 мм. Низкие показатели (19,4-26,0 мм) отмечены у полудиких форм, признака длины волокна в частности, самий низкий показатель (19,4 мм)-у f.*parnat* (рис.2).

У растений F_1, полученные в результате межвидовой гибридизации диких x полудиких, диких x культурно - тропических форм видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., наблюдались високие результаты по признаку длины волокна, который у реципрокных комбинаций этой группы наследовался по сверхдоминантному типу. Например, у комбинации subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) x subsp.*ruderale* f.*parnat* длина волокна составила 28,3 мм, амплитуда изменчивости 22,0-35,0 мм, коэффицент вариации - 15,3,% и признах наследовался по сверхдоминантному (hp=3,3; hp=4,0) типу.

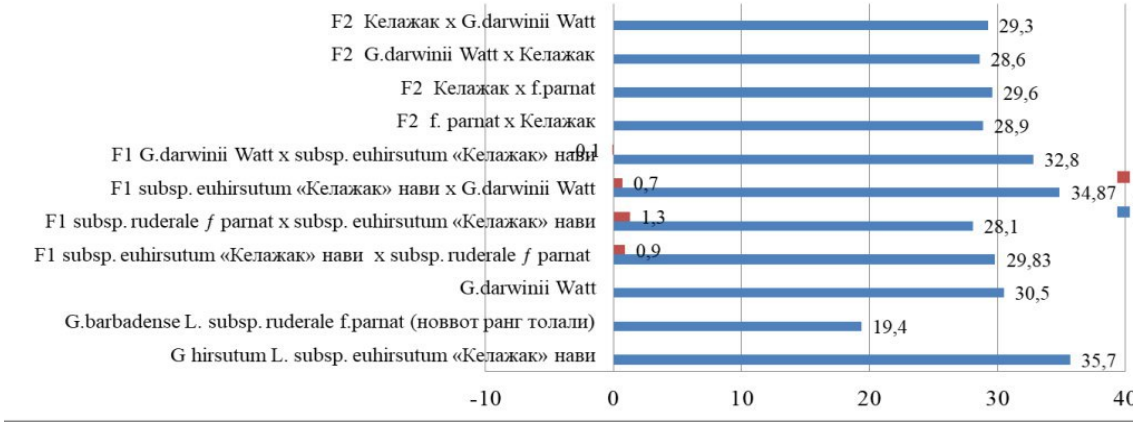


Рис.2. Наследование и изменчивость признака длины волокна у исходных форм и межвидовых F_1- F_2 растений.

У растений F_1 полученных в результате межвидовой гибридизации по схемам: полудикий х полудикий, полудикий х культурно - тропический, признак длины волокна, по сравнению с показателями родителей, наследовался по сверхдоминантному типу. Отмечено, что у комбинации F_1 subsp.*punctatum* x subsp.*vitifolium* f.*brasiliense*, относящейся к группе полудикий х культурно - тропический, длина волокна составила 32,0 мм, амплитуда изменчивости-28,0-36,0 мм и признак наледовался по типу сверхдоминирования (hp=11,9).

Был проанализирован показатель длины волокна у межвидовых F_2 растений. Показатель признака длина волокна из исходных форм у subsp.*ruderale* f.*parnat* составил 19,4 мм, а у культурного сорта «Келажак» - 35,7 мм. Установлено, что у растений F_2 показатели гетерозиса по длине волокна не только сохраняются, но и повышаются. В частности, в F_1 поколении комбинации subsp.*ruderale* f.*parnat* x Келажак средний показатель длины волокна составляет 29,8 мм, а у F_2 поколения-28,9 мм. У растений F_2 была отмечена трансгрессивная изменчивость и из 195 анализированных растений были выделены 13 формы с показателем длины волокна 32,0-33,9 мм, 8 формы с показателем длины волокна 34,0-39,9 мм. У растений F_1B_1 хотя и наблюдалось некоторое снижение среднего показателя признака длины волокна, но сохранились высокие результаты. У комбинации F_1B_1 (f.*parnat* x «Келажак») x «Келажак» сорта отмечено, что длина волокна составляет 30,0 мм, а коэффициент вариации-10,1%.

Анализ результатов проведенных исследований показал, что исходные формы имеют различный выход волокна. Отмечено, что у средневолокнистого сорта «Келажак» и тонковолокнистого сорта «Сурхон-9» показатели признака высокие и составляют 37,5-33,0 мм. У вида *G.darwinii* Watt выход волокна составил 26 %, а у формы *G.barbadense* L. subsp.*ruderale* f.*parnat* -30,2 % (рис. 3).

Наблюдалось, что у реципрокных гибридов F_1, полученных в результате скрещивания диких и полудиких внутривидовых представителей видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., выход волокна в

основном, наследовался по отрицательному и положительному промежуточному типу.

У межвидовых F_1 - растений, относящиеся к группам дикий х культурно - субтропический, полудикий х полудикий, выход волокна наследовался по полажительному и отрицательному промежуточному типу и по типу отрицательного сверхдоминирования. В частности, у прямого межвидового гибрида subsp.*punctatum* х subsp.*ruderale* f.*parnat* выход волокна составил 26,4 %, амплитуда изменчивости 24,7-28,6 %, коэффициент вариации-5,4 % и признак наследовался по типу отрицательного сверхдоминирования (hp=0,2), а у обратного гибрида subsp.*ruderale* f.*parnat* х subsp.*punctatum* по типу положительного промежуточного (hp=0,05) наследования.

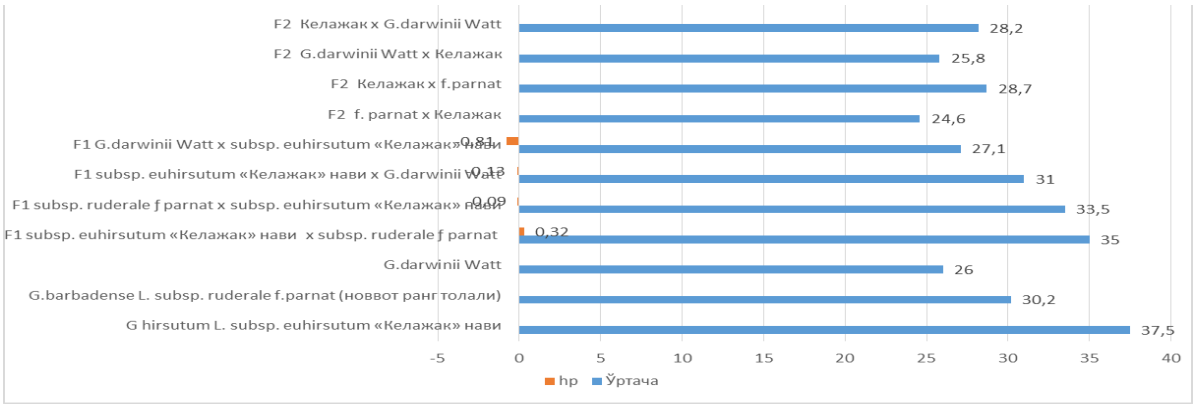


Рис.3. Наследование и изменчивость признака выхода волокна у исходных форм и межвыдовых F_1- F_2 растений.

У комбинации F_2 «Келажак» х subsp.*ruderale* f.*parnat* по сравнению с растениями F_1 наблюдалось некоторое повишение выхода волокна. Средний показатель по выходу волокна составил 28,7 %. Отмечено наличие трансгрессивной изменчивости у растений F_2 и они по показателю признака были разделены на 6 класса. Из анализированных 195 растений было выделено 14 форм с показателем выхода волокна 36,0-38,0 % и 7 форм с выходом волокна 39,0-41,0 %. У беккросс потомств этих гибридов эти показатели сохранились. Средний показатель признака выхода волокна у комбинации F_1B_1 («Келажак» х subsp.*ruderale* f.*parnat*) х «Келажак» составил 31,7 %.

На основе данных исследований выявлено, что исходные формы резко различаются по признаку веса 1000 штук семян. У культурно - субтропического сорта subsp.*euhirsutum* «Келажак» семена были крупными (121,0 г), а у форм

G.hirsutum L. subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан), *G.hirsutum* L. subsp.*paniculatum*, *G.barbadense* L. subsp.*ruderale* f.*parnat* вес 1000 штук семен был низким и составил соответетвенно, 60,5 г, 80,4 г и 92,2 г. У изученных остальных форм вес 1000 штук семен был в пределах от 102,8 г до 116,0 г.

У растений F_1, полученные в результате межвидовой гибридизации внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. по схеме культурно - тропический х полудикий, культурно - тропический х культурно - тропический, культурно - субтропический х полудикий,

культурно - субтропический х культурно - тропический, культурно - субтропический х культурно - субтропический признак, веса 1000 штук семян наследовался по типу полного доминирования и сверхдоминирования. В частности, реципрокные гибриды сортов «Келажак» и «Сурхон-9» по весу 1000 штук семян проявили более высокие показатели, по сравнению с родительскими сортами, т.е. вес 1000 штук семян составил 135,6-140,8 граммов и признак наследовался по типу сверхдоминирования (hp=6,8; hp=8,9).

У растений F_2 вес 1000 штук семян составил от 90,4 г до 95,8 г, что свидетельствует о снижении показателей признака. Например, у межвидового гибрида F_2 «Келажак» х subsp.*ruderale* f.*parnat* наблюдалось снижение среднего показателя изучаемого признака, что составила 90,4 грамма, размах изменчивости составил 6 классов, коэффицент вариации-19,2 %. По весу 1000 штук семян самый высокий процент (28,7 %) анализированных растений приходился на модальние классы со значением 90,0-99,0 грамм. У данной комбинации также наблюдалось появление гибридных растений с низким весом семян, чем у исходных форм. У растений F_2, хотя наблюдалось снижение средних показателей веса 1000 семян по сравнению с растениями F_1, среди них были выделены трансгрессивные формы с весом семян 100,0-119,0 грамм.

У растений F_1B_1, полученные в результате гибридизации полудикий формы вида *G.hirsutum* L. с *G.barbadense* L. культурно субтропичиский «Келажак» форм вес 1000 штук семян составил 90,4 грамма и установлена близость показателя признака родительским формам. У межвидовой комбинации F_1B_1 («Келажак» х subsp.*ruderale* f.*parnat*) х «Келажак» средний показатель веса 1000 штук семен снижался, размах извенчивости составил 4 класса, а коэффицент вариации-21,3 %.

Отмечено, что внутривидовые разновидности *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L., секции *Magnibracteolata*, т.е. subsp.*ruderale* f.*parnat* имеет кремовое волокно, а культурный сорт «Келажак» - белое волокна. У анализированной комбинации F_1 сорт «Келажак» х subsp.*ruderale* f.*parnat* этот признак имеет промежуточную, т.е. светло кремовую окраску. В комбинации F_2 «Келажак» х subsp.*ruderale* f.*parnat* из 195 растений 95 растений (48,7%) имеет светлокремовое, 42 растений (21,5%) - кремовое, 58 растений (29,7%) - белое волокно. У растений этой комбинации наследование по окраске волокна имело состношение 1:2:1 (x^2=1,34; 0,80>P>0,50) и выявлено, что у растений вышеотмеченной гибридной комбинации окраска волокна наследуется по неполному доминантному, моногенному типу.

У межвидовых растений F_2, полученных на основе гибридизации внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L., и вида *G.darwinii*, анализировано наследование признака требовательности к длине дня. Сорт «Келажак» *G.hirsutum* L. subsp. *euhirsutum* не требователен к длине дня, внутривидовая форма *G.barbadense* L. subsp.*ruderale* f.*parnat* и вид *G.darwinii* требователны к длине

дня и у них в условиях искусственного длинного дня (13-15 часов) первая плодовая ветвь появилась на 23 - 30 узле, а в условиях короткого дня (10 часов) - на 9 - 10 узле.

При анализе гибридной комбинации F_1, F_2 f.*parnat* x Келажак установлено, что у растений F_1 при длинном дня бутонизация, цветение, плодообразование и созревание протекают нормально, а у растений F_2 потомства в условиях длинного дня происходит широкая изменчивость. Изменчивость первой плодовой ветви (hs) выявлено от 4 - 5 до 25 и выше узлах. Из 202 растений F_2 181 были нейтральными к длине дня (hs=4-15) и 21 - требовательными к длине дня (hs=15-25 и выше). Результаты генетического анализа показали близость фактически полученных данных теоретически ожидаемым данным. Наследование признака требовательности к длине в соотношении 15:1 подтверждает литературные сведения (Н.Г.Симонгулян, С.Р.Мухамедханов, 1980; Б.Х.Аманов, 2019) об управлении под некумулятивным действием полимерных генов требовательности к фотопериоду полудикой формы f.*parnat.* Полученные данные показывают, что требовательность к короткому дню управляется 3-мя рецессивными генами-ph_1, ph_2, ph_3, а нейтральная реакция к длинному дню двулся доминантными геноми- ph_1, ph_2 и одним рецессивным ph_3 геном. При этом отмечено что x^2=0,017, p=0,80-0,50.

Отмечено, что из 35 растений комбинации F_1B_1 («Келажак» x f.*parnat*) x «Келажак» все 35 (100 %) не требовательны к длине дня и наследование признака требовательности к длине дня равняется соотношеннию 1:0.

В семенах дикого подвида subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) вида *G.hirsutum* L. количество волоконец было в два раза меньше, чем у культурного сорта и составило всего 3144 штук на семена, что обосновывается мелкостью их семян. У культурного сорта «Келажак» общее число волоконец на одном семени составило 8638 штук а доля волоконец в общем количестве эпидермалных клеток-7,8 %. Выявлено, что семена вида *G.darwinii* Watt имеют наименьшее число волоконец на 1 мм^2 и на одном семени имеются всего 2760 волоконец. Уменьшение числа волоконец происходила за счет деления эпидермальных клеток и их ускоренного роста. Потом, в результате дифференциации эпидермальных клеток и их дальнейшего обезвоживания и пигментации, число волоконец на 1мм^2 может немного расти.

В возрастной динамике количество эпидермальных клеток в семени путем митоза увеличивается до окончания клеточного деления. В процессе интенсивного роста семени из-за роста клеток объем эпидермальных клеток увеличивается и уменьшается их количество на 1 мм^2. Поэтому, чем меньше доля волоконец в общем количестве эпидермальных клеток, тем больше количество эпидермальных клеток в волоконцах.

Эпидермальные клетки на поверхности семени имеют удлиненную форму, при этом отмечено, что у внутривидовых разновидностях *G.hirsutum* L. самый меньший диаметр клетки находится в пределах 7-13 мкм, а самый большой-

19,9-61,05 мкм. В частности, если у культурного сорта «Келажак» самый меньший диаметр эпидермальных клеток составляет 7,0 мкм, самый большой диаметр отмечен у формы *G.hirsutum* L. subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) - 61,05 мкм. У внутривидовых разновидностей *G.barbadense* L. самый меньший диаметр клетки составляет в пределах 7,0-29,7 мкм, а самый большой-18,9-75,9 мкм. У культурного сорта «Сурхон-9» диаметр эпидермальных клеток является самым меньшим (7,0 мкм), а самый большой диаметр имеет полудикая форма subsp.*ruderale* f.*parnat* в пределах 75,9 мкм. У вида *G.darwinii* Watt самая меньшая еденица диаметра эпидермальных клеток составляет 23,1 мкм, а самая большая-59,4 мкм.

Таким образом, анализ результатов полученных данных раскрыл разницу количественних показателей, свойственних каждой форме, доля волоконец на поверхности семени зависит не только от величины семени, числа и объема эпидермальных клеток, но и от количества клеток, окружающих каждого волокна.

В наших исследованиях изучались характер и степень опушения несозревших семен. У внутривидовых разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., вида *G.darwinii* Watt, окределены эпидермальные клетки и с увеличением возроста семян, при интенсивном росте клеток путем растлежения количество волоконец уменьшается в эпидермальных клетках. волокна (волоконцы) и их показатели (длина, диаметр средней части и основания). Сравнение данных показало на наличие некоторых различий, свойственных каждому подвиду. Крупно клеточная эпидерма и минимальное число волоконец на 1 мм^2 на всей поверхности семени наблюдалось у полудиких и культурно - тропический форм subsp.*punctatum* и subsp.*paniculatum*. Их волокна более короткое и утолщенное, что особенно проявилось в диаметре основания на эпидермальной поверхности расположены множество клеток, волоконец окружают 7-8 клеток и этот показатель у subsp.*punctatum* и subsp.*paniculatum* соответственно составляет 11,9 шт. и 12,4 шт. Семена subsp.*paniculatum*, по сравнению с другими формами, мелкоклеточные, имеют тонкое и длинное волокно и самое большое количество волоконец на 1 мм^2 и всей новерхности семяни.

Надо подчерхнуть, что по сравнению с культурними сортами, формы subsp.*punctatum* и subsp.*paniculatum* по всем показателям близки друг к другу. У подвидов subsp.*punctatum* и subsp.*paniculatum* волоконцы в 1 мм^2 в два раза меньше, чем у изученных сортов, что можно объяснить мелкостью их семян и количеством волоконец в одном семени, которое составило соответственно 6402,3 шт. и 5967,5 штук.

По числу волоконец на 1 мм^2 самое минимальное их количество проходится к полудикой форме subsp.*ruderale* f.*parnat* (18,9 шт), а на одного семени-2540,6 штук волоконец. У сорта «Сурхон-9» *G.barbadense* L. число волоконец на 1 мм^2 равно 45,1 шт., а число волоконец на новерхности семени -7422,9 штук. Доля клеток волокна по отношению к общему числу эпидермальных клеток была

низкой по сравнению с сортом вида *G.hirsutum* L и у сорта Сурхон-9 составила 97,2 %.

В результате проведенных исследований разработана схема, определяющая степень межвидовых филогенетических отношенний внутривидовых полудиких, культурно - тропических и культурно - субтропических форм и дикого вида *G.darwinii* Watt секции *Magnibracteolata.*

Заключение

В результате межвидовой гибридизации выявлена фенотипическая близость вида *G.darwinii* к рудеральными и субтропическим формам видов *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L., отдаленность от дикой формы subsp.*mexicanum* var.*nervosum* (Юкатан) и направленность его эвалюции в сторону культурных видов. Высокие показатели жизнеспособности пыльцевых зерен у гибридов F_1-F_2 свидетельствуют о филогенетической близости изучаемых внутривидовых разновидностей и видов. Выявлено, что у межвидовых гибридов F_1 признак требовательности к длине дня в основном, наследуется по доминантному типу, а у гибридов F_2 - под некумулятивним влиянием полимерных генов. Наследование данного признака в соотношении 15:1 указывает, что у полудикой формы f.*parnat* и дикого вида *G.darwinii* Watt, требовательность к длине дня контролируется рецессивными генами а у культурного сорта «Келажак»- доминантными генами. Признак окраски волокна у растений F_1 наследовался по типу неполного доминирования отцовской или материнской формы. У растений F_2 расщепление окраски волокна в фенотипическом соотношении 1:2:1 (1 часть - кремовое, 2 части - светло кремовое, 1- часть с белым волокном) указывает на моногенное наследование прзнака под неполным доминированием родительской формы. Установлено, что исходные формы различаются по показателям изученных признаков, доля количества волоконец на новерхности семени зависит не только от объема семени, количества и величины эпидермальных клеток, но и числа клеток, окружающих каждого волоконца. У растений F_2, F_1B_1, наблюдалась положительная трансгрессия по таким хозяйственно-ценным признакам, как вес хлопка - сырца в одной коробочке, длина и выход волокна. Создана схема, окределяющая степень филогенетических отношений внутиривидовых разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. и вида *G.darwinii* Watt, облегчающая отбор первичного материала, служащая повышению эффективности и ускорению генетических и селекционных исследований, позволяющая получить уникальных рекомбинантных форм по хозяйственно - ценным признакам.

Список литературы

1. Абдуллаев А.А. Эволюция и систематика полиплоидных видов хлопчатника. - Ташкент: Фан, 1974. - С. 5-80.

2. Абдуллаев А.А., Клят В.П. К номенклатуре рода *Gossypium* L. // Узбекский биологический журнал. - Ташкент, 2006. - № 6. - С. 36-42.

3. Аманов Б.Х. Перу ғўза турларининг генетик хилма-

хилликлари ва морфо-хўжалик белгиларининг ирсийланиши.// Б.ф.н. Тошкент. 2010.-Б. 11-12.

4. Власова Н.А. Строение семенной кожуры у разных видов хлопчатника.// В кн.: Хлопчатник. Ташкент: Фан, 1960, т. 3, С. 20-37.

5. Грабовец Н.В. Характеристика анатомо-морфологических показателей формирования семенной кожуры диплоидных и тетраплоидных представителей рода *Gossypium* L.// д.б.н.... дисс. автореф. (PhD). Тошкент. 2017.-Б. 12-15.

6. Джаникулов Ф. Связь между радиочувствительностью и мутабильностью диких и культурно-тропических видов хлопчатника.// Доклады РАН. - Москва. 2002. - №2. - С. 19-22.

7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. // Москва. 1985. - С. 3-242.

8. Кушанов Ф.Н. Ғўзада фотопериодик гуллашни бошқарувчи локус ва генларни QTL карталаштириш. Автореф. дис.... док. биол. наук. (DSc). Тошкент. 2017. - С. 17-21.

9. Лемешов Н., Атланов А., Подольная Л., Корнейчук В. Широкий унифицированный классификатор СЭВ рода *Gossypium* L.// Ленинград. 1989. - С. 5-20.

10. Муминов Х.А. Наследование некоторых хозяйственно-ценных признаков у внутривидовых разновидностей хлопчатника и полученных на их основе F_1-растений. // International scientific journal "Modern biology and Genetics" 2022 №1-2. С. 71-77.

11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений.// Москва: Колос, 1988. - 287 с.

12. Рафиева Ф.У. *G.mustelinum* Miers ex Watt. турининг бошқа полиплоид турлар билан филогенетик келиб чиқишини ўрганиш асосида янги донорлар олиш. Б.ф.д.... дисс. автореф. (PhD). Тошкент. 2017.-Б. 12-15.

13. Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У. Цитогенетический анализ анеуплоидных гибридов с замещениями отдельных хромосом или их плеч у хлопчатника вида *G.hirsutum* L. // Вестник НУУз. - 2019. - №3/2. - С. 158-164.

14. Чоршанбиев Н., Шавкиев Ж., Набиев С., Азимов А., Буриева С., Пардаев Э. Гетерозис и комбинационная способность по урожайности хлопка (G.barbadense L) в Узбекистане. // International scientific journal "Modern biology and Genetics" 2022 №1-2 ISSN: 2181-3396. С. 56-63.

15. Эрназарова Д.К. Внутри- и межвидовое филогенетическое родство разновидностей *G.hirsutum* L. и *G.tricuspidatum* Lam. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Ташкент. 2008. - С. 7-10.

16. Beil G.E., Atkins R.E. Inheritance of quantitave characters sorgum.// Jow State Journal of Science. 1965. - № 3. - P.35-37.

17. DeJodie D.R., Wendel J.F. Genetic diversity and origin of the Hawaiian islands cotton *G.tomentosum.*// Journal Botany. - New York. 1992. - №79. - P. 1311-1319.

18. Endrizzi J.E., Turcotte E.L., Kohel R.J. Genetics, cytology, and evolution of *Gossypium* L.// Journal Advances in Genetics.- Melbourne. 1985. - №23. - P. 272-375.

19. Fryxell P.A. A revised taxonomic interpretation of *Gossypium* L.

(Malvaceae) // Rheeda - Washington, 1992. - № 2. - P. 108-165.

20. Endrizzi J.E., Turcotte E.L., Kohel R.J. Qualitative genetics, cytology and cytogenetic.// Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. 1994. - P. 82-129.

21. Wendel, J.F., Cronn R.C. Polyploidy and the evolutionary history of cotton. // Ad.Agron., 2003.- №.- P. 139-186.

УДК: 633.511.576.312.3

Цитогенетический анализ анеуплоидных беккроссных гибридов F_1BC_1, полученных от скрещиваний моносомных и монотелодисомных линий хлопчатника (*G.hirsutum* L. × *G.barbadense* L.) × *G.hirsutum* L.

М.Ф.Санамьян[1], Ш.У. Бобохужаев[1], О.Г. Силкова[2]

[1]Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан

[2]Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация

*Соответствующий автор email: *sanam_marina@rambler.ru*

Адреса электронной почты соавторов: bobohujayev@mail.ru, silkova@bionet.nsc.ru

Аннотация. *Известны трудности переноса генов, ответственных за улучшение качества волокна от вида G.barbadense* L. *в геном вида G.hirsutum* L. *с помощью межвидовой гибридизации. Ранее выявленовлияние замещения определенных хромосом вида G.barbadense* L. *на удлинение волокна, урожайность волокна, микронейр и другие свойства у линий вида G.hirsutum* L. *Создание новых линий с замещением хромосом является актуальным и необходимым. Однако особенности поведения хромосом у межвидовых анеуплоидных гибридов хлопчатника мало изучены. Целью данной статьи является изучение поведения хромосом в микроспорогенезе и анализ фертильности пыльцыу беккроссов растений F_1BC_1(моносомики G.hirsutum* L. **×** *линия Pima 3-79 G.barbadense)×моносомики G.hirsutum* L. *Анализ коньюгации хромосом у моносомиков F_1BC_1 в 15 вариантах скрещиваний с замещением хромосомы* ***2***, ***4, 6, 7, 12*** *A_t-субгенома и* ***17***, ***18, 21 и 22*** *D_t-субгенома обнаружили нормальную конъюгацию хромосом, за исключением, неполной коньюгации хромосом в одной комбинации скрещиваний (F_1BC_1(Mo75x$F_1$104$_2$)) и присутствия квадривалента в другой (F_1BC_1(Mo17x$F_1$685$_7$)), а также высокий мейотический индекс и невысокий проценттетрад с микроядрами, что свидетельствовало о регулярности мейотического деления. Однако снижение фертильности пыльцы у некоторых межвидовых анеуплоидных гибридов F_1BC_1 указало на скрытую структурную изменчивость, не регистрируемую на стадии метафаза I мейоза.*

Ключевые слова: хлопчатник, *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L., беккроссные гибриды, замещения, конъюгация хромосом, спорады, фертильность пыльцы

Cytogenetic analysis of aneuploid F_1BC_1 backcross hybrids obtained from crossings of monosomic and monotelodisome cotton lines (*G.hirsutum* L. × *G.barbadense* L.) × *G.hirsutum* L.

M.F. Sanamyan[1], Sh.U. Bobokhujayev[1], O.G. Silkova[2]

1. National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek*, Tashkent, Uzbekistan*

2. Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

**Corresponding author email:* sanam_marina@rambler.ru

E-mail addresses of co-authors: bobohujayev@mail.ru, silkova@bionet.nsc.ru

Annotation. The difficulties of transferring the genes responsible for improving fiber quality from the *G.barbadense* L. species to the *G.hirsutum* L. genome using

interspecific hybridization are shown. Previously, the influence of certain chromosomes of the species *G.barbadense* L. on fiber elongation, fiber yield, microneur and other properties in chromosome-substituted lines of the species *G.hirsutum* L. was revealed. The aim of the article is the cytogenetic analysis ofF_1BC_1 hybrid plants using the analysis of chromosome, spores and pollen fertility.Analysis of chromosome pairing in F_1BC_1 hybrid backcross monosomics in 15 variants of crossings with substitution of chromosomes **2, 4, 6, 7, 12** of the At-subgenome and **17, 18, 21**, and **22** of the Dt-subgenome revealed normal chromosome pairing, with the exception of incomplete chromosome pairing in one combination (F_1BC_1(Mo75x$F_1$104$_2$)) and the presence of a quadrivalent in another (F_1BC_1(Mo17x$F_1$685$_7$)). as well as a high meiotic index and a small number of tetrads with micronuclei, which indicated the regularity of meiotic division. However, a decrease in pollen fertility in some interspecies aneuploid F_1BC_1 hybrids indicated a latent structural variability that was not recorded at the metaphase I stage of meiosis.

Key words: cotton, *G. hirsutum* L. *G. barbadense* L., backcross hybrids, substitutions, chromosome pairing, sporades, pollen fertility.

Введение

Тетраплоидный хлопчатник вида *G.barbadense* L. обладает такими свойствами волокна, которые значительно превышают наиболее широко культивируемые сорта другого вида тетраплоидного хлопчатника *G.hirsutum* L. Однако попытки перенести гены, ответственные за улучшенные качества волокна, такие как длина, крепость и тонина волокна от вида *G.barbadense* L. в геном вида G.hirsutum L. методами обычной межвидовой гибридизации затруднены из-за стерильности, нарушений при расщеплении и ограниченной рекомбинации.

Поэтому в США были начаты исследования по созданию у вида хлопчатника G.hirsutum L. линий с чужеродным замещением хромосом от линии Pima 3-79 вида *G.barbadense* (**CS-B)** (chromosome substitution *G.barbadense*), которая является генетическим стандартом для этого вида хлопчатника в США [20]. Для получения таких линий использовались различные моносомные и монотелодисомные линии хлопчатника, несмотря на то, что у хлопчатника *G.hirsutum* L. до настоящего времени не получены полные серии таких линий [9, 19, 15]. Исследование линий с замещениями отдельных хромосомвида *G. hirsutum* L. хромосомами вида *G.barbadense* L. выявиловлияние определенных хромосом (**CS-B02, CS-B04, CS-B16, CS-B17, CS-B22Lo, CS-B22sh, CS-B25**) на удлинение волокна, урожайность волокна, микронейр и другие свойства в сравнении с исходными линиями [13, 14].

Однако молекулярный анализу ранее полученных линий хлопчатника*G. hirsutum* L. с замещением хромосом *G.barbadense*с помощью хромосомо специфичных SSR-маркеров показал, что у части линий маркеры не подтвердили замещения хромосом согласно результатам цитологических анализов. Отсутствие подтверждения генетической идентичности всех линий происходило, по мнению авторов, из-за небольшого числа

хромосомоспецифичных молекулярных маркеров, доступных во время создания этих линий [16]. Все вышесказанное требует создания новых линий с замещениями по этим хромосомам. Поэтому, получение новых анеуплоидных линий хлопчатника и создание на их основе новых линий с замещением хромосом является актуальным и необходимым.

Использование различных видов облучения позволило создать в Национальном университете Узбекистана новую цитогенетическую коллекцию растений хлопчатника с различными аберрациями отдельных хромосом, включая моносомные и монотелодисомные линии [17]. Использование *транслокационных тестерных линий с идентификацией индивидуальных хромосом, полученными от проф. Техасского университета D. Stelly по программе USDA-ARS,* позволило провести цитологическую *идентификациюпяти негомологичных хромосом (**2**, **4**, **6**, **7**, **12**) и отдельных плечейдвух хромосом (**6** и **11**)*A_t*-субгенома, а также четырех хромосом (**17**, **18**, **21**, **22**)* D_t*-субгенома хлопчатникау моносомных линий нашей коллекции [4].* Создание этих линий сопровождалось молекулярно-генетическими анализами с помощью хромосома специфичных микросателлитных маркеров (SSR) [3]. Идентифицированные линии с моносомией по отдельным хромосомам или их плечам используются нами в качестве инструментов для передачи хромосом или их сегментов от вида *G. Barbadense* L. растениям вида G.*hirsutum* L.В процессе создания новых интрогрессивных форм проводится анализ поведения хромосом в мейозе и беккроссирование исходных моносомных линий беккроссными гибридными анеуплоидными формами.

Целью данной работы является анализ поведения хромосом на стадиях метафаза I и телофаза II, а также фертильности пыльцы у гибридных беккроссных растений F_1BC_1.

Материалы и методы исследования

Моносомные и монотелодисомные линии цитогенетической коллекции хлопчатника Узбекистана были созданы в единой генотипической среде высоко-инбредной линии Л-458, полученной в результате многолетнего самоопыления (F_{20}) на основе сорта 108-Ф. Для создания коллекции использовались различные методы облучения семян и пыльцы, а также потомство растений с транслокациями и десинапсисом [5].

Для получения анеуплоидных гибридов F_1BC_1, исходные моносомные линии бэккроссировали моносомными и монотелодисомными гибридами F_1, полученными от скрещиваний моносомиков хлопчатника *G.hirsutum* L. с линией Pima 3-79 хлопчатника *G.barbadense*. Цитологически изучались гибридные семьи F_1BC_1, полученные от скрещиваний 15 моносомных (Мо) и двух монотелодисомных (Тело) линий вида *G.hirsutum* L. с межвидовыми анеуплоидными гибридами F_1 (Мо x Pima 3-79).

Поведение хромосом изучалось в материнских клетках пыльцы (МКП) на стадии метафазаI (MI) и телофаза II. Для этого проводилась фиксация 2-3 мм бутонов в этилово-уксусной смеси

(7:3). Затем МКП пыльцы окрашивали железо-ацетокармином. На временных давленых препаратах на стадии метафазы первого деления учитывали характер конъюгации хромосом. Для анализа телофазы II брали по три бутона от каждого растения и подсчитывали процент нормальных тетрад от их общего количества.

Для анализа фертильности пыльцы утром в день цветения собирали раскрывшиеся цветки, готовили временные ацетокарминовые препараты, которые укладывали в чашки Петри и оставляли в холодильнике на сутки с целью лучшего прокрашивания пыльцевых зерен. Затем анализировали по 10 полей зрения с каждого цветка.

Все цитологические наблюдения проводили с помощью микроскопов ''Laboval'', ''AxioScopeA1'' (CarlZeiss, Германия) и ''Biomed'' (Leica, Швейцария) при увеличении объективов 10^x, 100^x, бинокулярной насадки $1,6^x$ и GF 12,5 x 120 и окуляра 10^x. Микрофотографирование выполнялось с использованием цифровой фотокамеры Mikroskopkamera AxioCamERc5s. При экспонировании использовался зеленый светофильтр 3C-11-3. Фотографирование растений и их частей проводилось с помощью цифровой фотокамеры CanonA-610.

Статистическая обработка полученных данных проводилась путем определения ошибки выборочной средней по формуле [2].

Результаты исследования и обсуждение

Как известно, сорта тетраплоидного вида хлопчатника *G. barbadense* L. [2n=52,геномная формула 2 $(AD)_2$], имеют исключительно хорошее качество волокна, но, как правило, более низкую урожайность. Селекционеры давно стремились к объединению лучших признаков двух культивируемых видов (*G. hirsutum* и *G. barbadense*), но имели ограниченный успех. Известно, что эти виды легко скрещиваются и гибриды F_1в значительной степени фертильны. Однако ограниченный успех такой гибридизации был обусловлен сложными взаимодействиями, а также геномной несовместимостью между этими двумя видами. Действительно, межвидовые скрещивания и интрогрессия у хлопчатника влекут за собой такие трудности, как бесплодие, цитологические нарушения и аномальная сегрегация [12]. Поэтому изучение мейотического поведения хромосом у первого беккроссного поколения межвидовых гибридов представляло большой интерес.

В результате проведенного исследования выяснилось, что моносомные гибриды F_1BC_1, с замещением отдельных хромосом, были обнаружены в 15 гибридных беккроссных вариантах, поскольку в четырех вариантах (с участием моносомных линий Mo93, Mo7, Mo67, Mo95) гибриды с нужной моносомией обнаружить не удалось. Это произошло, по-видимому, из-за низкой частоты передачи через гаметы унивалентной хромосомы, поскольку известно, что данные моносомные линии также характеризовались невысокой воспроизводимостью моносомного состояния в потомстве (37,5; 26,32; 9,38 и 9,09%), соответственно [5]. Кроме того, сниженная скрещиваемость моносомиков и небольшое число гибридных растений в семьях также

повлияли на низкий процент растений F_1BC_1с данными хромосомами (Табл. 1).

Так, в семи гибридных вариантах F_1BC_1 (с участием линий Mo16, Mo31, Mo58, Mo59, Mo92, Mo56, Mo42) было выявлено по одному гибридному растению с моносомией, тогда как в семи гибридных комбинациях F_1BC_1 (с участием линий Mo38, Mo60, Mo75, Mo34, Mo27, Mo94, Mo17) было обнаружено по два гибридных растения с моносомией, а в одной семье (с участием Mo48) – три, наряду с изученными дисомными гибридами (Табл. 1).

В двух гибридных семьях - F_1BC_1 (Telo12xF_1542_8) и F_1BC_1 (Telo21xF_1100_1), полученных от скрещиваний двух монотелодисомных линий вида *G.hirsutum* L. с межвидовыми монотелодисомными гибридами F_1(ТелоxPima 3-79) было обнаружено по три и два растения с замещением отдельных плечей хромосом, соответственно, наряду с дисомными растениями (Табл. 1).

Таблица 1.

Анализ беккроссных гибридных потомств F_1BC_1, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с моносомными гибридами F_1(Mo x Pima 3-79)

Хромосома	Вариант скрещивания	Общее число гибридных растений в семье	Число изученн ыхгибри дныхрас тений	Число дисом иков (2n=5 2)	Число моносом иков (2n=51)	Число монотело дисомико в (2n=51+I^t)
2	F_1BC_1(Mo16xF_1986)					
	507 n	2	2	2	-	-
	922 n	8	1	-	-	-
	923 n	8	2	1	1	-
4	F_1BC_1(Mo31xF_17701)					
	924 n	6	1	-	1	-
	F_1BC_1(Mo38xF_16901)					
	294 n	5	5	5	-	-
	925 n	11	2	-	2	-
	F_1BC_1(Mo58xF_15303)					
	115 n	4	2	1	1	-
	116 n	6	3	3	-	-
	F_1BC_1(Mo59xF_15318)					
	1041 n	7	7	6	1	-
	F_1BC_1(Mo60xF_16945)					
	117 n	6	4	2	2	-
	118 n	5	1	1	-	-
	119 n	5	2	2	-	-

	120 n	1	1	1	-	-
	F_1BC_1(Mo75x$F_1$1042)					
	298 n	8	5	3	2	-
6	F_1BC_1(Mo34x$F_1$6889)					
	293 n	8	4	2	2	-
	F_1BC_1(Mo92x$F_1$5395)					
	1040n	3	3	2	1	-
7	F_1BC_1(Mo27x$F_1$6874)					
	111 n	8	3	1	2	-
12	F_1BC_1(Mo94x$F_1$81)					
	299 n	7	3	1	2	-
	300 n	2	1	1	-	-
17	F_1BC_1(Mo56x$F_1$417)					
	512 n	6	5	5	-	-
	513 n	8	6	5	1	-
18	F_1BC_1(Mo48x$F_1$5216)					
	113 n	14	6	5	1	-
	114 n	20	6	4	2	-
21	F_1BC_1(Mo42x$F_1$5281)					
	781 n	1	-	-	-	-
	782 n	4	2	1	1	-
22	F_1BC_1(Mo17x$F_1$6857)					
	109 n	2	2	2	-	-
	110 n	3	3	1	2	-
telo 6	F_1BC_1(Telo12x$F_1$5428)					
	561 n	19	11	8	-	3
telo 11	F_1BC_1(Mo21x$F_1$1001)					
	291 n	2	1	-	-	1
	292 n	1	1	-	-	1

Известно, что существуют влияние хромосом генома хлопчатника на жизнеспособность анеуплоидных гамет [7]. Ранее отмечалось, что передача унивалентных хромосом у моносомиков хлопчатника происходит в основном через яйцеклетки, а низкая частота воспроизводства такого состояния указывает на низкую жизнеспособность гамет с гапло-нехваткой [9]. Обычно ранние поколения гибридов показывают низкие частоты передачи, тогда как с отбором происходит увеличение частот воспроизводства, где немалую роль играет генотипическая среда. Данные, представленные в этой статье

показывают, что темп воспроизводства гапло-нехваток у моносомных гибридов хлопчатника зависит, как от специфичности унивалентной хромосомы, так и от числа растений в гибридном потомстве, чем больше растений в семье, тем выше вероятность воспроизводства моносомного состояния.

Сравнительный анализ коньюгации хромосом, проведенный на стадии метафаза I мейоза у гибридных

моносомиков F_1BC_1 с замещением отдельных хромосом, полученных от скрещиваний 15 моносомных линий с

межвидовыми моносомными гибридами F_1 (MoxPima 3-79)с замещением по хромосомам **2**, **4**, **6**, **7, 12** A_t-субгенома и **17**, **18, 21 и 22** D_t-субгенома обнаружил нормальную для тетраплоидного хлопчатника модальную коньюгацию хромосом с формированием 25 бивалентов и одного унивалента разного размера во всех изученных МКП в 13 гибридных комбинациях (Табл. 2). Это свидетельствовало об отсутствии формирования дополнительных унивалентов и могло служить гарантией отсутствия смены унивалента у протестированных моносомиков в следующем беккроссном поколении. Однако, у одного моносомного гибридного растения (298_2) в варианте F_1BC_1(Mo75xF_1104_2) в отдельных клетках наблюдались от одного до трех открытых бивалентов (0,33±0,25 в среднем на клетку), наряду с нормальными закрытыми бивалентами (24,67±0,25 в среднем на клетку), что указало на неполную коньюгацию гомологичных хромосом вследствие гибридности. У другого моносомного гибридного растения F_1BC_1 (110_3) из варианта F_1BC_1(Mo17xF_1685_7) формировался один квадривалент в различных МКП (0,38±0,17 в среднем на клетку).

Таблица 2.

Конъюгация хромосом на стадии метафаза I мейоза у моносомных гибридов F_1BC_1, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с моносомными гибридами F_1(Mo x Pima 3-79)

Хромосома	Вариант скрещивания	Номер гибридного моносомика	Число изученных МКП	Размер унивалентов	Среднее число на клетку	
					унивалентов	бивалентов
	Л-458	-	11	0	0	26,00±0,00
	Pima 3-79	-	12	0	0	26,00±0,00
	F_1 (Л-458xPima 3-79)	680	10	0	0	26,00±0,00
2	F_1BC_1(Mo16x$F_1$986)	923_8	5	Крупный	1,00±0,00	25,00±0,00
4	F_1BC_1(Mo31x$F_1$770$_2$)	924_1	9	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
	F_1BC_1(Mo38x$F_1$690$_{11}$)	925_4	11	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
		925_7	6	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
	F_1BC_1(Mo58x$F_1$530$_3$)	115_1	21	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
	F_1BC_1(Mo59x$F_1$531$_8$)	1041_4	24	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
	F_1BC_1(Mo60x$F_1$694$_5$)	117_4	14	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
		117_5	28	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
	F_1BC_1(Mo75x$F_1$104$_2$)	298_2	20	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
		298_3	6	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
6	F_1BC_1(Mo34x$F_1$688$_9$)	293_3	4	Крупный	1,00±0,00	25,00±0,00
		293_7	4	Крупный	1,00±0,00	25,00±0,00
	F_1BC_1(Mo92x$F_1$539$_5$)	1040_2	11	Крупный	1,00±0,00	25,00±0,00
7	F_1BC_1(Mo27x$F_1$687$_4$)	111_2	24	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
		111_5	14	Средний	1,00±0,00	25,00±0,00
12	F_1BC_1(Mo94x$F_1$8$_1$)	299_1	12	Крупный	1,00±0,00	25,00±0,00
		299_2	9	Крупный	1,00±0,00	25,00±0,00
17	F_1BC_1(Mo56x$F_1$4$_1$7)	513_8	6	Средне-мелкий	1,00±0,00	25,00±0,00
18	F_1BC_1(Mo48x$F_1$529$_{16}$)	113_{16}	5	Мелкий	1,00±0,00	25,00±0,00
		114_1	36	Мелкий	1,00±0,00	25,00±0,00
		114_{20}	10	Мелкий	1,00±0,00	25,00±0,00
21	F_1BC_1(Mo42x$F_1$528$_1$)	782_1	5	Средне-мелкий	1,00±0,00	25,00±0,00
22	F_1BC_1(Mo17x$F_1$685$_7$)	110_1	7	Средне-мелкий	1,00±0,00	25,00±0,00
		110_3	8	Средне-мелкий	1,00±0,00	24,25±0,35**

telo 6	F_1BC_1(Telo12x F_1542_8)	561_{15}	21	0	0	26,00±0,00*
		561_{17}	18	0	0	26,00±0,00*
telo 11	F_1BC_1(Mo21x F_1100_1)	291_1	17	0	0	26,00±0,00*
		292_1	12	0	0	26,00±0,00*

Примечание:*– 25 нормальных (закрытых) бивалентов и один гетероморфный (открытый) бивалент. – одна квадривалентная ассоциация (0,38±0,17 в среднем на клетку).

Изучение коньюгации хромосом в комбинациях с двумя монотелодисомными линиями - (F_1BC_1(Тело12xF_1548_2)) и (F_1BC_1(Тело21x100_1)) обнаружило по два монотелодисомных гибрида в каждой комбинации скрещиваний с замещением одного из плечей хромосомы **6** и **11**, (соответственно) (Табл. 2), которые характеризовались присутствием гетероморфных бивалентов.

Известно, что унивалентные хромосомы у трех моносомиков хлопчатника (Моно **12**, Моно **22** и Моно **25**) американской цитогенетической коллекции значительно чаще остальных хромосом претерпевали misdivision [8, 9], что указывало на их нестабильность. Генотипическая среда также оказывает сильное влияние на этот процесс, поскольку у пшеницы хромосома **5A** чаще претерпевала misdivision в генотипической среде сорта Чайниз Спринг (39,7%), так как этот сорт наиболее благоприятен для этого [18].

Анализ размеров унивалентных хромосом у моносомников F_1BC_1 с замещениями отдельных хромосом обнаружил средний размер унивалентов у всех гибридных моносомных растений с замещением по хромосоме **4** и **7**, соответственно, в семи гибридных вариантах (F_1BC_1(Mo31xF_1770_2), F_1BC_1(Mo38xF_1690_{11}), F_1BC_1(Mo58xF_1530_3)(Рис.1а), F_1BC_1(Mo59xF_1531_8), F_1BC_1(Mo60xF_1694_5)(Рис. 1б), F_1BC_1(Mo75xF_1104_2)), F_1BC_1(Mo27xF_1687_4)) (Рис. 1г). Моносомики в четырех вариантах скрещиваний с замещением по хромосоме **2** (F_1BC_1 (Mo16xF_198_6), по хромосоме **6** (**F_1BC_1** (Mo34xF_1688_9), F_1BC_1 (Mo92xF_1539_5))(Рис. 1в) и по хромосоме **12** (F_1BC_1 (Mo94xF_18_1) (Рис. 1д) характеризовались крупным размером унивалентов, что подтвердило A_t–субгеномную принадлежность вышеперечисленных унивалентов и отсутствие смены унивалентов. Изучение размера унивалентов у растений в трех вариантах скрещиваний(F_1BC_1 (Mo56xF_14_{17}), (F_1BC_1 (Mo42xF_1528_1) и (F_1BC_1 (Mo17xF_1685_7)) с замещением хромосом **17**, **21** и **22** обнаружило средне-мелкий размер унивалентов, а в одном варианте скрещиваний (F_1BC_1(Mo48xF_1529_{16}) с замещением по хромосоме **18** обнаружило мелкий размер унивалентов, что подтвердило D_t–субгеномную принадлежность вышеуказанных унивалентов (Рис. 1е). Последнее могло бы привести к получению в дальнейшем замещенных линий не по тем хромосомам, по которым имелись нехватки у исходных линий с моносомией.

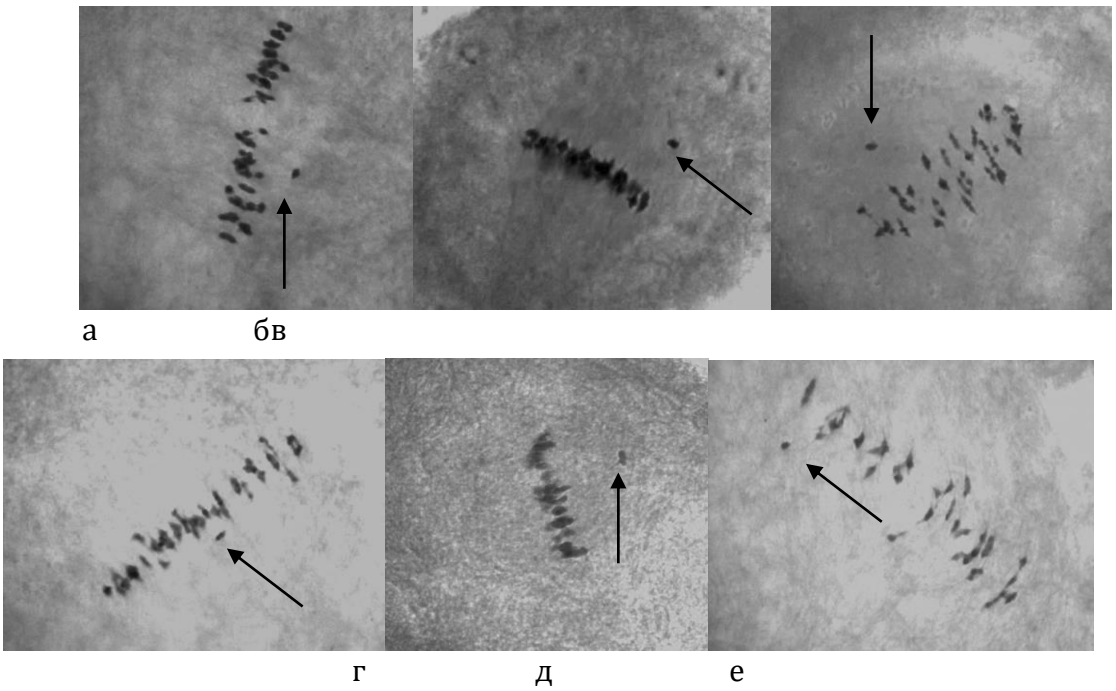


Рис. 1. Конфигурации хромосом в метафазе I мейоза в МКП у гибридных растений F_1BC_1, полученных от скрещиваний моносомных линий с межвидовыми моносомными гибридами F_1: а) F_1BC_1(Mo58xF_1530_3) (115_1); б) F_1BC_1(Mo60xF_1694_5) (117_5)(25^{II}+1^{I}) с замещением хромосомы **4**; в) F_1BC_1(Mo92xF_1539_5) (1040_2)(25^{II} +1^{I}) с замещением хромосомы **6;** г) F_1BC_1(Mo27xF_1687_4) (111_5) (25^{II} +1^{I})с замещением хромосомы **7**; д) F_1BC_1(Mo94xF_18_3) (299_1) (25^{II}+1^{I}) с замещением хромосомы **12**; е) F_1BC_1(Mo48xF_1529_{16}) (114_1) (25^{II} +1^{I}) с замещением хромосомы **18**. (Стрелкой указаны униваленты).

Стадия телофаза II была изучена в большинстве моносомных гибридных семьях. Как известно, процент нормальных тетрад (без микроядер и других нарушений), Р.Лав [11] предложил использовать в качестве критерия оценки нормального хода мейоза и назвал его мейотическим индексом. По его мнению, мейотический индекс, равный 90–100% указывает на цитологическую стабильность изучаемого материала, тогда как при значениях ниже 90% могут возникать затруднения при осуществлении селекционных программ, поскольку такое снижение обусловлено присутствием каких-либо нарушений мейоза в изучаемом материале.

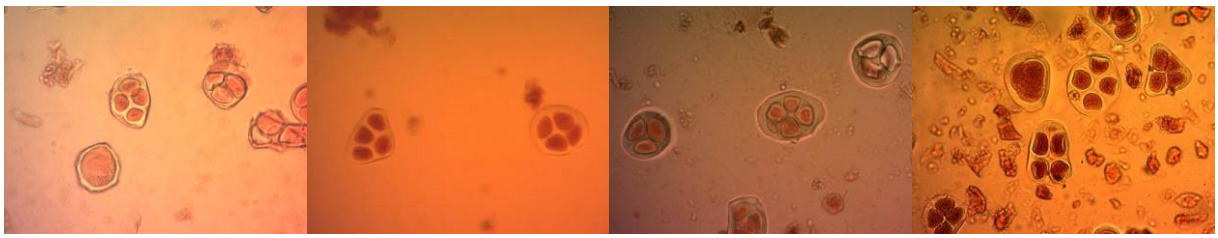
Анализ стадии телофаза II, проведенный у моносомиковF$_1$BC$_1$, с замещениями отдельных хромосом, обнаружил высокий мейотический индекс (от 89,89±1,17 до 98,99±0,20) и небольшое число тетрадс микроядрами (от 0,05±0,03 до 2,30±0,40%), как у моносомиков из разных гибридных семей, так и у моносомиков внутри различных семей (Табл. 3).

Таблица 3. [Table 3.]

Анализ спорад у гибридов F_1BC_1, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с анеуплоидными гибридами F_1(Mo x Pima 3-79)

Присутствие небольшого числа микроядер в тетрадах косвенно указало на незначительные нарушения при расхождении унивалентных хромосом у моносомных гибридов с замещениями отдельных хромосом и формировании сбалансированных по числу хромосом гамет (Рис. 2, 3).

Хромосомы	Вариант скрещивания	Номер гибрид ногоан еуплои да	Обще ечисл оспор ад	Мейотичес кий индекс, %	% тетрад с микро-ядрами
	Л-458	-	1121	99,38±0,24	0,00±0,00
	Pima 3-79	-	1130	98,58±0,35	0,27±0,15
	F_1Л-458 x Pima 3-79	680	2535	98,62±0,23	0,04±0,04
2	F_1BC_1(Mo16x$F_1$98$_6$)	923$_8$	1371	94,38±0,62	1,17±0,29
4	F_1BC_1(Mo31x$F_1$770$_2$)	924$_1$	717	94,14±0,88	1,67±0,48
	F_1BC_1(Mo38x$F_1$690$_{11}$)	925$_4$	912	94,19±0,77	1,75±0,43
		925$_7$	1385	96,90±0,47	0,87±0,25
	F_1BC_1(Mo58x$F_1$530$_3$)	115$_1$	5534	95,61±0,28	0,11±0,04
	F_1BC_1(Mo59x $F_1$531$_8$)	1041$_4$	2485	98,99±0,20	0,12±0,07
	F_1BC_1(Mo60x$F_1$694$_5$)	117$_4$	2715	92,90±2,66	0,44±0,19
		117$_5$	1703	95,71±0,49	1,17±0,26-
	F_1BC_1(Mo75x $F_1$104$_2$)	298$_2$	1168	96,48±0,54	0,94±0,28
		298$_3$	598	96,49±0,75	1,34±0,47
6	F_1BC_1(Mo34x$F_1$688$_9$)	293$_3$	6450	95,72±0,25	0,99±0,12
		293$_7$	5586	98,69±0,15	0,05±0,03
	F_1BC_1(Mo92x$F_1$539$_5$)	1040$_2$	663	89,89±1,17	1,21±0,42
7	F_1BC_1 (Mo27x$F_1$687$_4$)	111 $_2$	1292	95,43±0,58	0,54±0,20
		111 $_5$	657	96,65±0,70	0,61±0,30
12	F_1BC_1(Mo94x$F_1$8$_1$)	299$_1$	1392	95,19±0,57	2,30±0,40
		299$_2$	1486	96,37±0,49	1,55±0,32
17	F_1BC_1(Mo56x$F_1$4$_{17}$)	513$_8$	952	96,64±0,58	1,26±0,36
18	F_1BC_1(Mo48x$F_1$529$_{16}$)	114 $_1$	2000	97,95±0,32	0,85±0,21
		114 $_{20}$	3170	97,60±0,27	0,06±0,04
21	F_1BC_1(Mo42x$F_1$528$_1$)	782$_1$	881	93,76±0,82	0,34±0,20
22	F_1BC_1(Mo17x$F_1$685$_7$)	110$_1$	680	72,35±1,72	27,65±1,72
		110$_3$	1510	82,38±0,98	17,62±0,98
telo 6	F_1BC_1(Telo12x $F_1$542$_8$)	561 $_{15}$	2106	98,43±0,27	0,90±0,21
		561 $_{17}$	1470	96,94±0,45	1,77±0,34
telo 11	F_1BC_1 (Mo21x$F_1$100$_1$)	291 $_1$	548	92,34±1,14	2,55±0,67
		292 $_1$	2191	92,38±0,57	2,46±0,33

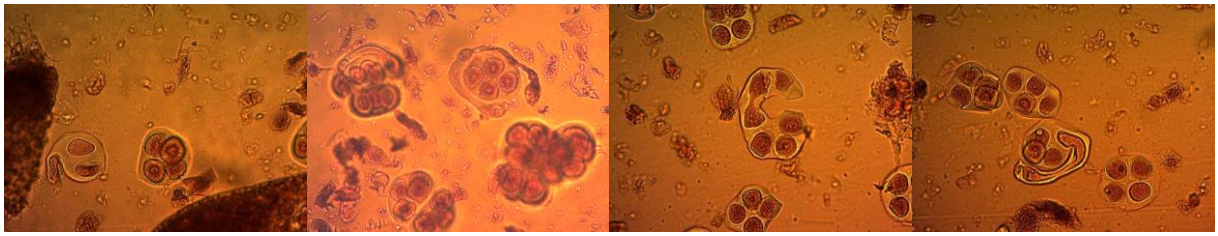


а б в г

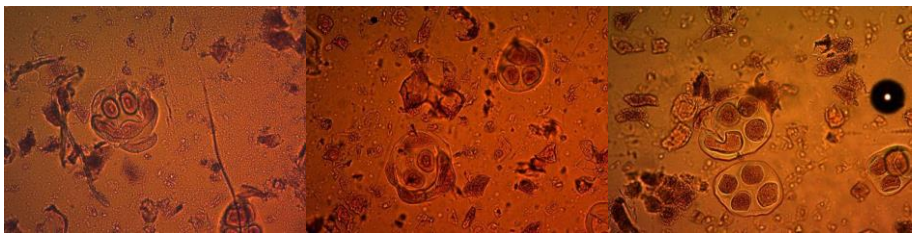
Рис. 2. Рис. 2. Телофаза II у растения F_1BC_1(Mo38x$F_1$690$_{11}$) (925$_4$): а) монада и тетрады; б) аномальная тетрада и нормальная тетрада; в) тетрада с мироядром и триада; г) монада, тетрада с микроядром и тетрады.

Лишь в одном беккроссном варианте F_1BC_1(Mo17x$F_1$685$_7$) у двух моносомных гибридов наблюдалось снижение мейотического индекса (до 72,35±1,72 и 82,38±0,98) и увеличение числа тетрад с микроядрами (до 27,65±1,72 и 17,62±0,98%), которые, по-видимому, возникали из-за задержки унивалентов на экваторе веретена в первой и второй анафазе деления, что и приводило к отставанию хромосом на экваторе и формированию микроядер на стадии тетрад.

Четыре монотелодисомных растения в двух комбинациях скрещиваний (F_1BC_1(Telo12x$F_1$542$_8$) и F_1BC_1 (Тело21x$F_1$100$_1$)) характеризовались высоким мейотическим индексом (от 92,34±1,14 до 98,43±0,27%) и увеличением числа тетрад с микроядрами (до 2,55±0,67 и 2,46±0,33%) у двух гибридов в комбинации F_1BC_1 (Тело21x$F_1$100$_1$)) (Табл. 3). Увеличение числа тетрад с микроядрами указало на нарушения при расхождении гетероморфных бивалентов у монотелодисомных гибридов с замещениями отдельных плечей хромосом.



а б в г



д е к

Рис. 3. Телофаза IIу моносомика F_1BC_1 (Mo94x$F_1$8$_3$) (299$_1$): а) аномальная триада и тетрады; б) аномальная пентада и нормальная тетрада; в) аномальная гексада; г-к) аномальная тетрада и нормальные тетрады.

Изучение фертильности пыльцы с помощью окраски 2% ацетокармином, проведенное у анеуплоидных растений F_1BC_1, с замещениями отдельных хромосом или их плечей обнаружило снижение фертильности, как у исходной линии Pima 3-79 (84,34±1,51%), так и у дисомного межвидового гибрида F_1 Л-458 x Pima 3-79 (80,78±1,70%) по сравнению с линией Л-458 (90,92±1,15%) (Табл. 4) (Рис. 4).

Большинство моносомных гибридных растений BC_1F_1 характеризовалось уменьшением фертильности пыльцы (Табл. 4). Сравнительный анализ выявил сильные различия между моносомиками с замещениями отдельных хромосом (от 67,27±1,45% у гибридовF_1BC_1(Mo60xF_1694_5) до 96,38±0,70% у растенийF_1BC_1(Mo94x F_18_1)). Так, три моносомных растения в двух комбинациях скрещиваний (F_1BC_1(Mo60xF_1694_5)(117_4,117_5) и F_1BC_1(Mo17xF_1685_7)(110_1)) имели большую снижение жизнеспособности пыльцы (67,27±1,45; 78,60±1,53 и 72,35±1,72%), тогда как десять моносомных гибридных растений F_1BC_1 показали небольшое снижение в жизнеспособности пыльцы (от 80,30±1,71 до 89,79±0,94%), что указало на абортацию гапло-дефицитных гамет прежде стадии образования пыльцы.

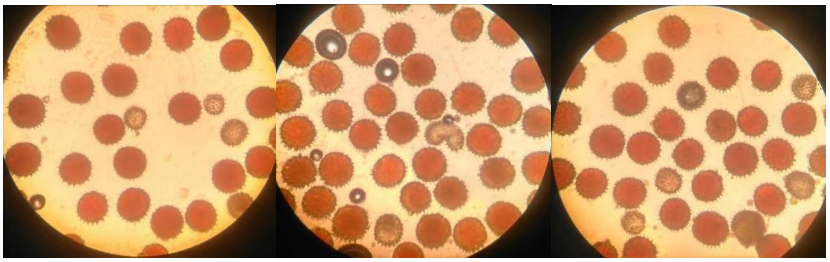


Рис. 4. Фертильная (окрашенная) и стерильная (неокрашенная) пыльца у беккроссного растения, полученного от скрещивания моносомной линии Mo38 с моносомным гибридом F_1: (F_1BC_1Mo38xF_1690_{11}) (925_7).

Таблица 4.

Анализ фертильности пыльцы у анеуплоидных гибридовF_1BC_1, полученных от скрещиваний рекуррентных родителей с анеуплоидными гибридами F_1(Mo x Pima 3-79)

Хромосома	Вариант скрещивания	Номер гибридного анеуплоида	Общее число изученной пыльцы	Фертильность пыльцы, %	Стерильность пыльцы, %
	Л-458	-	628	90,92 ± 1,15	9,08 ± 1,15
	Pima 3-79	-	581	84,34 ± 1,51	15,66 ± 1,51
	F_1Л-458 x Pima 3-79	680	536	80,78 ± 1,70	19,22 ± 1,70
2	F_1BC_1(Mo16x$F_1$98$_6$)	923$_8$	422	87,68 ± 1,60	12,32 ± 1,60
4	F_1BC_1(Mo31x$F_1$770$_2$)	924$_1$	689	95,50 ± 0,79	4,50 ± 0,79
	F_1BC_1(Mo38x$F_1$690$_{11}$)	925$_4$	273	92,31 ± 1,61	7,69 ± 1,61
		925$_7$	262	84,73 ± 2,22	15,27 ± 2,22
	F_1BC_1(Mo58x$F_1$530$_3$)	115$_1$	1789	91,45 ± 0,66	8,55 ± 0,66
	F_1BC_1(Mo59x$F_1$531$_8$)	1041$_4$	1048	89,79 ± 0,94	10,21 ± 0,94
	F_1BC_1(Mo60x$F_1$694$_5$)	117$_4$	1048	67,27 ± 1,45	32,73 ± 1,45
		117$_5$	715	78,60 ± 1,53	21,40 ± 1,53
	F_1BC_1(Mo75x$F_1$104$_2$)	298$_2$	576	84,38 ± 1,51	15,63 ± 1,51
		298$_3$	684	83,91 ± 1,40	16,08 ± 1,40
6	F_1BC_1(Mo34x$F_1$688$_9$)	293$_3$	1019	84,89 ± 1,12	15,10 ± 1,12
		293$_7$	480	90,63 ± 1,33	9,38 ± 1,33
	F_1BC_1(Mo92x$F_1$539$_5$)	1040$_2$	1341	81,80 ± 1,05	18,20 ± 1,05
7	F_1BC_1(Mo27x$F_1$687$_4$)	111$_2$	538	80,30 ± 1,71	19,70 ± 1,71
		111$_5$	572	83,57 ± 1,55	16,43 ± 1,55
12	F_1BC_1 (Mo94x$F_1$8$_1$)	299$_1$	719	96,38±0,70	3,62±0,70
		299$_2$	640	95,63±0,81	4,38±0,81
17	F_1BC_1 (Mo56x$F_1$4$_{17}$)	513$_8$	669	90,43±1,14	9,57±1,14
18	F_1BC_1(Mo48x$F_1$529$_{16}$)	114$_1$	687	81,51 ± 1,48	18,49 ± 1,48
		114$_{20}$	491	95,72 ± 0,91	4,28 ± 0,91
21	F_1BC_1(Mo42x$F_1$528$_1$)	782$_1$	264	87,88 ± 2,01	12,12 ± 2,01
22	F_1BC_1(Mo17x$F_1$685$_7$)	110$_1$	680	72,35±1,72	27,65±1,72
		110$_3$	1510	82,38±0,98	17,62±0,98
telo 6	F_1BC_1(Telo12x$F_1$542$_8$)	561$_{15}$	655	85,65±1,37	14,35±1,37
		561$_{17}$	493	88,44±1,44	11,56±1,44
telo 11	F_1BC_1(Mo21x$F_1$100$_1$)	291$_1$	661	89,41±1,20	10,59±1,20
		292$_1$	453	91,61 ±1,30	8,39 ± 1,30

Два беккроссных гибрида (291_1 и 292_1) внутри семьи (F_1BC_1(Тело21xF_1100_1) с замещением одного плеча хромосомы **11** имели небольшие различия в фертильности пыльцы (89,41±1,20 и 91,61±1,30%). Кроме того, монотелодисомный гибрид внутри другой семьи F_1BC_1(Telo12xF_1542_8) - с замещением одного плеча хромосомы **6**характеризовался небольшим снижением фертильности пыльцы (85,65±1,37%) (Табл. 4).

Известно, что микроскопическая оценка фертильности пыльцы после окраски ацетокармином в потомстве моносомиков хлопчатника является не вполне убедительной в качестве способа разделения моносомных и дисомных растений вследствие абортации несбалансированных микроспор в раннем развитии [7]. Однако такая оценка указывает на скрытую структурную изменчивость материала, которая на уровне отдельных хромосом с помощью рутинных методов окраски не выявляется, но на уровне пыльцы четко прослеживается.

В целом, изучение коньюгации хромосом у гибридов с чужеродным замещением хромосом позволяет осуществлять цитогенетический контроль на всех этапах беккроссирования при создании линий с замещением хромосом. Проведенное исследование показало, что у большинства изученных беккроссных анеуплоидов хлопчатника F_1BC_1 с замещениями отдельных хромосом или их плечей была выявлена модальная конъюгация хромосом без дополнительных унивалентов, что могло служить основанием отсутствия смены унивалента в дальнейшем. Однако вероятность такого события существует, поскольку в настоящее время накоплено много данных об отсутствии замещений у ранее созданных линий с чужеродным замещением хромосом. Так выяснилось, что у некоторых линий хлопчатника (**CS-B05sh, CS-B06, CS-B07, CS-B15sh**) молекулярно-генетический анализ не подтвердил замещение хромосом [21]. Кроме того, один из образцов ДНК, который ранее считался произошедшим от растения, гемизиготного по **Chr-17** вида *G. barbadense*, оказался гемизиготным для **Chr-11 [**10**]**. У злаков такие случаи также оказались нередкими, поскольку С-дифференциальное окрашивание хромосом не выявило присутствия чужеродного генетического материала в пяти образцах (Л-2039/1, Л-2040/1, Л-2185/2, Л-2309/9 и Л-2311/4) из 20 исследованных интрогрессивных линий

у *Triticum aestivum* x *Aegilops columnaris* Zhuk. [6]. Другим примером отсутсвия чужеродных интрогрессий по результатам цитологического анализа стали две интрогрессивные линии (4572n16 и 4607n16) из популяции гибридных растений RS7x*T. Aestivum* поколения BC_2 F_6- BC_3F_5, хотя авторы сослались на возможность присутствия перестроек в этих линиях, не выявляемых методом FISH [1].

Заключение

Проведенное исследование поведения хромосом в мейозе у межвидовых гибридов F_1BC_1с замещениями специфических хромосом и выявление нормальной для моносомиков хлопчатника конъюгации хромосом без формирования дополнительных унивалентов служило гарантией отсутствия смены унивалента. Однако частичное снижение фертильности пыльцы, усилившееся у некоторых беккроссных гибридов F_1BC_1, несмотря на высокий мейотический индекс и небольшое число тетрадс микроядрами, свидетельствовало о скрытой структурной изменчивости геномов двух видов *G.barbadense* и *G.hirsutum*, не регистрируемой на стадии метафаза I мейоза.

Литература

1. Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Миков Д.С., Зубанова Ю.С., Болдаков Д.М., Бадаева Е.Д., Адонина И.Г., Салина Е.А., Зинченко А.Н. // Создание и изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы, полученных на основе синтетической формы RS7 // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т.23. №7. С. 827- 835.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. (С основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Макамов А.Х., Ачилов С.Г., Абдурахмонов И.Ю. Создание новой серии анеуплоидных линий у хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) с идентификацией нехваток отдельных хромосом с помощью транслокационных и SSR-маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т.20. №5. С.643-652.
4. Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У. Идентификация унивалентных хромосом у моносомных линий хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) с помощью цитогенетических маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23. №7. С. 836-845.

5. Санамьян М.Ф. Цитогенетика мутаций, транслокаций, моносомии и межвидовой гибридизации у хлопчатника. Ташкент. 2020. «Университет». 384 С.
6. Шишкина А.А., Драгович А.Ю. Рубан А.С., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Бадаева Е.Д. Разработка генетической классификации хромосом *Aegilopscolumnaris*Zhuk. *Triticumaestivum*x*Ae. columnaris*// Вавилов. журнал генетики и селекции. 2017. Т.21. №2. С. 241-249.
7. Brown M.S., Endrizzi J.E. The origin, fertility and transmission of monosomic in *Gossypium* // Amer. J. Bot. 1964. V.51. N1. PP. 108-115.
8. Endrizzi J.E., Ramsay G. Identification of ten chromosome deficiencies of cotton. Cytological identification of eight chromosomes and genetic analysis of chromosome deficiencies and marker genes // J. Hered. 1980. V.71. N1. PP. 45-48.
9. Endrizzi J.E., Turcotte E.L., Kohel R.J. Genetics, cytology and evolution of *Gossypium* // Adv. Genet. 1985. V.23. P. 271 - 375.
10. Gutie´rrez, O.A., Stelly, D.M., Saha, S., Jenkins, J.N., McCarty, J.C., Raska, D.A., Scheffler, B.E. Integrative placement and orientation of non-redundant SSR loci in cotton linkage groups by deficiency analysis // Mol. Breed.2009. V.23. PP. 693–707.
11. Love, R.M. Varietal differences in meiotic chromosome behavior of Brazilian wheat. //Agron. J. 1951. V. 43. P. 72–76.
12. Reinisch A.J., Dong J., Brubaker C.L., Stelly D.M., Wendel J.F., Paterson A.H. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum x Gossypium barbadense:* chromosome organization and evolution in a disomic polyploidy genome// Genetics. 1994. V.138. P. 829 - 847.
13. Saha S., Wu J., JenkinsJ.N., McCartyJ.C., Jr., GutierrezO.A., StellyD.M., PercyR.G., RaskaD.A. Effect of chromosome substitutions from *Gossypium barbadense* L. 3-79 into *G. hirsutum* L. TM-1 on agronomic and fiber traits // Journal of Cotton Science. 2004. V. 8. P. 162-169.
14. Saha S., Jenkins J.N., Wu J., McCarty J.C., Gutierrez O.A., Percy R.G., Cantrell R.G., Stelly D.M. Effects of chromosome-specific introgression in upland cotton on fiber and agronomic traits // Genetics. 2006. V. 172. P. 1927-1938.
15. Saha S., Stelly D.M., Raska D.A., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C., Makamov A., Gotmare V., Abdurakhmonov I.Y. and Campbell B.T. Chromosome substitution lines: concept, development and utilization in the genetic improvement of upland cotton

//www.intechopen.com. 2012. – P. 107-128.

16. Saha S., Stelly D.M., Makamov A.K., Ayubov M.S., Raska D., Gutie´rrez O.A.,Manchali Sh., Jenkins J.N., Deng D., Abdurakhmonov I.Y. Molecular confirmation of *Gossypium hirsutum* chromosome substitution lines //Euphytica. 2015. V. 245. P.459–473.
17. Sanamyan M.F., Petlyakova J., Rakhmatullina E.M., Sharipova E. Cytogenetic collection of Uzbekistan. In: Abdurakhmonov IY. (Ed). World Cotton Germplasm Resources. Chapter 10. Croatia: In Tech. 2014. P. 247–287.
18. Sears E.R. Misdivision of univalents in common wheat // Chromosoma. 1952. V. 4. P. 535 - 550.
19. Stelly D.M. Interfacing cytogenetics with the cotton genome mapping effort // Proc. Beltwide Cotton Conf.: 10-14 January 1993. – New Orleans, Louisiana, 1993. - P. 1545 - 1550.
20. Stelly D.M., Saha S., Raska D.A., Jenkins J.N., McCarty J.C., Jr., and Gutie´rrez O.A. Registration of 17 upland (*Gossypium hirsutum*) cotton germplasm lines disomic for different *G. barbadense* chromosome or arm substitutions //Crop Sci. 2005. V.45. P.2663–2665.
21. Ulloa M., Wang C., Saha S., Hutmacher R.B., Stelly D.M., Jenkins J.N. Burke J., Roberts P.A. Analysis of root-knot nematode and fusarium wilt disease resistance in cotton (*Gossypium* spp.) using chromosome substitution lines from two alien species // Genetica. 2016. V. 144. P.167–179.

Авторский коллектив:

Санамьян Марина Феликсовна– д.б.н., гл.н.с., Национальный университет Узбекистана, Лаборатория генетики хлопчатника (100174, г. Ташкент, ул. Университетская 4)

*E-mail:*sanam_marina@rambler.ru

Бобохужаев Шухрат Умарович–PhD. Старший преподаватель, Национальный университет Узбекистана, Лаборатория генетики хлопчатника (100174, г. Ташкент, ул. Университетская 4)

e-mail:bobohujayev@mail.ru

Силкова Ольга Генадьевна–к.б.н., в.н.с., Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Лаборатория молекулярной генетики и цитогенетики растений (630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10)

e-mail:silkova@bionet.nsc.ru

Fundings: This work partially supported by (Grant F-OT-2021-155**)**

Acknolegments: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства инновации Республики Узбекистан в рамках проекта Ф-ОТ-2021-155.

The study was carried out with the financial support of the Ministry of Innovation of the Republic of Uzbekistan within the framework of the F-OT-2021-155 project.

Физиологии и биохимии растений
Plant physiology and biochemistry

УДК: 578.74.578.85

ВЛИЯНИЕ MDMV НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ КУКУРУЗЫ

З.Ш.Собирова

Чирчикский государственный педагогический университет, Узбекистан.

*Соответствующий автор email: z.sobirova@cspi.uz

Аннотация. В этой статье речь идёт о влияние вируса MDMV (Maize dwarf mosaic virus) на пигментного содержания сортов кукурузы. Вирусы не предсказуемые инфекции всех живых организмов, в том числе и растения тоже страдают от этих недугов. Вирусы, заражая растительную клетку, в результате изменяют физиологические процессы: проникая в хлоропласты, разрушают структуру тиллакоидов. Данной статье мы описали наши исследовании по определению количество фотосинтезирующих пигментов хлорофилла –a, b и каротиноидов у сортов кукурузы заражённых вирусом, а так же обсуждение результатов и выводы.

Ключевые слова: MDMV, хлорофилл, спектрофотомерия, деградация, гибриды кукурузы.

INFLUENCE OF MDMV ON THE PIGMENT COMPOSITION OF DIFFERENT ZEA MAYS GENOTYPES

Z.Sh.Sobirova

Chirchik State Pedagogical University, Uzbekistan.

*Email: z.sobirova@cspi.uz.

Annotation. This article deals with the influence of the MDMV(Maize dwarf mosaic virus) virus on the pigment content of corn varieties. Viruses are not predictable infections of all living organisms, including plants also suffer from these ailments. Viruses, infecting a plant cell, as a result change physiological processes: penetrating into chloroplasts, they destroy the structure of thylakoids. In this article, we have described our study to determine the amount of photosynthetic pigments chlorophyll -a, b and carotenoids in maize varieties infected with the virus, as well as a discussion of the results and conclusions.

Key words: MDMV, chlorophyll, spectrophotometry, degradation, maize hybrids.

Введение

Рост и развитие растений во многом определяется процессами фотосинтеза, происходящими в ассимилирующих органах. Показателем физиологического статуса листьев является состояние пигментного комплекса. Количественные и качественные изменения пигментной системы являются чувствительным

показателем физиологического состояния растений и их фотосинтетического аппарата. Хлорофилл является важнейшим компонентом фотосинтетического аппарата листьев. Его содержание обусловлено генетической природой культуры, вследствие чего может быть использовано в качестве физиологического показателя, характеризующего онтогенетические, возрастные и генетические особенности растения(1).

Сведения о пигментном фонде кукурузы, необходимы для оценки стока углерода и продуктивности сортов. [2]. Как правило, хлоропласт является наиболее чувствительной органеллой растительной клетки к вирусной инфекции [3], поэтому первичными индикаторами вирусного заболевания растений являются снижение скорости фотосинтеза и деградация хлорофилла (Хл). Эти физиологические реакции связаны с накоплением растворимых сахаров и крахмала в инфицированных клетках [4]. В растительной клетке, проникшие вирусы начинают само произведение, то есть репликации, при этом очень важно ферменты, которые участвуют в этом процессе. Для активности ферментов требуются микроэлементы, особенно магний. Мы знаем источник магния это хлорофилл. Утрачивая магния, хлорофилл разрушается, идёт интенсивное окисление, клетка постепенна, теряет фотосинтетический аппарат. Таким образом, образуется некроз у заражённых растений.

Цель исследования

Целью данной работы было изучить содержание и соотношение фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) в листьях сортов кукурузы, заражённых вирусом и определить ущерб вируса на количество основных пигментов фотосинтетического аппарата.

Объекты и методы исследования

Одним из наиболее удобных и точных методов определения содержания каждой группы фотосинтетических пигментов (каротин, хлорофилл *а,* хлорофилл *в* и т. д.) является установление их количества в вытяжке с помощью спектрофотометра. Этот метод позволяет установить концентрации отдельных пигментов без предварительного разделения вытяжки на компоненты и калибровочных кривых. Расчет содержания отдельных веществ в смеси производится по формулам, учитывающим положения максимумов поглощения пигментов и содержащим поправочные коэффициенты на наличие других пигментов и компонентов, рассеивающих свет.

Количество пигментов можно выражать в мг или в % в расчете на **1** г сырой или сухой массы, единицу площади (см^2, дм^2) листа. Содержание хлорофиллов в листьях растений составляет в среднем около 0,3 % сырой массы (0,1-0,7 %). Каротиноидов в листьях примерно в 3-8 раз меньше, чем хлорофиллов.

Определение количества пигментов лучше всего проводить в свежих листьях. Получили вытяжку пигментов из зеленых листьев растений. Для этого использовали навеску 0,3-0,5 г и 96 % этиловый спирт.

Полученный экстракт из колбы Бунзена перенесли в мерный цилиндр

и довели до определенного объема спиртом. Определение концентрации пигментов без их предварительного разделения проводится на спектрофотометре при длинах волн: для ацетона - 662, 644, 440 нм, для спирта - 665, 649, 440 нм. Мутность раствора измеряется при 720 нм. Показания спектрофотометра при 720 нм вычитаются из показаний при других длинах волн.

Концентрация пигментов (С) в мг/л вычисляется по формулам:

$$\text{Chl-a (mg/gr)}=13{,}36*A_{664}-5{,}19*A_{649}$$

$$\text{Chl-b (mg/gr)}=27{,}43*A_{649}-8{,}12*A_{664}$$

$$C\ x+c=(1000\ A_{470}-2{,}13C_a-97{,}63\ C_{b)}/209$$

$$F(mg/gr)=(V*C)/P$$

где Chl_a - концентрация хлорофилла -*a* в мг/л; Chl_e - концентрация хлорофилла *e* в мг/л; $C_к$ - концентрация каротиноидов в мг/л; F- количество пигмента в листе растения (мг/г); V-объем жидкости (мл); концентрация С-пигмента (мг/л); Р-масса растительной ткани(5).

Чтобы получить точные данные, исследования изучение влияние вируса на пигментное содержание проведено 3 года подряд. Для этой работы посадили 7 сортов кукурузы на опытное поле института. В фазе 3-5, 5-7 и 7-11 листьев искусственно заразили растений. Инокуляция проводилось повторно несколько раз. С каждого сорта собрали заражённые листья. Для этого использовали навеску 0,3-0,5 г и 96 % этиловый спирт.

Методика и результаты исследований

Опыт по определение пигментов проводилось по этапно три раза. Каждым опыте повторили по три раза , чтобы получить точный результат. Первый этап проводили через пять дней искусственного заражение. Как правило указывает три раза повторили каждого образца и расчитали по формуле. Повторную опыт, проводили через пять дней, то есть 10 и 15 дней после заражение вирусом сортов кукурузы. Эти этап опыта так же проводили как на первом опыте, результаты рассчитали по формуле, результаты для каждого пигмента отдельно составили таблицы. Результаты хлорофилла А показано в таблице №1.

Таблица.1

Сравнительная таблица по определению количество хлорофилла-А в листьях сортов кукурузы, зараженных вирусом и контрольных образцов

№	Название сорта	5-й день после инокуляции		10-й день после инокуляции		15-й день после инокуляции	
		Хл-А контроль	Хл-А заражён	Хл-А контроль	Хл-А заражён	Хл-А контроль	Хл-А заражён
1	Основа209	12,42±0,22	11,76±0,2	15,55±0,19	13,59±0,06	17,36±0,12	11,03±0,05
2	Extra Early Dightau209	15,86±0,13	11,93±0,07	19,85±0,09	7,69±0,04	25,48±0,17	8,13±0,06
3	San Pedro LATA	14,45±0,13	14,55±0,02	16,73±0,16	14,08±0,19	20,8±0,29	5,44±0,17

4	Шерзод	17,56±0,31	13,62±0,11	21,18±0,02	10,87±0,16	35,43±0,72	7,05±0,14
5	Hickax	17,04±0,04	14,78±0,07	20,5±0,53	8,7±0,37	29,72±0,36	3,48±0,31
6	205-2	12,37±0,07	12,9±0,12	14,46±0,22	11,51±0,13	15,89±0,37	3,34±0,11
7	San Pedro2IMTA	15,3±0,23	9,04±0,11	19,66±0,04	7,94±0,16	24,57±0,24	5,44±0,09
	Ср.показание	15	12,79	18,27	10,61	24,17	6,27

По данным результатам ясно что у заражённых образцов количество хлорофилла –А меньше чем у контрольных образцов, например у сортов Шерзод и Hickax не сильно скачивается количество хлорофилла –А , а у сортов San Pedro LATA и San Pedro2IMTA наибольшее разница по количество хлорофилла контрольных и заражённых. По итогам Хл-А у контрольных образцов среднем-19,15мг/мл; Хл-А у заражённых образцов среднее показание -9,89мг/мл; потерей хлорофилла –А составляет 48,36%. Результаты определение количество хлорофилла-В показано в таблице № 2

Таблица №2

Сравнительная таблица по определению количество хлорофилла-В в листьях сортов кукурузы, зараженных вирусом и контрольных образцов

№	Название сорта	5-йдень после инокуляции вируса		10-й день после инокуляции вируса		15-й день после инокуляции вируса	
		Хл-В контроль	Хл-АВ заражён	Хл-В контроль	Хл-В заражён	Хл-В контроль	Хл-В заражён
1	Основа209	8,87±0,47	7,15±0,29	8,37±0,2	5,89±0,36	8,74±0,06	5,58±0,14
2	Extra Early Dightau209	7,12±0,19	6,73±0,02	12,05±0,34	5,42±0,05	18,68±0,13	4,89±0,06
3	San Pedro LATA	9,53±0,656	9,21±0,11	7,5±0,62	8,69±0,19	10,34±0,28	4,4±0,26
4	Шерзод	10,68±0,1	9,5±0,14	9,9±0,07	8,83±0,2	8,97±0,43	3,81±0,23
5	Hickax	9,45±0,17	8,76±0,08	8,78±0,36	11,86±0,1	11,72±0,61	2,58±0,11
6	205-2	5,94±0,38	5,08±0,15	8,88±0,2	6,55±0,4	6,48±0,55	4,1±0,17
7	San Pedro2IMTA	6,58±0,78	6,49±0,11	10,1±0,22	4,74±0,02	12,66±0,06	5,94±0,02
	Ср.показание	8,31	7,56	9,3	7,41	11,08	4,47

По итогам Хл-В у контрольных образцов среднем-9,56 мг/мл; Хл-В у заражённых образцов среднее показание -6,48мг/мл; потери хлорофилла –В составляет 32,22%.

Таблица №3

Сравнительная таблица по определению количество каротиноидов в листьях сортов кукурузы, зараженных вирусом и контрольных образцов.

№	Название сорта	5-день после инокуляции		10-й день после инокуляции		15-й день после инокуляции	
		К-контроль	К-заражён	К-контроль	К-заражён	К-контроль	К-заражён
1	Основа209	3,04±0,25	2,53±0,23	2,96±0,18	2,67±0,12	3,45±0,02	2,72±0,03
2	Extra Early Dightau209	3,05±0,16	6,59±0,02	3,31±0,09	2,25±0,08	5,68±0,19	1,28±0,05
3	San Pedro LATA	3,36±0,15	3,53±0,03	4,5±0,23	5,88±0,04	4,03±0,06	2,08±0,09
4	Шерзод	3,42±0,08	3,62±0,03	3,92±0,02	2,21±0,12	7,86±0,19	1,4±0,05
5	Hickax	6,12±0,12	2,76±0,13	4,67±0,07	3,11±0,02	4,73±0,29	1,05±0,06
6	205-2	2,63±0,09	2,42±0,03	2,29±0,06	2,15±0,15	3,88±0,42	0,51±0,06
7	San Pedro2IMTA	3,45±0,21	2,68±0,1	3,79±0,07	2,02±0,03	4,45±0,07	1,24±0,01
	Ср.показание	3,58	3,44	3,63	2,89	4,86	1,47

По данным можно расчитать что количество каротиноидов у контрольных образцов среднем составляет- 4,02мг/мл; количество каротиноидов у заражённых образцов среднем составляет-2,6мг/мл; По итогам количество каротиноидов из-за вирусов уменьшается на 35,33%.

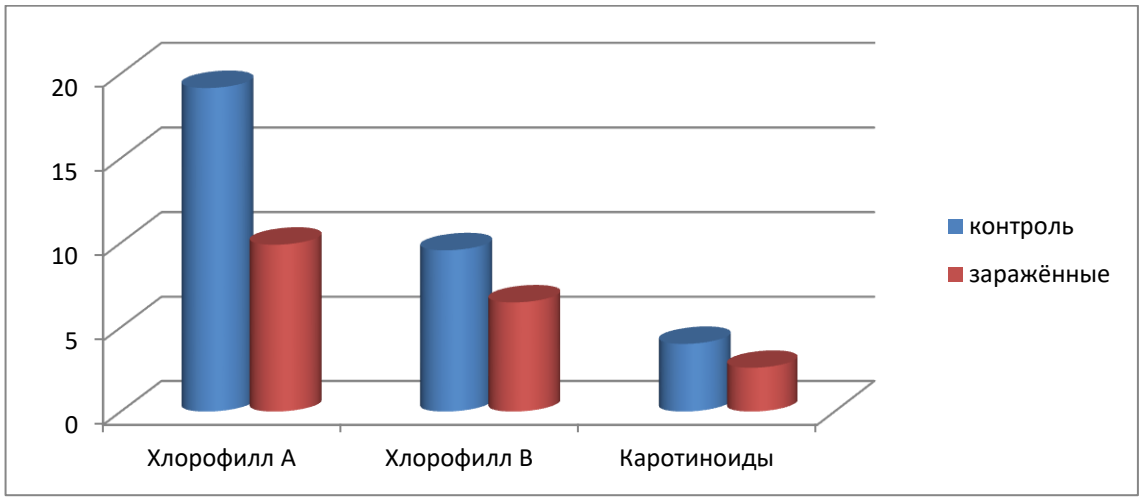


Рисунок №1. Изменение содержания пигментов у здоровых и зараженных вирусом сортов и образцов кукурузы.

Здесь хлорофилл А по расчетам у сорта Основы 209 на 17,76 уменьшается, это означает зараженные растения потеряли почти 5 раз фотосинтезирующий аппарат. Extra Early Dightau 209- 2 раза, San Pedro LATA-2 раза, Шерзод-2 раза, Hickax на 1,06 уменьшается, у сорта 205-2, - 2 раза и San Pedro2 IMTA тоже почти на 2 раза уменьшается.

Остальные пигменты по мониторингу показывает динамическое понижение у заражённых образцов.

Обсуждения результатов. На основании проведенных экспериментов установлено, что вирусная инфекция снижает количество хлорофилла А, в 1,9 раза, количество хлорофилла В в 1,47 раза, количество каротиноидов в 1,54 раза. По этой причины у растений приостанавливается рост, появляется преждевременный образования генеративных органов. Поскольку растение, заражённое вирусом угнетается, плоды образует не качественных, а иногда не успевает плодоносит и увядает. Вирусные заболевания наносят огромные ущерб, при выращивание кукурузы. Меры борьбы с вирусными болезнями кроме классических, еще требуется более не традиционные способы.

Список литературы

1. Дымова О.В., Кузиванова О.А. Оптимизация способа экстракции фотосинтетических пигментов и их содержание в талломах лишайников. // Химия растительного сырья. 2018. №2. С. 137-144. DOI: 10.14258/jcprm.2018023013.
2. Sobirova, Z., Fayziev, V., Abduraimova Kh. (2020). Effect of The Virus of The Yellow Dwarf Corn Mosaic Growth and Development of Varieties of Corn in Various Phases. Journal of Advanced Research in Dynamical and Control Systems, 12(6), 602-606.
3. Давранов К.С. Характеристика вируса карликовой мозаики кукурузы, выделенного в Узбекистане. Дис.на соис..канд.биол.наук.'Киев,1984.
4. Практикум по физиологии растений / общ. ред. Н.Н. Третьякова. - М.: Колос, 2003. - С. 86-99.
5. Н.В. Гпаз, Н.И. Казакова, Л.В. Уфимцева. Методические подходы к выбору условий пробоотбора и оценке содержания хлорофилла в листьях растений кукурузы. 2015г

УДК: 631.6. 631.481. 626.87

ПРОЦЕССЫ ДЕГУМИФИКАЦИИ, НАБЛЮДАЕМЫЕ В ОРОШАЕМЫХ ГИДРОМОРФНЫХ ПОЧВАХ НИЖНЕГО ТЕЧЕНИЯ АМУДАРЬИ

Рамазонов Б.Р.
Чирчикский государственный педагогический
Университет, факультет Естественных наук, кафедра Биологии
baxtiyorr254@gmail.com

Аннотация: В данной статье рассмотрены современное состояние почв, количество питательных веществ в этих почвах и развитие орошаемых почв в низовьях Амударьи. Вместе с этим статье изложены материали современное состояние орошаемых гидроморфных почв низовья Амударьи. Определено что, в следствие длительного орошения и обработки, низкообеспеченние почвы гумусом составляет 5,5%, среднообеспеченные 47,0% и достаточнообеспеченные всего 1,5% площади. Почвы низкообеспеченые подвижными формами фосфора 83,8%, среднообеспеченные 11,5% и высокообеспеченные 4,7%; обменным калием низкообеспеченые почвы 71,8%, среднеобоспеченые 19,5% и высокообеспеченные составляет 8,7% орошаемых земельных площадей. При изученнии сельскохозяйственных земель низовьях Амударьи определены что 98,5 % орошаемых почв засолены в разной степены, из них 40,5% почвы сильно и очень сильной степены засолены.

Ключевые слова: лугово-аллювиальные почвы, гумус, засоление, мелиорация, подвижный фосфор, обменный калий, гипс, дегумификация.

DEHUMIFICATION PROCESSES OBSERVED IN IRRIGATED HYDROMORPHIC SOILS OF THE LOWER AMUDARYA

Ramazonov B.R.
Chirchik State Pedagogical
University, Faculty of Natural Sciences, Department of Biology
baxtiyorr254@gmail.com

Abstract: The article describes the current state of irrigated hydromorphic soils in the lower reaches of the Amu Darya. It is determined that, as a result of prolonged irrigation and processing, low soil availability by humus is 5.5%, medium-sized 47,0% and sufficiently well-provided only 1,5% of the area. Soils poorly provided with mobile forms of phosphorus 83,8%, medium-income 11,5% and high-income 4,7%; exchangeable potassium, low-income soils 71,8%, medium-sourced 19,5% and high-income soil make up 8,7% of irrigated land. When studying agricultural lands, the lower reaches of the Amudarya River determined that 98,5% of irrigated soils aresalinized to different degrees, 40,5% of them are strongly saline soils.

Key words: meadow alluvial soils, humus, salinity, melioration, mobile phosphorus, exchange potassium, gypsum, dehumification.

Введение. Факторами, вызывающими деградацию сельскохозяйственных угодий во всем мире, являются такие процессы, как их эрозия, засоление, истощение гумуса и питательных веществ, загрязнение

токсическими веществами. Поскольку эти негативные процессы имеют место в почвах нашей республики, особенно на орошаемых почвах, считается одной из важных социально-экономических и научно-технических проблем развития сельского хозяйства нашей страны, и необходимо эффективно использовать и охранять земельных ресурсов за счет предотвращения деградации почв и ликвидации ее последствий.

Пять приоритетов развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы, разработанные по инициативе главы нашего государства, модернизация и опережающее развитие сельского хозяйства по третьему направлению стратегии действий, углубление структурных преобразований и непрерывное развитие сельскохозяйственного производства, дальнейшее укрепление продовольственной безопасности страны, производство экологически чистой продукции. Также планируется принять системные меры по расширению производства, дальнейшему совершенствованию мелиорации орошаемых земель, внедрению в сферу сельскохозяйственного производства интенсивных методов, в первую очередь, инновационных агротехнологий, экономящие воду и ресурсы.

Цель данной работы. Основная цель данной работы являеться разработать методы предотвращения отрицательных последствий деградации и смягчить отрицательные последствия опустынивания. А также поднять плодородие почв, процессы дегумификации, наблюдаемые в орошаемых гидроморфных почвах нижнего течения Амударьи.

Материалы и методы исследования. В 2017 году полевые исследования проводились на стационарных экологических и полустационарных экологических площадках - СЭП и ПСЭП, отобранных для проведения исследований из земель сельскохозяйственного назначения Республики Каракалпакстан. Выбранные для проведения исследований доминирующие группы почв наиболее распространены в современной и древней дельтах Амударьи и интенсивно используются в сельскохозяйственном производстве, расположены в разных геоморфологических районах, представляя собой почвенные покровы низовья Амударьи. Основу исследований проводили на основе методик, опубликованных в нашей республике и общепринятых в республике [1;2;3;7;8].

Результаты исследования и их обсуждение. Орошаемые почвы районов исследований в основном расположены в геоморфологически крупных районах современного и древнего распространения Амударьи. Эти районы, в свою очередь, делятся на несколько геоморфологических районов по рельефу, геологическому строению и литологии местности [4; 5]. По данным исследований установлено, что в геоморфологическом районе современного расширения Амударьи в связи с незначительным снижением уровня грунтовых вод местами, изменением почвенно-климатических условий, уменьшением периодического доувлажнения (орошение) установлено, что часть бывших гидроморфных почв в настоящее время развивается в полуавтоморфные, автоморфные почвы [6; 9]. Кроме того, было отмечено, что из-за временного прекращения орошения на некоторых участках формируются сильнозасоленные почвы и солончаки.

В частности, в результате дефицита оросительной воды на больших земельных площадях хозяйства Араль, Мойнак, Казокдарья и Урмон в Мойнакском районе,

Сариалтын, Джайхун в Конлыкольском районе, Равшан и Охунбобоев в Кунгиротском районе, Устюртские хозяйства, Майяб и Бозатов хозяйства Чимбайского района и хозяйства Караозак Караозакского района, в ходе мониторинговых исследований установлено, что в них происходят процессы превращения земель в засоленные.

В результате окультуривания и орошения почв Равшанского массива Кунгиротского района, а также в результате генетического развития и изменений образовались новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы. По механическому составу исследуемые почвы в основном среднепесчаные, а в почвенном профиле в пахотном слое содержится частиц песка от 3,8 до 34,6 %, пылевидных частиц от 59,3 до 90,0 %, ила 6,1-6,2 %, физической глины 33,5-37,0%. В пахотном слое легких песчаных грунтов количествопесчаных частиц составляет 30,7 %, пылевидных частиц 64,2 %, глинистых частиц 5,1 %, физической глины 22,8 %. При анализе механического состава профилей в проведенных исследованиях было отмечено, что слои сложены разными видами песка, суглинка или тяжелого песка. Такая ситуация связана с литологическим строением геоморфологического района, то есть объясняется расположением отложений, принесенных Амударьинскими водами с годами и вымыванием частиц из почвенного профиля, а также оседанием внутренних продукты выветривания в поперечном профиле.

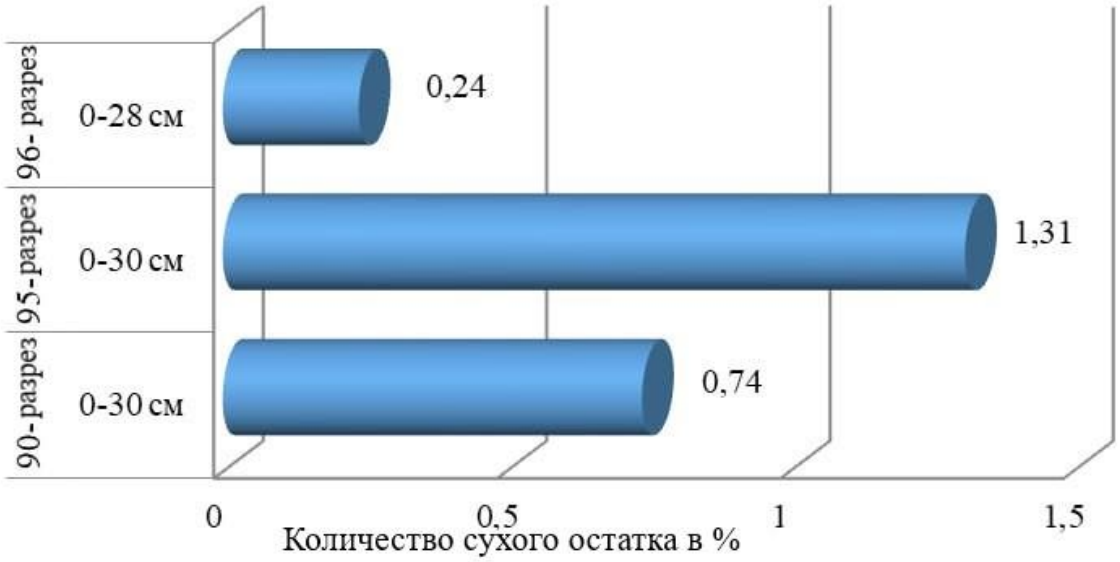


Рисунок №1. Новоорошаемые луговые аллювиальные почвы, количество сухого остатка в проходных слоях, %.

Исследуемые новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы относятся к слабо, средне и сильнозасоленным почвам по хлоридно-сульфатному и сульфатно-хлоридному типам. Сухой остаток в пахотном слое слабозасоленных почв составляет в среднем 0,215-0,270 %, сухой остаток в пахотном слое среднезасоленных почв - в среднем 0,575-0,740 %, сильнозасоленных почв - в среднем 0,240-1,310 % (рис. №1).

В пахотном слое новоорошаемых лугово-аллювиальных почвах количество гумуса колеблется в среднем от 0,98% до 1,26%, начиная с 48-50 см - 0,67-0,72%, причем наблюдается резкое уменьшение гумуса к подошве почвы в почвенном профиле. В новоорошаемых лугово-

аллювиальных почвах количество подвижного фосфора составляет в среднем 14,0-16,0 мг/кг, иногда 24,0 мг/кг, обменного калия в среднем 106,2-109,2 мг/кг, иногда около 142,1-153,6 мг/кг. Отмечено, что они распределены неравномерно. Исследуемые почвы бедны подвижным фосфором и обменным калием. В новоорошаемых лугово-аллювиальных почвах содержание общего азота составляет в среднем 0,030-0,047%, общего фосфора - 0,25-0,33%, калия - 0,775-0,947%.

В результате анализа установлено, что 90,1 % площадей орошаемых земель массива недообеспечены подвижным фосфором и 100 % орошаемых земель сельскохозяйственного назначения обменным калием, 60 % площадей земель недообеспечены гумусом. до 1,00%.

По механическому составу староорошаемые луговые почвы Охунбобоевского массива Ходжайлинского района сложены средними, легкими суглинками и супесчаными почвы, сформировавшиеся на других аллювиальных отложениях. В пахотном слое среднепесчаных грунтов песчаных частиц в среднем 19,9-24,4 %, пылевидных частиц 70,5-74,0 %, пылеватых частиц 5,4-7,4 %, физических глин 27,8-30,6 %, в пахотном слое грунтов с легким механическим состава, песчаных частиц в среднем 29,7-34,0 %, пылевидных частиц 41,9-58,4 % и физических глин 24,1-24,6 %, в песчаных грунтах песчаных частиц 37,2 %, пылевидных частиц 60,7 %, глин 2,1 % и физических глин 18,0 %.

Староорошаемые луговые аллювиальные почвы относятся к слабо, средне, сильно, а иногда и очень сильнозасоленным почвам. Сухой остаток в пахотном слое слабозасоленных почв составляет 0,475%, среднезасоленных 0,600-0,625%, сильнозасоленных 1,315%, сильнозасоленных 2,160%, площадь среднезасоленных почв более более 50% орошаемых земель.

Количество гумуса в пахотном слое староорошаемых лугово аллювиальных почвах колеблется в среднем от 0,54% до 1,27%, причем этот показатель снижается к нижним слоям разреза. Несмотря на то, что эти почвы длительное время подвергались орошению, слой гумуса невелик, его количество уменьшилось до 0,41-0,54% в подпахотных слоях. Все исследованные почвы были обеспечены гумусом до низкого уровня (рис. 2).

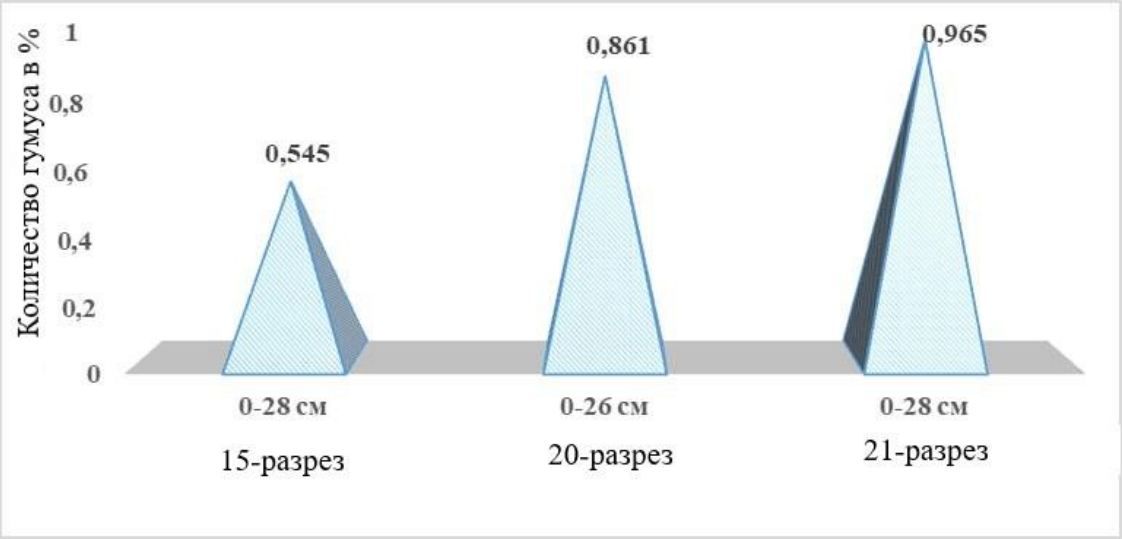


Рисунок №2. Староорошаемые лугово-аллювиальные почвы, количество гумуса в пахотном слое, в %.

В исследованных почвах количество подвижного фосфора в почвенном слое составляет в среднем 12,0-35,5 мг/кг, иногда 53,0-68,0 мг/кг, калия в среднем 63,0-125,0 мг/кг, иногда колеблясь в районе 239-252 мг/кг. кг, что делает их неравномерно распределенными. Все почвы малообеспечены и умеренно обеспечены подвижным фосфором и калием. В староорошаемых лугово-аллювиальных почвах содержание общего азота составляет в среднем 0,015-0,020%, общего фосфора - 0,17-0,24%, калия - 0,803-0,954%. Количество карбонатов в орошаемых гидроморфных почвах массива составляет в среднем 7,603-8,025%, в этих почвах гипс растворяется и не виден в почвенных частицах, а количество гипса в почве очень низкое, в среднем 0,154-0,586%. .

В морфологическом разрезе Тахтакопырского района массива Узбекистана новоосвоенных луговых аллювиальных почвах выделяется пахотный слой мощностью 20-30 см, но прежние «заповедные» черты сохраняются.

Во вновь освоенных лугово-аллювиальных почвах легкие песчаные почвы содержат в среднем 34,9% крупного песка, 58,9 % пылевидных частиц, 6,2 % ила и 24,0% физической глины. В пахотном слое среднепесчаных грунтов песчаных частиц в среднем 20,9%, пылевидных частиц 69,6%, пылеватых частиц 9,5%. Большую часть частиц механического состава орошаемых лугово аллювиальных почв составляют легкие пески, причем отмечено, что в формировании механического состава этих почв большую роль сыграли легкие породы, вынесенные из пустынной зоны.

Грунтовые воды расположены на глубине 1,5-2,0 м. Близкое расположение их к поверхности земли наблюдается при промывке почвы солями и поливе в течение вегетационного периода. Близкое расположение минерализованных фильтрационных вод создало условия для развития в почвах вторичного засоления, в результате чего эти почвы относятся к слабо- и среднезасоленным, структурно-засоленным по хлоридно-сульфатному, сульфатно-хлоридному и хлоридному типам. Кроме того, установлено, что в составе солей мало солей кальция и магния, преобладают соли хлора.

При анализе разрезов, извлеченных из СЭП и ПСЭП, количество сухого остатка в слабозасоленных почвах составило в среднем 0,270-0,325%, а в среднезасоленных - 0,455-0,615%. В засолении орошаемых почв массива отмечены гидрогеологические условия района, строение рельефа, накопление в почвенном профиле легкорастворимых кристаллов солей в местах, где затруднен сток фильтрационных вод.

Количество гумуса в пахотном слое новоорошаемых лугово-аллювиальных почв колеблется в среднем от 0,74 до 1,19%, а ниже 55-80 см наблюдается резкое уменьшение гумуса. Изученные почвы малогумусированы, местами умеренно обеспечены гумусом.

В новорошаемых лугово-аллювиальных почвах количество подвижного фосфора в среднем 12,0-23,0 мг/кг, иногда 38,0-41,0 мг/кг, обменного калия в среднем 144,6-223,1 мг/кг, иногда 337,4-585 колеблется в районе .4. мг/кг (рис. №3).

В исследованиях отмечено, что обеспечение обменным калием недостаточное. Общий азот в этих почвах составляет в среднем 0,031-0,047%, общий фосфор 0,021-0,34%, калий 0,689-0,947%. В новоосвоенных лугово-аллювиальных почвах карбонаты в пахотном слое колеблятся в среднем около 7,31-

8,34%, а их количество увеличивается вниз.

В составе орошаемых луговых почв массива гипсы в виде кристаллов не встречаются, а в связи с их низким содержанием (0,010-0,013%) встречаются в почве в нижних слоях.

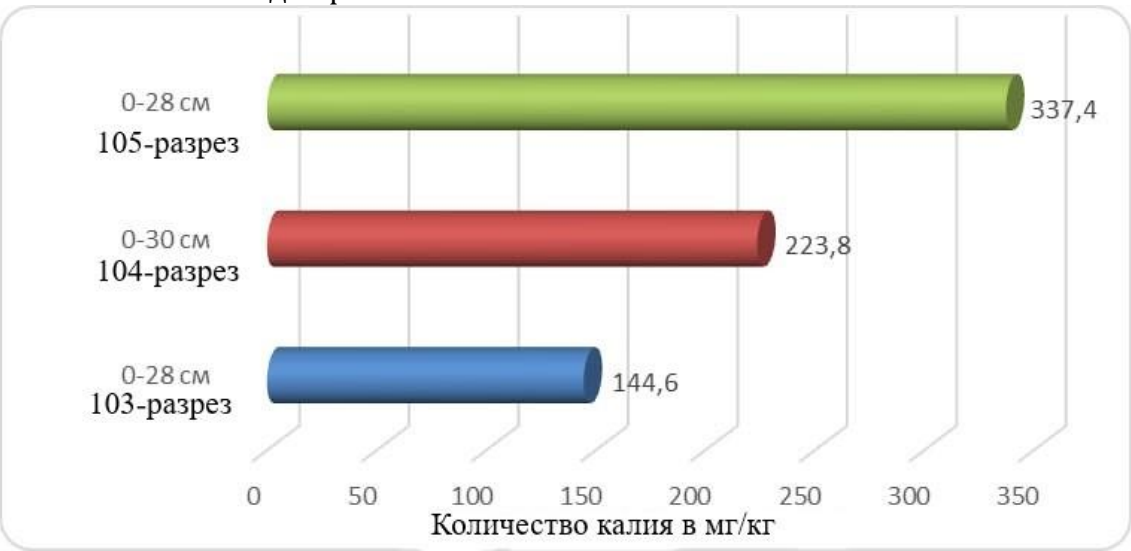


Рисунок №3. Количество обменного калия в пахотном слое новоосвоенных лугово-аллювиальных почв массива Узбекистан, мг/кг.

Отмечено, что орошаемые гидроморфные почвы массива Узбекистан на 100 % недообеспечены гумусом, слабо и средне обеспечены подвижным фосфором, мало и достаточно обменным калием.

Выводы. В 2017 году в Ходжайлинском районе определены процессы дегумификации в староорошаемые лугово-аллювиальные почвы Охунбобоевского массива 49,62%, новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы Янгиерского массива Элликкалинского района 85,16%, старо- и новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы Акмангитского массива Нукусского района 100%, Толкин Амударьинского района старо- и новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы массива 51,78%. Проведены мониторинговые исследования, которые установили, что новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы Абибуллаевского массива 100%, старо- и новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы Шороханского массива Торткольского района 51,57% и новоорошаемые лугово-аллювиальные почвы Маржанкольский массив в Тахтакопырском районе 67,48%. По данным проведённых исследований, проведенных на изучаемых орошаемых почвах, почвы района слабо обеспечены гумусом - до 1,0% на 51,5% земель, средне - свыше 1,0% - на 47,0 %, 1,5% земель - на 1,5. Отмечено, что 51,5% от общей площади орошаемых земель недообеспечены гумусом. При обеспеченности орошаемых почв исследуемых районов подвижным фосфором и обменным калием установлено, что 83,8% подвижными фосфора было мало, в среднем 11,5% и достаточно 4,7%; Обеспечены обменным калием 71,8%, средняя 19,5% и достаточная 8,7% земельных площадей, 0,5% почв сильно и очень сильно засолены. Отмечено, что причиной возникновения процессов дегумификации в орошаемых гидроморфных почвах области является результат многолетнего недостаточного возмещения элементов питания, выносимых сельскохозяйственными культурами.

Использованная литература

1. Рамазонов Б.Р., Муталов К.А., Файзиев В.Б., Кораев С.Б. (2020).

Морфогенетические характеристики и биологическая активность такырных и луговых почв республики Каракалпакстан (на примере почв Чимбайского района) *Журнал критических обзоров*, *7* (5), 243-249.

2. Рамазонов, Б.Р. (2018). Растительный мир осущенного дна аральского моря. In *Современное экологическое состояние природной среды и научно-практические аспекты рационального природопользования* (pp. 716-719).

3. Рамазонович, Р.Б., и Рамазон, К. (2018). Эволюция почв Приаралья под влиянием антропогенного опустынивания. *Обзор европейской науки*, (1-2), 24-28.

4. Муталов, К.А., Рамазонов, Б. Р., & Закиров, Д. У. (2020). Полукустарничковая растительность Юго Западного Кызылкума Материалы международной научно-практической конференции «Охрана и рациональное использование природных ресурсов Южного Приаралья» г.

5. Рамазонов, Б.Р., Рахимов, А.К., & Муталов, К.А. (2020). Районирование сельскохозяйственных культур на территориях Приаралья их эффективность и улучшение экологического состояния Аральского региона. *Биология ва экология электрон журнали*, *4*(2).

6. Рамазонов, Б. Р. (2017). Некоторые вопросы предотвращения отрицательных последствий опустынивания. In *современное экологическое состояние природной среды и научно-практические аспекты рационального природопользования* (pp. 117-120).

7. Ramazonov, B. R., & Kuziev, R. K. (2020). Soils of the dried part of the aral sea and problems of desertification. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, *24*(6), 565-577.

8. Рамазонов, Б. Р. (2021). Сельскохозяйственные культуры и их продуктивность в нижне амударьинском регионе. *Academic research in educational sciences*, *2*(1), 1001-1006.

9. Муталов, К. А., Рамазонов, Б. Р., & Гулматова, М. К. (2020). КЕЙРЕУКОВАЯ ФОРМАЦИЯ ЮГО-ЗАПАДНОГО КЫЗЫЛКУМА. *Биология ва экология электрон журнали*, *4*(2).

10. Рамазонов, Б. Р., Кузиев, Р. К., & Абдурахмонов, Н. Ю. (2016). Состояние земельных ресурсов низовьев Амударьи и меры по их рациональному использования. In *Почвоведение-продовольственной и экологической безопасности страны* (pp. 388-389).

11. Рамазонов, Б. Р. (2021). Противоэрозионные меры борьбы на склоновых землях и предгорных районах, процесы дезертификации. *Academic research in educational sciences*, *2*(5), 410-419.

12. Арабов С.А. и др. Методика мониторинга земель в Республике Узбекистан. Ташкент, 2011. 62 страницы.

13. Ахмедов Дж. и другие. Рекомендации по агротехнологиям ухода за хлопчатником. УзПИТИ. Ташкент. 2010 г., 29 стр.

14. Исманов А.Ж. Характеристика засоленных почв низового р. Амударья. Сборник научных статей Международную научно-практическую конференцию, посвященную 25-летию Прикаспийского НИИ аридного земли "Современные тенденции развития аграрного комплекса". ФГБНУ «Прикаспийский НИИ аридного земледелия». Россия. 2016. стр.344-348.

15. Кузиев Р. и другие. Инструкция по проведению почвенных изысканий и составлению почвенных карт для ведения государственного земельного кадастра. Нормативный документ, Ташкент, 2013. 52 стр.

16. Кузиев Р., Исманов А.Ю., Рамазонов Б.Р. Современное состояние орошаемых гидроморфных почв

Республики Каракалпакстан. Сельскохозяйственный журнал приложения Uzbekistan-Agro Science. 2017. № 3 (47). С. 84-86.

17. Методы изучения агрофизических, агрохимических и микробиологических свойств почв хлопковых полей. УзПИТИ. Ташкент, 1963 год.

Геномика, протеомика, биоинформатика
Genomics, proteomics and bioinformatics

УДК: 577.113.7+616-006.6

SIGNIFICANCE OF MDR1 GENE POLYMORPHISMS IN CANCER CHEMOTHERAPY

D.A.Kadirova[1], K.T.Normurodova[2], A.A.Ibragimov[3], Z.A.Norkobilova

[1]*Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan*

[2]*National University of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

[3]*Institute of Vaccines and Serums, Tashkent, Uzbekistan*

**Corresponding author email: d.kadyrova1949@mail.ru*

E-mail addresses of coauthors: normurodovak@gmail.com

Annotation. Revealing of genetic features at patients on polymorphic marker C3435T MDR1 gene allows to predict character of the pharmacological answer that gives the chance to raise efficiency and safety of application of medical products - a dose, frequency rate of introduction, an introduction way, replacement of medical products and real possibility of an individualization of pharmacotherapy at various oncological diseases. Definition of frequency of occurrence of genotypes among healthy donors and oncological patients with the diagnosis of breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma is spent. It is shown, that frequency of occurrence of homozygous TT genotype at breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma above, than occurrence of CC and CT genotypes.

Key words: cancer patients, chemotherapy, resistance markers, genotyping, genotype.

ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *MDR1* ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Д.А.Кадырова[1], К.Т.Нормуродова[2], А.А.Ибрагимов[3], З.А.Норкобилова[2]

[1]Институт биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана, г. Ташкент, Узбекистан

[2]Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан

[3]Институт вакцины и сыворотки, г.Ташкент, Узбекистан

*Соответствующий автор email: d.kadyrova1949@mail.ru

Адреса электронной почты соавторов: normurodovak@gmail.com

Аннотация. *Выявление генетических особенностей у пациентов по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1 позволяет прогнозировать характер фармакологического ответа, что дает возможность повысить эффективность и безопасность применения лекарственных средств - доза, кратность введения, путь введения, замена лекарственных средств, и реальная возможность индивидуализации фармакотерапии при различных онкологических заболеваниях. Проведено определение частоты встречаемости генотипов среди здоровых доноров и онкологических больных с диагнозом рак молочной железы и Неходжинская*

лимфома. Показано, что частота встречаемости гомозиготного генотипа ТТ при раке молочной железы и Неходжкинской лимфоме выше, чем встречаемость генотипов СС и СТ.

Ключевые слова: онкологические больные, химиотерапия, маркеры устойчивости, генотипирование, генотип

Введение

В настоящее время наблюдается значительный рост случаев онкологических заболеваний. Проблема своевременной диагностики и лечения онкологических заболеваний остается одной из наиболее актуальных тем для медицины. Во многом это обусловлено тем, что современные методы диагностики и лечения злокачественных образований достаточно сложны и специфичны. Несмотря, на многочисленные исследования в области изучения онкологических заболеваний, терапия данной патологии сталкивается с рядом трудностей, одной из которых является множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) опухолевых клеток к различным противоопухолевым препаратам. Лекарственная устойчивость злокачественных новообразований является одной из основных причин неэффективности лечения и их клинического прогрессирования. Данное свойство раковых клеток объясняет трудность лечения онкологических больных, т.к. опухоль нечувствительна к химиотерапии независимо от комбинации применяемых лекарств. Статус лекарственной устойчивости опухоли зависит и от генотипа индивидуума.

В основе генетических различий между людьми лежит множественный аллелизм, обусловленный полиморфными маркерами. Поэтому индивидуализация фармакотерапии сводится, в первую очередь, к выявлению полиморфных маркеров, ассоциированных с изменением реакции организма на действие различных химиопрепаратов, разработке методов генотипирования больных (выявлению аллельных вариантов полиморфных маркеров) и внедрению этой методологии в практическую медицину [4]. Генетические детерминанты вносят значимый вклад в развитие онкологического заболевания и позволяют прогнозировать «группу высокого риска» развития тяжелого течения заболевания и осложнений, а также подобрать терапию индивидуально, для конкретного больного. Определение персонального генотипа лекарственной устойчивости онкологических больных для прогноза индивидуального режима химиотерапии является решением данной проблемы. Изучение индивидуальных генетических особенностей пациента, приводящих к различиям в ответе организма на тот или иной препарат, развитие феномена МЛУ при лечении онкологических заболеваний в современной медицине являются актуальной проблемой и приобретают первостепенное значение. Необходимо отметить, что выявление генотипов чувствительности больных к

лекарственным препаратам имеет целый ряд преимуществ: снижение риска нежелательных эффектов; отсутствие потерь времени из-за ошибок вследствие применения неэффективных лекарств; повышение эффективности терапии; снижение стоимости лечения [1].

Целью настоящей работы является определение персонального генотипа лекарственной устойчивости онкологических больных по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1 для прогноза клинического течения и эффективности химиотерапии.

Материалы и методы исследования

При выполнении исследований были использованы образцы ДНК, полученные из лейкоцитов периферической крови больных, страдающих РМЖ (80 больных) и НХЛ (75 больных). Кровь онкологических больных получали в Отделении химиотерапии Республиканского онкологического научного центра МЗ РУз, В качестве контроля использованы ДНК лейкоцитов периферической крови здоровых доноров (45 доноров).

Выделение ядерной ДНК из лейкоцитов крови. Все процедуры проводили в стерильных условиях. К 0,5мл периферической крови добавляли 2мл стерильной H_2O, пробы инкубировали при комнатной температуре 2 часа. Клетки лейкоцитов осаждали при 3000 об/мин, 4°С, в течение 15 мин. Надосадочную жидкость аккуратно удаляли, к осадку желто-красных лейкоцитов добавляли 100 мкл стерильной дистиллированной воды и хранили при –20° С. К суспензии лейкоцитов ($1x10^6$) добавляли 1мл лизирующего буфера (100мМ Tris-HCl, pH 7,6; 25мМ ЭДТА pH 8,0; 0,15М NaCl; 1% SDS, 2мМ β-меркаптоэтанол), лизис проводили надо льдом 3 мин. Затем пробы центрифугировали при 3000 об/мин., 4°С, 15мин. Супернатант переносили в новые пробирки, добавляли равный объем смеси фенол-хлороформ (1:1), инкубация 15-20 мин при покачивании. Пробы центрифугировали 10 мин при 5000 об/мин, 4°С. К супернатанту добавляли хлороформ (1:2), инкубация при покачивании в течение 15-20 мин при 160 об/мин, пробы центрифугированием при 5000 об./мин, 4°С, 10 мин. Супернатант осаждали в 3 кратном объеме 96% этанола в присутствии 3М раствора ацетата натрия pH 5,2, пробы оставляли на ночь при – 20°С. Препараты ДНК промывали раствором 70%-го этанола. Полученные препараты ДНК можно хранить при –20°С, в течение месяца. Препараты ДНК/РНК и интактной ДНК анализировали, в 2%-м агарозном геле, содержащем 0,5мкг/мл этидиум бромида. Электрофорез вели 1ч при 100В, гель фотографировали в проходящих лучах УФ.

Синтез комплементарной ДНК для гена MDR1. Комплементарную ДНК для гена MDR1 синтезировали методом ПЦР с применением праймеров, специфичных для данного гена

:

forward
5'- GATGGCAAAGAAATAAAGCGACTG -3'
reverse
5'- ACCAGCCCCTTATAAATCAAACTA -3'

ПЦР проводили в инкубационной среде: 50мкл содержали 60 мМ трис-HC1 (pH 8,6), 6 мМ ЭДТА, 10 мМ β -меркаптоэтанола, 10 мкг/мл BCA, 1 мМ каждого из 4-х нуклеотидов, 2 ед. обратной транскриптазы. ПЦР имела всего 55 циклов. Синтез проводили при 72^{0}C в течение 4 мин. Последующие циклы включали денатурацию (1 мин, 94°C), отжиг праймеров (1 мин, 55°C), синтез кДНК (2 мин, 72°C). После 55 циклов амплификации пробы выдерживали 10 мин. при 72°C и затем охлаждали. После амплификации и рестрикции, продукты амплификации анализировали электрофорезом в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Рестрикционные фрагменты визуалировали в ультрафиолетовом трансиллюминаторе.

Электрофорез ПЦР продуктов проводили в 2% агарозе в TAE буфере, 100В, 1ч. Затем агарозный гель окрашивали в течение 15 мин в растворе этидиум бромида (0,5мкг/мл). Результаты электрофоретического анализа в геле визуально наблюдали через проходящие лучи УФ на трансиллюминаторе «Bio-Rad». Агарозный гель после электрофореза сканировали на денситометре, который анализирует интенсивность свечения ПЦР-продуктов. Полученное изображение полос обрабатывали с помощью комьютерного денситометра (Gel-Pro-Analizer 4.0).

Статистический анализ проводили с применением точного критерия Фишера.

Результаты исследования и обсуждение

Для достижения эффективности химиотерапии необходимо, чтобы терапевтическая концентрация лекарственных препаратов как в крови в целом, так и в клетках - «мишенях» была на высоком уровне. Генетические факторы выступают основным механизмом возникновения резистентности и могут быть связаны с аллельным полиморфизмом гена MDR1, который определяет внутриклеточную концентрацию лекарственных веществ. Данный ген отвечает за связывание с лекарственным веществом, попавшим в клетку, и выведение его в межклеточное пространство [2].

Ген MDR1 является высокополиморфным и имеет целый ряд аллельных форм, однако клинически значимы в основном нуклеотидные замены в 26-м экзоне (3435C> T), в 12-м экзоне (1236C> T) и в 21-м (2677G> T). Существование в генотипе аллеля T на участке 3435 приводит к повышенному выведению лекарств из клетки, снижая терапевтический эффект. Напротив, наличие аллеля с на участке 3435 приводит к низкому выведению лекарств из клетки, что и эффект лечения повышается [3]. Информация об аллельных вариантах гена MDR1 имеет важное значение для

персонализации терапии с целью повышения ее эффективности.

Выделение ДНК из клеток крови проведено с использованием фенол-хлороформного метода. В результате были получены ДНК с высокой молекулярной массой. Оценку качества препаратов ДНК проводили методом электрофореза в 0,9 % агарозном геле (Рис. 1е).

Методом ПЦР проводится амплификация ДНК с использованием специфических праймеров для гена MDR1. Полученный ПЦР - продукт был обработан рестриктазой Sau3A. После амплификации и рестрикции проводил электрофорез в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Рестрикционные фрагменты визуализировали в ультрафиолетовом трансиллюминаторе.

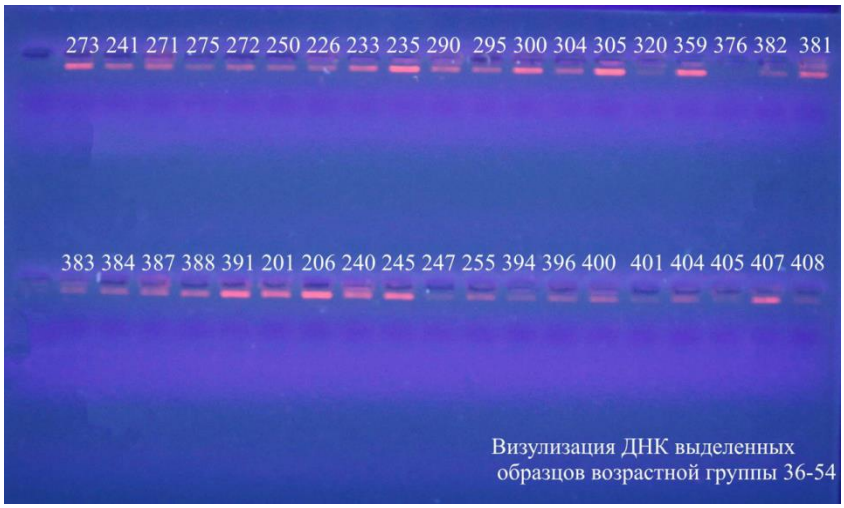


Рис.1. Электрофореграмма образцов ДНК, выделенных из крови лиц среднего возраста

[Fig.1. Electropherogram of DNA samples isolated from the blood of middle-aged individuals]

Генотипирование проводили на основе анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. В результате ПЦР амплификации региона SNP были получены ампликоны региона (3435C > T) гена MDR1 ожидаемой длины. На рисунке 2е представлена электрофореграмма генотипов по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1.

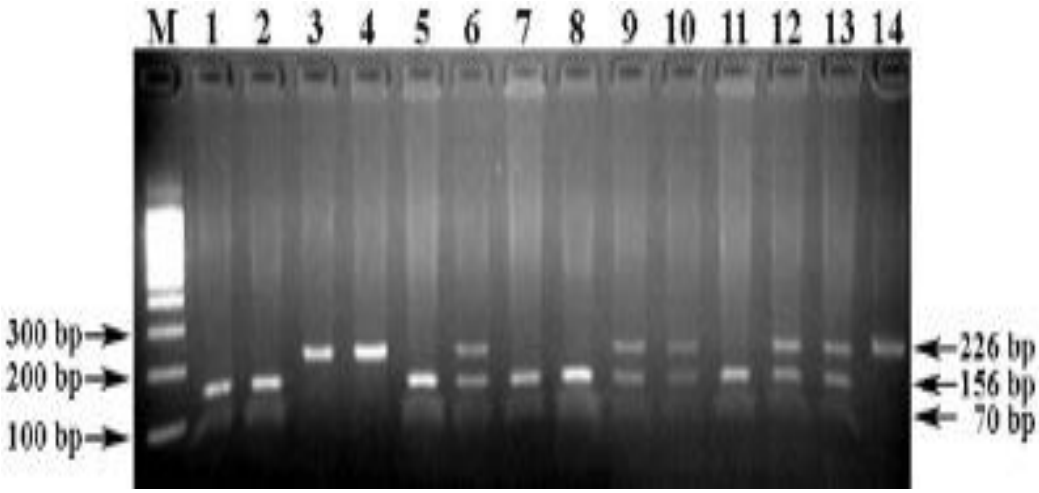


Рис.2. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ полиморфного маркера C3435T гена MDR1 и эндонуклеазным расщеплением ферментом Sau3A. M – ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим) 1–2, 5, 7–8, 11 – генотип TT (156/70 bp); 3–4 – генотип CC (226 bp); 6, 9–10, 12–13 – генотип CT (226/156/70); 14 – цельный ПЦР-продукт гена MDR1
[Fig.2. Electropherogram of the result of PCR-RFLP of the C3435T polymorphic marker of the MDR1 gene and endonuclease digestion with the Sau3A enzyme. M – DNA markers 100 bp (SibEnzyme) 1–2, 5, 7–8, 11 – TT genotype (156/70 bp); 3–4, SS genotype (226 bp); 6, 9–10, 12–13—CT genotype (226/156/70); 14 - whole PCR product of the MDR1 gene]

С целью выявления частоты встречаемости генотипов среди здоровых доноров и онкологических больных нами проведено генотипирование по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1. Полиморфный маркер C3435T гена MDR1, представляющий собой замену в нуклеотидной последовательности в положении 3435 цитозина на тимин, является наиболее клинически информативным [5]. Поэтому исследования проводились с использованием только данного маркера. Генотипы определяли по критерию присутствия сайта рестрикции: наличие фрагментов длиной (226/156/70) п.н. определяло генотип CT, фрагмента длиной 226 п.н. - генотип CC, двух фрагментов длиной 156/70 п.н. - генотип TT. Выявлены генотипы TT – устойчивый, CT – среднеустойчивый и CC – чувствительный к действию лекарственных препаратов. Результаты генотипирования показали разные варианты генотипов в каждой группе доноров. Генотип TT составляет 30% среди здоровых; 33% - рак молочной железы; 50% - Неходжкинская лимфома. Генотип CT составляет 40% -здоровые, 16,6% - рак молочной железы, 16,6 – Неходжкинская лимфома. Генотип CC составляет 30% - здоровые, 25% - рак молочной железы и 28,3% - Неходжкинская лимфома.

В таблице 1 приведены данные по частоте встречаемости генотипов больных чувствительных к химиотерапии по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1.

Таблица 1 [Table1.]

Частота встречаемости генотипов онкологических больных, чувствительных к химиотерапии (%)

[The frequency of occurrence of genotypes of cancer patients sensitive to chemotherapy (%)]

Диагноз	CC- генотип	TT- генотип	CT - генотип
Здоровые доноры	**30±0,8**	**30±1,6**	**40±1,8**
Рак молочной железы	**25±1,4**	**33±1,1**	**16,6±0,4**
Неходжинская лимфома	**28,3±0,9**	**50±0,8**	**16,6±0,6**

Из приведенных в таблице данных видно, что частота встречаемости гомозиготного генотипа TT у больных раком молочной железы и Неходжкинской лимфоме выше чем встречаемость генотипов CC и CT. Из литературных данных известно, что у носителей TT - генотипа отмечается нарушение экспрессии гена MDR1 на уровне транскрипции, что приводит к повышению количества гликопротеина-P, продукта экспрессии гена MDR1, повышенному выведению лекарственных средств из организма [6]. Носители T-аллеля составляют группу риска по развитию лекарственной устойчивости. В результате, у носителей TT - генотипа вероятно значительное понижение концентрации лекарственных средств в крови, что приводит к снижению эффекта лечения. Выявление генотипа TT по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1 позволяет прогнозировать рецидив заболевания, прогрессивное течение, наличие отдаленных метастазов, что указывает на неэффективность терапии [7].

Таким образом, генетический полиморфизм, обусловленный маркером C3435T, может быть важным фактором, определяющим как предрасположенность к онкологическим заболеваниям, так и устойчивость к лекарственной терапии. На основании полученных данных можно придти к заключению, что выявление генетических особенностей у пациентов по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1 позволяет прогнозировать характер фармакологического ответа, что дает возможность повысить эффективность и безопасность применения ЛС - доза, кратность введения, путь введения, замена ЛС и реальная возможность индивидуализации фармакотерапии при различных онкологических заболеваниях.

Заключение

Проведено определение генотипов чувствительности к лекарственным препаратам по полиморфному маркеру C3435T гена MDR1 среди здоровых доноров и онкологических больных с диагнозом рак молочной железы и Неходжкинская лимфома. Показано, что генотип TT гена MDR1 является устойчивым к действию ЛП и является маркером неэффективности проводимой химиотерапии. Показано, что частота встречаемости гомозиготного генотипа TT при раке молочной железы и Неходжкинской лимфоме выше, чем встречаемость генотипов CC и CT.

Литература

1. Ambudkar S.V., Dey S., Hrycyna C.A. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter//Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.- 2002. - V. 39. - P. 361-398.
2. Allen J.D., Schinkel A.H. Multidrug resistance and pharmacological protection mediated by the breast cancer resistance protein //Mol Cancer Ther. - 2002. - V. 1, N 6. - P. 427-434.
3. Drescher S., Schaeffeler E., Hitzl M. MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine//Br. J. Clin. Pharmacol. -2002.-V. 53.-P. 526-534.
4. Schwab M., Eichelbaum M., Fromm M. F. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter//Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.- 2020.- V. 43.- P. 285-307.
5. Glubb D.M., Innocenti F. Mechanisms of genetic regulation in gene expression: examples from drug metabolizing enzymes and transporters // WIREs Syst Biol Med. – 2011. – V. 3. – P. 299–313.
6. Gottesman M.M., Pastan I., Ambudkar V. P-glycoprotein and multidrug resistance //Curr. Opin. Genet. Dev.- 2006. - V. 6. - P. 610-617.
7. Raviv Y., Puri A., Blymental P. P-glycoprotein-over expressing and multidrug-ressistance cells//FASEB J.- 2000.-V.14.- P.511-515.

Авторский коллектив:
Кадырова Дилбар Абдуллаевна – д.б.н., гл.н.с., Институт биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана, г. Ташкент, Узбекистан (100174, г. Ташкент, ул. Университетская 4) *e-mail: d.kadyrova1949@mail.ru*
Нормуродова Кундуз Тогаевна – д.б.н., заведующий кафедры Микробиологии и биотехнологии, Национальный университет Узбекистана,
e-mail: normurodovak@gmail.com
Ибрагимов Адыл Ахмедович – д.б.н., с.н.с. Институт вакцины и сыворотки, г.Ташкент, Узбекистан (100084, Юнусабадский район, ул. Чингиза айтматова, 37)
e-mail: tashniivs@mail.ru
Норкобилова Зулайҳо Абдикодировна. – магистр 2-курс, Национальный университет Узбекистана
(100174, г. Ташкент, ул. Университетская 4)
Acknolegments: Исследование выполнено Институт биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана
The study was carried out by the Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan

Юбилеи
Anniversaries

ЮБИЛЕЙ

НАУЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ АКАДЕМИКА АРИПОВОЙ ТАМАРАХОН УКТАМОВНЫ

Препадователь кафедры Генетика и эволюцтонная биология ЧГПУ – Закиров Дониёр Уткирович, d.zakirov@cspi.uz
Студентка факультета Естественных наук, направление биология, 1-курс – Мадиева Набира

Тамарахон Уктамовна Арипова родилась (11.07.1953 году) в Самарканде.

Закончила с отличием в 1965году Самарканский Государственный Медицинский институт. Доктор медицинских наук, профессор, академик узбекской академии наук.

В 1976 году окончила ташкентский медицинский институт. Работала в институте кардиологии, институте курортологии и физиотерапии, в ташкентском медицинском институте, институте иммунологии, прошла все ступени профессионального роста и научного развития.

Имеет **350 научных публикаций, среди них 10 монографий, 2 патента** на использование и проведение новых лечебных методик, **3 международных удостоверения** на изобретения, **45 методических** признанных во всем мире рекомендаций на применение.

Т.Арипова – ведуший в мире ученый в области иммунологии и иммуногенетики. Ее научные исследования простираются на рассмотрение и изучение этногенеза популяций в Центральной Азии, двойственные иммуннодефицитные обстоятельства (ОИВ/ОИТС, В и С гепатиты, TORCH-инфекции, онкологические, аллергические, эндокринные и аутоиммунные болезни), изучение механизмов развития иммунологии и иммуногенетики и на их основе выдвижения новых методик и технологий по иммунологической и генетической диагностике и лечению взрослых и детей.

Под руководством Т.Ариповой разработана карта имунного статуса населения Узбекистана, иммунологический и генетический паспорта. Впервые в мире выдвинута новая методика определения генома вирусов в периферических клетках человеческой крови. Она получила международный грант в размере 5 млн евро для исследований на тему «Марказий Осиё ва Европа популяцияларида преэклампсиянинг генетик тадқиқотлари» - “Генетические исследования преэклампсии популяций Центральной Азии и Европы”, так

оценили ее предыдущие работы и доклады европейские ученые – медики, и в этом заслуга ее гениального ума, высочайших знаний и великой работоспособности. Она

Под ее научным руководством успешно защищены **7 докторских и 13 кандидатских диссертаций** Т.Арипова главный редактор научно – медицинского журнала «Назарий ва клиник тиббиёт журнали» - “Теоретический и клинический медицинский журнал ”муҳаррири, а также участвует в редакционной коллегии российских научных журналов «Инфекция, иммунитет и фармакология» и «Иммунология» (Россия, Москва). Она в **2006 году** создала научно – диагностический центр «Иммуноген тест» при институте иммунологии.

также руководила важнейшими международными научно – медицинскими проектами, организованными в научных центрах **России, Франции, Японии.**

С 2013 года Т.Арипова является председателем специализированных советов по защите докторских диссертаций институте иммунологии и ташкентской медицинской академии.

Т.Арипова удостоена золотой медали и диплома «Di Merito» Европейской научно – промышленной палаты “За большой вклад в развитие медицины и образцовую профессиональную деятельность”. В **2015 году** она удостоилась золотой медали и диплома Российского иммунологического и аллергологического научного общества «За великие успехи в области иммунологии». В **2019 году** награждена орденом «Меҳнат шуҳрати”.

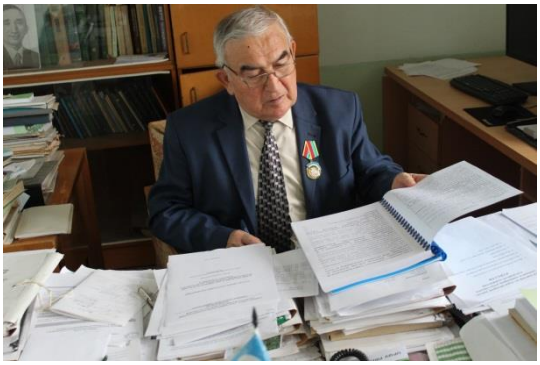
В **2016 году** она создала научный центр иммунологии, а в **2018 году** на базе центра институт иммунологии и геномики человека узбекской академии наук, где является директором. "Заслуженный работник здравоохранения Узбекистана". Лауреат Премии Нодирабегим. Награждена Орденом Знак Почета.

Память
Memory

ПАМЯТИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ПРОФЕССОРА МИРАДХАМ ФУЗАИЛОВИЧА АБЗАЛОВА

И.Дж.Курбанбаев
зав.лабораторией ИГЭБР АН РУз, д.б.н., проф.
С.К.Абдушукирова
м.н.с. ИГЭБР АН РУз.
А.М.Аманов
м.н.с. ИГЭБР АН РУз.
Л.Ф.Агаева
ИГЭБР АН РУз.

Мирадхам Фузаилович Абзалов родился 14 марта 1941 года. После окончания Ташкентского сельскохозяйственного института (ныне Таш ГАУ) в 1967-1990 годах плодотворно работал доцентом и заведующим кафедрой генетики биологического факультета Национального университета Узбекистана. С 1990 года возглавлял лабораторию «Частной и прикладной генетики растений» имени академика С.Садыкова института Генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан.



М.Ф. Абзалов - был крупнейшим специалистом в области генетики и селекции растений. В Национальном университете Узбекистана под руководством академика Ж.А.Мусаева он активно участвовал в создании признанной мировыми учеными «Генетической коллекции хлопчатника», проводил научно-исследовательскую работу по генетике морфобиологических и хозяйственно-ценных признаков хлопчатника. В 1991 году защитил докторскую диссертацию на специализированном ученом совете института Общей генетики им. Н.И.Вавилова Российской академии наук. С 1992 г. доктор биологических наук, с 1993 г. профессор кафедры генетики биологического факультета НУУз по специальности 03.00.15 - генетика, с 1994 г. - действительный член Нью-Йоркской академии наук.

В своих научных исследованиях по генетическому анализу морфобиологических и хозяйственно ценных признаков хлопчатника, в результате изучения взаимодействия генов, контролирующих форму листа, и генов, контролирующих ветвление, ему удалось установить генетическую природу совершенно нового для хлопчатника детерминантного типа роста. Этот морфотип хлопчатника впервые выявлен в роде *Gossypium* L. Используя эту форму в дальнейшей практической селекции, можно увеличить урожайность хлопчатника в 1,5-2 раза за счет кратного увеличения количества кустов хлопчатника на единице площади, что позволяет собирать урожай за один раз и за короткое время. Под его руководством было выделено несколько линий этого морфотипа хлопчатника.

М.Ф.Абзалов расширил свою научную деятельность в институте Генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Узбекистана. Учитывая роль растения сои в обеспечении продовольственной безопасности страны и возможности повышения плодородия почв, в 1997 г. он ввел культуру сои в научную

программу института. Под его руководством были успешно реализованы фундаментальные, прикладные и инновационные проекты, посвященные сбору генофонда культуры сои - новой для Республики культуры, определению ее биологических особенностей и формированию ее генетической коллекции.

Благодаря его активности было собрано более 130 ее разновидностей, что послужило основой создания генофонда сои. В дальнейшем из собранного материала им выделено более 40 генетических коллекционных линий и в результате изучения генетики морфобиологических, хозяйственно ценных признаков в короткий срок создал два новых сорта сои - «Генетик-1» в 2009 году и «Сочилмас» - 2015 году, которые были внесены в Госреестр культур нашей страны. Сорт сои Генетик-1 очень скороспелый (85-90 дней), фотонейтральный, содержание белка - 50%, масла - 21%. Получены патенты Агентства интеллектуальной собственности на сорта сои Генетика-1 (№NAP00091) и Сочилмас (№NAP20150003). Эти сорта, которые можно возделывать как основную так и повторную культуру (после озимой пшеницы) получили признание у фермеров. Кроме того отмечено повышение плодородия (бонитет) почвы за счет деятельности клубеньковых бактерий по фиксации атмосферного азота.

Учеными института Биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан получен противораковый препарат «Биокор» из белка семян сои сорта Генетик-1, и в настоящее время этот препарат успешно прошел клинический контроль.

В номинации «Лучшее селекционное достижение» конкурса «Best IP-2019» на лучшие объекты интеллектуальной собственности, организованного Агентством по интеллектуальной собственности при Министерстве юстиции Республики Узбекистан, победителем признан сорт сои Сочилмас и награжден дипломом I степени и денежной премией.

ДИПЛОМ
I даражали
"Best IP - 2019" - энг яхши интеллектуал мулк объектлари учун танловининг
"ЭНГ ЯХШИ СЕЛЕКЦИЯ ЮТУҒИ"
номинацияси бўйича
Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси
Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти
ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ АДЛИЯ ВАЗИРЛИГИ ҲУЗУРИДАГИ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛ МУЛК АГЕНТЛИГИ
Соянинг "Сочилмас" нави селекция ютуғи учун тақдирланади
Интеллектуал мулк агентлиги
Директор в.в.б Б. Сагдуллаев
Тошкент-2019

В настоящее время его работы по сое продолжает научный коллектив лаборатории «Генетики, селекции и семеноводства бобовых и масличных культур». Продолжаются научные исследования по обогащению и

изучению генетической и ботанической коллекции сои, которые насчитывают уже более 300 сортообразцов. В результате этих работ созданы и внедрены в практику новые сорта сои «Эхтиёж» и «Хотира». Эти сорта отличаются от других сортов более высокой урожайностью и повышенным содержанием белка и масла в зерне.

Наряду с научной работой М.Ф.Абзалов проводил активную деятельность по подготовке высококвалифицированных научных кадров. Результаты его научных работ получили освещение в более чем 200 публикациях, из них - 105 за период независимости, в том числе: 4 монографии (Генетический анализ признаков хлопчатника G.hirsutum L., Ташкент, 2005 г, 120 стр., Взаимодействие генов у хлопчатника G.hirsutum L., Ташкент, Фан, 2008 г, 120 стр., G.hirsutum L. ғўзада генларнинг ўзаро таъсири., Ташкент, Фан, 2010 г., 140 стр., Генетика морфологических-маркёрных и структурных признаков хлопчатника, Ташкент, 2010 г., 60 стр.) 24 статьи опубликованы в международных журналах, 52 доложены на международных и республиканских конференциях. В 2018 году в Андижанском государственном университете под его руководством издан учебник «Генетика хлопчатника», который используется как учебное пособие.

М.Ф.Абзалов активно участвовал в Республиканских ярмарках инновационных идей, технологий и проектов, проходивших в г.Ташкенте (2008-2017 гг.). Под его руководством защищено 9 кандидатов и докторов наук, из них 3 кандидатские и 2 докторские диссертации защищены в годы независимости. В рамках программ подготовки кадров, при подготовке научно-педагогических кадров, в Андижанском государственном университете и Ташкентском государственном аграрном университете, помимо чтения лекций по предметам «Общая генетика и основы селекции», «Генетика хлопчатника», он также активно работал при подготовке молодых кадров в качестве руководитель-консультанта для многих бакалавров и магистров.

В течении многих лет он был членом ученого совета Института генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан, председателем комиссии по квалификационным экзаменам, членом ученого совета по присуждению ученых степеней, а также председателем научного семинара.

Большой вклад М.Ф.Абзалова в науку Республики был признан нашим государством, и в 2018 году он был награжден орденом «Мехнат шухрати».

Абзалов М. Ф. скончался 28 сентября 2020 года. Он был выдающимся ученым, всю свою жизнь посвятившим развитию науки в нашей республике. Светлая память о нашем учителе навсегда останется в наших сердцах.

Согласно решению Высшей аттестационной комиссии Республики Узбекистан от 31 марта 2023 года № 332/5/6 публикация основных научных результатов диссертаций по биологическим наукам включена в перечень рекомендуемых национальных научных изданий.

According to the decision of the Higher Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan dated March 31, 2023 No. 332/5/6, the publication of the main scientific results of dissertations in biological sciences is included in the list of recommended national scientific publications.