

ЎЗБЕКИСТОН RESPUBLIKASI FANLAR AKADEMIYASI
АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

**ЎЗБЕКИСТОН
БИОЛОГИYA
JURNALI**

4

2019

**УЗБЕКСКИЙ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

Издается с января 1957 г. по 6 номеров в год

ТАШКЕНТ – 2019

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Б.А. ТАШМУХАМЕДОВ (главный редактор)
И.У. АТАБЕКОВ (ответственный секретарь)
А.А. АБДУКАРИМОВ
Дж.А. АЗИМОВ
Т.Ф. АРИПОВ
М.И. МАВЛОНИЙ
И.М. МИРАБДУЛЛАЕВ
В.П. ПЕЧЕНИЦЫН
Т.С. СААТОВ
Р. САБИРОВ
Дж. С. САТТАРОВ
П.Б. УСМАНОВ

Адрес редакции:
100047, Ташкент, ул. Я. Гулямова, 70.

Телефон (71)232-11-81

На обложке:

Саид-Алиев тўғаракбоши

Круглоголовка Саид-Алиева

Phrynocephalus helioscopus (Pallas, 1771)

ssp. saidalievi Sattorov, 1981

Журнал зарегистрирован Агентством по печати и информации Республики Узбекистан 22.12.2006
Регистрационный номер 0052.

БИОХИМИЯ И БИОФИЗИКА

О.Н. АШИРОВ, С.А. САСМАКОВ, Ж.М. АБДУРАХМАНОВ, Ш.Ш. ХАСАНОВ, А.А. МАХНЕВ,
Ф.Б. ЭШБОЕВ, Э.Г. ЮСУПОВА, Ш.С. АЗИМОВА

КЛОНИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЛАЗМИД PPIC3.5-S И PPIC9-S, КОДИРУЮЩИЕ S РЕГИОН ВИРУСА ГЕПАТИТА В ЧЕЛОВЕКА (HBV) В GS115 *PICHLA PASTORIS*

genlab_icps@yahoo.com

О.Н. Аширов, С.А. Сасмаков, Ж.М. Абдурахманов, Ш.Ш. Хасанов, А.А. Махнев,
Ф.Б. Эшбоев, Э.Г. Юсупова, Ш.С. Азимова

GS115 *PICHLA PASTORIS* АЧИТҚИСИДА ОДАМ ГЕПАТИТ В ВИРУСИ (HBV) S РЕГИОНИНИ КОДЛОВЧИ PPIC3.5-S ВА PPIC9-S РЕКОМБИНАНТ ПЛАЗМИДАЛАРИНИ КЛОНЛАШ

pPIC3.5 va pPIC9 achitqi vektorlari asosida, 681 n.j. o'lchamdagi odam gepatit B virusi (HBV) S regionini kDNK saqlovchi rekombinant plazmid DNKlar pPIC3.5-S (8426 n.j.) va pPIC9-S (8680 n.j.) konstruktisyalandi. Olingan plazmidalar GS115 *Pichia pastoris* achitqi shtammida rekombinant S oqsili expressiyasi uchun ishlatilishi mumkin.

Kalit so'zlar: rekombinant plazmidalar, achitqi expressiya tizimi, *Pichia pastoris*, GS 115 shtammi, klonlash.

О.Н. Аширов, С.А. Сасмаков, Ж.М. Абдурахманов, Ш.Ш. Хасанов, А.А. Махнев,
Ф.Б. Эшбоев, Э.Г. Юсупова, Ш.С. Азимова

КЛОНИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЛАЗМИД PPIC3.5-S И PPIC9-S, КОДИРУЮЩИЕ S РЕГИОН ВИРУСА ГЕПАТИТА В ЧЕЛОВЕКА (HBV) В GS115 *PICHLA PASTORIS*

На основе дрожжевых векторов pPIC3.5 и pPIC9 были сконструированы рекомбинантные плазмидные ДНК pPIC3.5-S (8426 п.н.) и pPIC9-S (8680 п.н.), содержащие кДНК S-региона вируса гепатита В человека (HBV), размером 681 п.н. Полученные плазмиды могут быть использованы для экспрессии рекомбинантного белка S в штамме дрожжей GS115 *Pichia pastoris*.

Ключевые слова: рекомбинантные плазмиды, дрожжевая система экспрессии, *Pichia pastoris*, штамм GS115, клонирование.

O.N. Ashirov, S.A. Sasmakov, J.M. Abdurakhmanov, Sh.Sh. Khasanov, A.A. Makhnev, F.B. Eshboev, E.G. Yusupova, Sh.S. Azimova

CLONING OF RECOMBINANT PLASMIDS PPIC3.5-S AND PPIC9-S ENCODING THE S REGION OF THE HUMAN HEPATITIS B VIRUS (HBV) IN GS115 *PICHLA PASTORIS*

Based on the yeast vectors pPIC3.5 and pPIC9 the recombinant plasmid DNAs pPIC3.5-S (8426 bp) and pPIC9-S (8680 bp) containing cDNA of S region of the human Hepatitis B virus (size of 681 b.p.) were constructed. The obtained plasmids can be used for expression of recombinant S protein in GS115 *Pichia pastoris* yeast strain.

Key words: recombinant plasmids, yeast expression system, *Pichia pastoris*, GS115, cloning.

Введение. На сегодняшний день одним из наиболее прогрессивных систем экспрессии, позволяющих получить рекомбинантные белки является дрожжевая система *Pichia pastoris*. *Pichia pastoris* представляет собой метилотрофные дрожжи, способные метаболизировать метанол в качестве источника углерода. Накопление значительной биомассы при культивировании на недорогих питательных средах, отсутствие эндотоксинов и пирогенов, более высокий уровень синтеза рекомбинантных белков [1-6] и др. особенности придают *Pichia pastoris* полезные качества при экспрессии гетерологических белков по сравнению с другими эукариотическими системами экспрессии, например, такими как культура тканей млекопитающих [7-9]. Выход рекомбинантных белков в большой степени зависит от используемых для их экспрессии генетических конструкций (рекомбинантных плазмид) и источников репликации [10-14]. Основой коммерческих вакцин и диагностикумов к Вирусу гепатита В человека (HBV) является S-белок соответствующий "S региону" поверхностного антигена HBV (226 аминокислот, 24-26 кДа). Известны рекомбинантные

плазмидные ДНК, сконструированные на основе трансферных векторов pA0802 [15], pHBS-5, pHBS-56 [16], pPIC3.5K, pA0815 [17] и др. содержащие S ген HBV и кодирующих соответствующий белок в различных штаммах *Pichia pastoris*. Целью данной работы являлся клонирование рекомбинантных плазмид, кодирующие вышеуказанный белок в штамме GS115 *Pichia pastoris*.

Материалы и методы. Подготовка векторов и вставки (гена) для лигирования.

1 мкг векторных плазмид pPIC3.5 и pPIC9 обрабатывали последовательно рестриктазами BamHI/EcoRI и XhoI/EcoRI фирмы «New England Biolabs» (США). Линейные ДНК длиной 7745 п.н. и 7999 п.н. выделяли после электрофореза в 0,7%-ном агарозном геле методом электроэлюции [19].

кДНК S ген (вставка), размером 681 п.н. амплифицировали методом ПЦР, используя в качестве матрицы ДНК, выделенного из плазмы крови человека зараженного вирусом гепатита В с помощью следующих праймеров:

1) Forward – BamHI 5'-ACTGAGGATCCTGCACCGAACATG-3' (для плазмиды pPIC3.5); XhoI 5'-CTGCACTCGAGATGGAGAACATCACATCAGGAT-3' (для плазмиды pPIC9)

2) Reverse – EcoRI 5'-GGTTTATTAGAAATTCAAATGTATACCCAAAGACA-3'.

Продукт амплификации (вставку) очищали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле методом электроэлюции [19].

Лигирование и трансформация полученных плазмид в электрокомпетентные клетки E.coli Neb-5α. Анализ полученных клонов.

Лигирование проводили с применением ДНК-лигазы фага Т4 с подготовленным вектором и вставки в молярном соотношении 1:10 (вектор : вставка) по стандартной методике [19]. Далее лигазной смесью трансформировали компетентные клетки штамма *Escherichia coli* NEB-5α. Скрининг полученных клонов был проведен методом ПЦР с применением вышеуказанных праймеров. Продукты амплификации анализировали методом электрофореза в 1%-ном агарозном геле.

Трансформация полученных рекомбинантных плазмид в дрожжи Pichia pastoris штамма GS115. Анализ полученных клонов.

Трансформацию рекомбинантных плазмид, содержащих целевые гены в клетки *Pichia pastoris* штамма GS115 проводили методом электропорации. Скрининг полученных рекомбинантных клонов был проведен методом ПЦР с применением праймеров к S региону вируса гепатита В и праймеров со следующими структурами для выявления интеграции целевого гена в геном *Pichia pastoris*:

5' AOX1 – 5'-GACTGGTTCCAATTGACAAGC-3'

3' AOX1 – 5'-GCAAATGGCATTCTGACATCC -3'

Альфа-фактор – 5'-ТАСТАТТGCCAGCATTGCTGC -3'

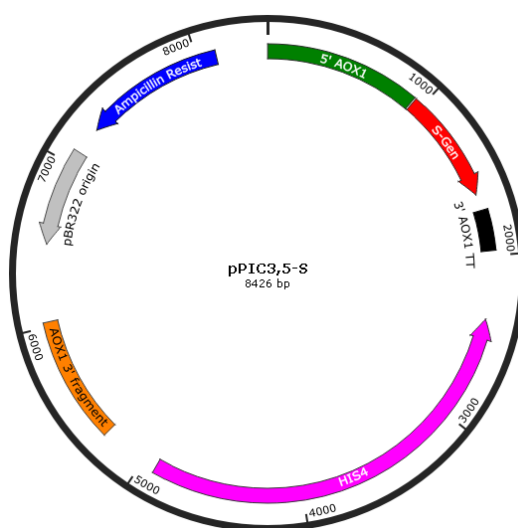


Рис. 1. Физическая карта рекомбинантной плазмиды pPIC3.5-S.

Плазмидная ДНК рPIC9-S (8680 п.н.) создана на основе вектора рPIC9, которая разработана для внеклеточной (секретируемой) экспрессии белков в GS115 *Pichia pastoris*. рPIC9 содержит аналогичные фрагменты, а также сигнальные последовательности альфа-фактора (249 п.н.) для секреции экспрессируемого белка в питательную среду (рисунок 2) [18].

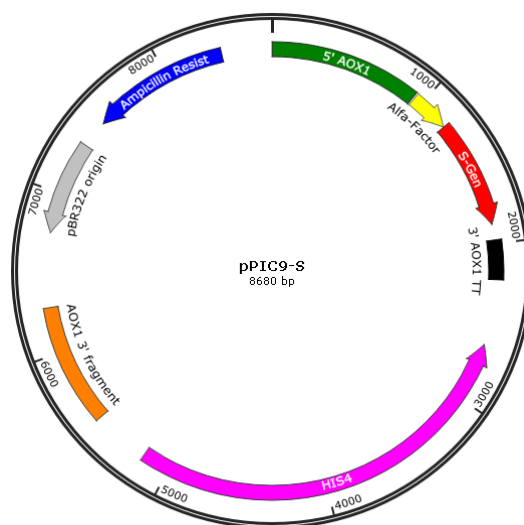


Рис. 2. Физическая карта рекомбинантной плазмиды рPIC9-S.

На рисунке 3 приведены результаты ПЦР анализа рекомбинантных клонов: фрагмент ДНК с молекулярной массой (**А и В**), соответствующей массе амплификата в контрольном образце (**Е**) по окончании ПЦР свидетельствовал о наличии вставки в исследуемых плаزمидях.

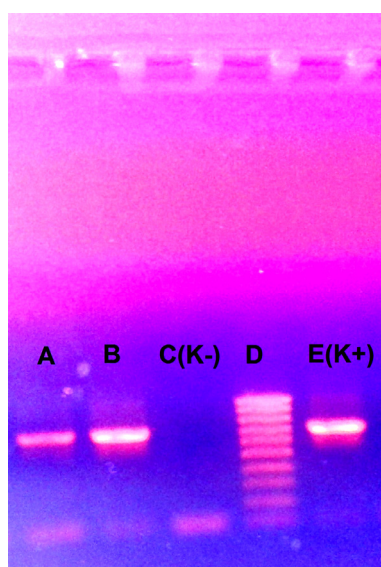


Рис. 3. Результаты ПЦР анализа рекомбинантных клонов.

А – рPIC3.5-S; **В** – рPIC9-S; **С (К-)** – ДНК, выделенная из крови HBV отрицательных людей; **Д** – ДНК линейка (Маркер); **Е (К+)** – ДНК, выделенная из крови HBV «положительных» пациентов.

Анализ результатов. Сконструированы рекомбинантные плазмидные ДНК рPIC3.5-S (8426 п.н.) и рPIC9-S (8680 п.н.), содержащие фрагмент гена S, размером 681 п.н., кодирующие S регион вируса гепатита В человека.

Плазмидная ДНК рPIC3.5-S (8426 п.н.) создана на основе вектора рPIC3.5, который разработан для внутриклеточной экспрессии белков в GS115 *Pichia pastoris*. На рисунке 1 приведена физическая карта плазмидной ДНК рPIC3.5-S, включающая следующие элементы: Фрагмент промотора 5' AOX1: нуклеотиды 1 – 937, фрагмент S-ген (вставка): нуклеотиды 944 – 1624, фрагмент

терминации транскрипции 3' АОХ1 ТТ: нуклеотиды 1724 – 1970, фрагмент HIS4: нуклеотиды 2383 – 4917, фрагмент 3' АОХ1: нуклеотиды 5272 – 6028, фрагмент pBR32 origin: нуклеотиды 6497 – 7085, фрагмент гена резистентности к ампициллину: нуклеотиды 7256 – 8116 [18].

Заключение. На основе трансферных векторов pPIC3.5 и pPIC9 сконструированы новые рекомбинантные плазмиды pPIC3.5-S (8426 п.н.) и pPIC9-S (8680 п.н.), которые могут быть использованы для экспрессии рекомбинантного S белка в дрожжах GS115 *Pichia pastoris*.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках ГНТП (№ ПЗ-20170926277) Министерства Инновационного развития Республики Узбекистан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmad M., Hirz M., Pichler H., Schwab H. Protein expression in *Pichia pastoris*: recent achievements and perspectives for heterologous protein production // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014, 98:5301–5317.
2. Vogl T., Hartner F.S., Glieder A. New opportunities by synthetic biology for biopharmaceutical production in *Pichia pastoris* // *Current Opinion in Biotechnology.* 2013, 24:1094–1101.
3. Bollok M., Resina D., Valero F., Ferrer P. Recent patents on the *Pichia pastoris* expression system: expanding the toolbox for recombinant protein production // *Recent Pat Biotechnol.* 2009, 3:192–201.
4. Gasser B., Prielhofer R., Marx H., Maurer M., Nocon J., Steiger M., Puxbaum V., Sauer M., Mattanovich D. *Pichia pastoris*: protein production host and model organism for biomedical research // *Future Microbiol.* 2013, 8:191–208.
5. Spohner S.C., Quitmann H., Czermak P. Expression of enzymes for the usage in food and feed industry with *Pichia pastoris* // *Journal of Biotechnology.* 2015, 202:118.
6. Macauley-Patrick S., Fazenda M.L., McNeil B., Harvey L.M. Heterologous protein production using the *Pichia pastoris* expression system // *Yeast*, 2005, 22:249–270.
7. Shi X.-L., Feng M.-Q., Shi J., Shi Z.-H., Zhong J., Zhou P. High-level expression and purification of recombinant human catalase in *Pichia pastoris* // *Protein Expr Purif.* 2007, 54:24–29.
8. Hirz M., Richter G., Leitner E., Wriessnegger T., Pichler H. A novel cholesterol-producing *Pichia pastoris* strain is an ideal host for functional expression of human Na, K-ATPase $\alpha\beta 1$ isoform // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013, 97:9465–9478.
9. Hamilton S.R., Gerngross T.U. Glycosylation engineering in yeast: the advent of fully humanized yeast // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007, 18, 387–392.
10. Araya-Garay J.M., Feijoo-Siota L., Rosa-dos-Santos F., Veiga-Crespo P., Villa T.G. Construction of new *Pichia pastoris* X-33 strains for production of lycopene and β -carotene // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012, 93:2483–2492.
11. Stadlmayr G., Mecklenbräuer A., Rothmüller M., Maurer M., Sauer M., Mattanovich D., Gasser B. Identification and characterization of novel *Pichia pastoris* promoters for heterologous protein production // *J. Biotechnol.* 2010, 150:519–529.
12. Vogl T., Glieder A. Regulation of *Pichia pastoris* promoters and its consequences for protein production // *Nat Biotechnol.* 2013, 30:385–404.
13. Idiris A., Tohda H., Kumagai H., Takegawa K. Engineering of protein secretion in yeast: strategies and impact on protein production // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010, 86:403–417.
14. Nett J.H., Hodel N., Rausch S., Wildt S. Cloning and disruption of the *Pichia pastoris* ARG1, ARG2, ARG3, HIS1, HIS2, HIS5, HIS6 genes and their use as auxotrophic markers // *Yeast* 2005, 22:295–304.
15. Патент. US5670630. Gregory P. Thill. Expression of Hepatitis B S and Pres2 Proteins in Methylophilic. 23.09.1997.
16. Патент. EP0226846 A1. Juerg Friedrich Tschopp, Yeast production of hepatitis B Surface antigen, 01.07.1987.
17. Tam Y.J., Zeenathul N.A., Morvarid A.R., Mohd Azmi M.L., Bahaman A.R., Lo S.C., Tan J.S. Two-phase fed-batch modification for 48 hour peak expression of hepatitis B surface antigen in *Pichia pastoris* shake flask system // *Central European Journal of Biology*, 2014, Vol. 9(8), pp. 749–760.
18. Deng Ning, Xiang Junjian, Zhang Qing, Xiong Sheng, Chen Wenying, Rao Guirong and Wang Xunzhang, Production of Recombinant Humanized Anti-HBsAg Fab Fragment from *Pichia pastoris* by Fermentation // *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, Vol. 38 (3), pp. 294–299.

19. Green M.R., Sambrook J. // *Molecular cloning. A laboratory manual. Fourth edition.* New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.

Институт химии растительных веществ

Дата поступления
05.10.2018

**Г.А. ТОШТЕМИРОВА, Р.Ш. КУРБАННАЗАРОВА, С.И. РУСТАМОВА, Н.А. ЦИФЕРОВА,
П.Г. МЕРЗЛЯК, Р.З. САБИРОВ**

**ЭФФЕКТ БЛОКИРОВАНИЯ ОБЪЕМ-ЗАВИСИМОГО АНИОННОГО КАНАЛА
НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ТИМОЦИТОВ КРЫС**

toshtemirova87@mail.ru

Г.А. Тоштемирова, Р.Ш. Курбанназарова, С.И. Рустамова, Н.А. Циферова, П.Г. Мерзляк, Р.З. Сабиров
**КАЛАМУШ ТИМОЦИТЛАРИ ПРОЛИФЕРАЦИЯСИГА ҲАЖМГА БОҒЛИҚ АНИОН КАНАЛИ
БЛОКЛАНИШИНИНГ ТАЪСИРИ**

Ҳажмга боғлиқ анион канали блокатори – DCPIBнинг гипоосмотик стресс шароитида тимокитлар ҳажм бошқарилишига ва пролиферациясига дозага боғлиқ таъсири ўрганилди. DCPIB тимокитлар ҳажм бошқарилишини дозага боғлиқ ингибирлади ва ярим-максимал эффекти $1,14 \pm 0,15$ мкМ га, Хилл коэффиценти эса $0,68 \pm 0,06$ га тенг бўлди. DCPIB каламуш тимокитлари пролиферациясини икки фазали ингибирлади, паст концентрацияларда ($<0,25$ мкМ) камайтириб, $0,5$ мкМ ва ундан юқори концентрацияларда пролиферацияни оширди.

Калит сўзлар: тимокитлар, DCPIB, хужайра ҳажм бошқарилиши, хужайра пролиферацияси.

Г.А. Тоштемирова, Р.Ш. Курбанназарова, С.И. Рустамова, Н.А. Циферова, П.Г. Мерзляк, Р.З. Сабиров
**ЭФФЕКТ БЛОКИРОВАНИЯ ОБЪЕМ-ЗАВИСИМОГО АНИОННОГО КАНАЛА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ
ТИМОЦИТОВ КРЫС**

Изучено дозозависимое влияние блокатора объем-зависимого анионного канала – DCPIB на регуляцию объема тимокитов при гипоосмотическом стрессе и на пролиферацию тимокитов. DCPIB дозозависимо ингибировал регуляцию объема тимокитов с полумаксимальным эффектом при $1,14 \pm 0,15$ мкМ и коэффициентом Хилла $0,68 \pm 0,06$. DCPIB ингибировал пролиферацию тимокитов двухфазно, при низких концентрациях ($<0,25$ мкМ) замедлял, при $0,5$ мкМ и больших концентрациях уровень пролиферации увеличивался.

Ключевые слова: тимокиты, DCPIB, регуляция объема клеток, пролиферация клеток.

G.A. Toshtemirova, R.Sh. Kurbannazarova, S.I. Rustamova, N.A. Tsiferova, P. G. Merzlyak, R.Z. Sabirov
**EFFECT OF BLOCKAGE OF THE VOLUME-SENSITIVE ANION CHANNEL ON THE PROLIFERATION OF
RAT THYMOCYTES**

The dose-dependent effect of the blocker of the volume-sensitive anion channel, DCPIB, on the regulation of thymocyte volume under hypoosmotic stress and cell proliferation has been investigated. DCPIB dose-dependently inhibited the regulation of thymocyte volume with a half-maximum effect at 1.14 ± 0.15 μ M and a Hill coefficient of 0.68 ± 0.06 . DCPIB inhibited thymocyte proliferation at low concentrations (<0.25 μ M) whereas at the concentration of 0.5 μ M and more proliferation levels have increased.

Keywords: thymocytes, DCPIB, regulatory volume decrease (RVD), cell proliferation.

Введение. Тимус является первичным лимфоидным органом, в котором происходит созревание клеток-предшественников в процессах положительного и отрицательного отбора. Незрелые лимфоциты в тимусе быстро делятся, та часть популяции (это более 90% клеток), которая не прошла отбор (клетки, не имеющие Т-рецептора и реактивные в отношении собственных антигенов) погибает путем апоптоза. Оставшаяся часть выходит в кровяное русло в качестве зрелых периферических Т-клеток [1].

Способность регулировать собственный объем в ответ на осмотический стресс является одним из фундаментальных свойств клеток, обеспечивающих их целостность [2]. Известно, что незрелые

лимфоциты тимуса, помещенные в гипоосмотическую среду, сначала пассивно набухают, а затем активно восстанавливают свой объем за счет скоординированной работы кальциевых, калиевых и хлорных каналов, включая объем зависимый анионный канал (ОЗАК) [3, 4, 5]. ОЗАК играет важную роль не только в регулировании объема клетки, но и в таких физиологических процессах, как клеточная пролиферация, миграция клеток и апоптоз [2, 6, 7, 8]. Так, было обнаружено, что в клеточных линиях HUVeC, HEK 293 и глиобластомы в присутствии ингибиторов канала ОЗАК происходит нарушение процессов деления и миграции клеток [9, 10]. Известно, что DCPIB (4-(2-butyl-6,7-dichloro-2-cyclopentyl-indan-1-on-5-yl) oхobutyric acid) является наиболее специфическим блокатором ОЗАК [11]. Поэтому в данной работе мы использовали именно это соединение для выяснения роли ОЗАК в пролиферации лимфоцитов тимуса, которая в настоящее время остаётся практически неизученной.

Материалы и методы. В работе использовали HEPES (Sigma, США), DCPIB (TOCRIS, Великобритания). Остальные реактивы были градации «х.ч.» или «ч.д.а.». Блокатор добавляли из концентрированного исходного раствора в диметилсульфоксиде, конечная концентрация которого не превышала 0,1%.

Нормальный раствор Рингера содержал (мМ): 135 NaCl, 5 KCl, 10 HEPES, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 5 глюкозы, pH 7,4 (290±2 мОсм/кг H₂O). Гипотонический раствор (148 мОсм/кг H₂O) готовили путем разведения в соотношении 3:4 нормального раствора Рингера с буфером следующего состава (мМ): 5 KCl, 10 HEPES, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 5 глюкозы, pH 7,4 (40±2 мОсм/кг H₂O).

Опыты проводили на 6-8 недельных белых беспородных крысах. Выделение тимоцитов проводили по стандартной методике [4, 5, 12, 13] и их жизнеспособность определяли по исключению трипанового синего. Для экспериментов по регуляции клеточного объема, тимоциты суспендировались в растворе Рингера и их концентрация доводилась до 100 млн/мл.

В работе использовали метод регистрации клеточного объема по величине светопропускания [3, 5, 12]. Использовали светофильтр с максимумом пропускания при 610 нм. Регуляторное уменьшение объема (RVD – Regulatory Volume Decrease) рассчитывали по формуле:

$$RVD = (T_{\max} - T_{15}) / (T_{\max} - T_0) * 100\%$$

где T_0 и $T_{\max}$ – начальное и максимальное значение светопропускания, T_{15} – значение светопропускания, измеренное через 15 минут после начала гипотонического стресса. При полном восстановлении клеточного объема до исходного уровня $RVD = 100\%$. При полном подавлении регуляции объема $RVD = 0$.

Концентрационные зависимости влияния блокаторов на регуляцию объема тимоцитов аппроксимировали с помощью уравнения Хилла следующего вида:

$$RVD = RVD_{\min} + (RVD_{\max} - RVD_{\min}) / (1 + (C/C_{50})^h)$$

Здесь: $RVD_{\min}$ и $RVD_{\max}$ – минимальная и максимальная величина регуляторного уменьшения объема тимоцитов (%), C – концентрация вещества (мкМ), C_{50} – концентрация вещества, оказывающая полумаксимальный эффект (мкМ), h – коэффициент Хилла.

Для изучения пролиферации тимоцитов крыс, выделенные клетки ресуспендировали в питательной среде RPMI-1640 (HiMedia, Индия) с добавлением 10% эмбриональной сыворотки теленка, NaHCO₃, антибиотиков и глутамина. Клетки инкубировались при 37°C, 5% CO₂. Тимоциты в номинальной концентрации 1-3 млн/мл культивировали в 96-луночной планшете и, после добавления разных концентраций DCPIB, производили подсчет клеток в камере Горяева сразу ($t=0$) и через 1, 3, 5 и 24 часа.

Анализ результатов. В изотонической среде (нормальный раствор Рингера) объем тимоцитов оставался на постоянном уровне в течение 15 мин. При попадании в гипоосмотическую среду тимоциты сначала быстро набухали и затем восстанавливали свой объем до уровня, близкого к исходному в течение 20-30 минут. При 15-минутной инкубации клеток в гипоосмотической среде параметр RVD в среднем был равен 71,5±1,9 ($n=3$) (рис. 1А, Б). В наших дальнейших экспериментах мы исследовали регуляцию объема тимоцитов при внесении в среду инкубации блокатора объём-зависимого анионного канала наружного выпрямления – DCPIB в диапазоне концентраций 0,06-10 мкМ. Примеры записей регистрации изменения клеточного объема в присутствии блокатора показаны на рис. 1А. Ингибитор заметно подавлял процесс регуляции объема тимоцитов уже при суб-микромольных концентрациях. Кривая дозозависимости хорошо описывалась уравнением Хилла (рис. 1Б) с полумаксимальным ингибированием (C_{50}) при 1,14±0,15 мкМ. Эта величина близка к значениям полумаксимальной дозы, при которой DCPIB блокирует ОЗАК в эндотелиаль-

ных клетках, астроцитах и клетках бронхиального эпителия (2,3-4,1 мкМ [6]), что указывает на то, что подавление регуляции объема тимоцитов этим соединением происходит путем ингибирования именно ОЗАК, а не других транспортных путей, вовлеченных в этот процесс. Коэффициент Хилла составил 0.68 ± 0.06 , то есть для ингибирующего эффекта достаточно связывания 1 молекулы DCPIB с сайтом действия.

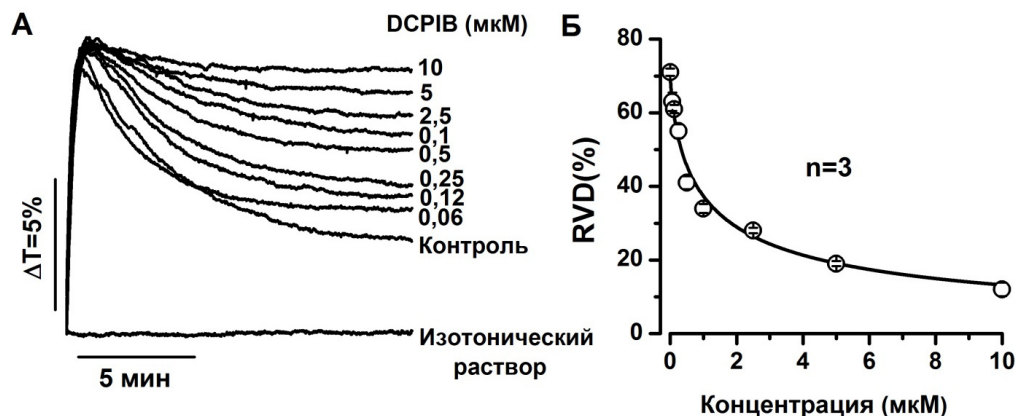


Рис. 1. Влияние DCPIB на регуляцию клеточного объема тимоцитов в гипотонической среде.

Слева – показаны оригиналы записи регистрации изменения светопропускания суспензии тимоцитов во времени (А); Справа – показана кривая дозозависимости влияния DCPIB на регуляцию объема тимоцитов в гипотонической стрессе (Б). Сплошная линия соответствует аппроксимации уравнением Хилла с параметрами, указанными в тексте.

В наших дальнейших экспериментах мы наблюдали процесс пролиферации тимоцитов при их инкубировании в среде RPMI-1640, разработанной для клеток лимфоидной природы. Присутствие в среде эмбриональной сыворотки теленка обеспечивает условия для активации сигнальных каскадов клеточной пролиферации. В этих условиях мы наблюдали достаточно интенсивный рост числа клеток в суспензии. Начальная номинальная концентрация клеток, рассчитанная, исходя из плотности суспензии в растворе Рингера, составила 1, 2 и 3 млн/мл. Приведенные на рис. 2 начальные концентрации клеток в момент времени $t=0$ несколько выше номинальных значений, что отражает деление клеток уже в процессе посева и подсчета клеток, что занимало примерно 30-40 мин. Было установлено, что с течением времени число клеток в суспензии тимоцитов растет, что отражает процесс пролиферации. Эксперимент, результаты которого приведены на рис. 2, проведен на суспензии клеток, полученной из одного животного. Полученные результаты характеризовали высокой воспроизводимостью, однако относительное увеличение числа клеток во времени достаточно сильно варировало от животного к животному. Так, число клеток в суспензии с начальной номинальной концентрацией 1 млн/мл через 5 часов составило от 1,6 до 3,4 млн/мл. Поэтому, для исследования влияния блокатора ОЗАК на пролиферацию тимоцитов на всем диапазоне концентраций мы использовали суспензию тимоцитов, полученную от одного животного.

Влияние DCPIB на пролиферативную активность тимоцитов (диапазон концентраций 0,06 - 2 мкМ) было двухфазным (рис. 3). После 5 ч инкубации число клеток в контрольной группе (0 мкМ DCPIB) увеличилось на $162 \pm 0,9\%$ ($n=3$). В диапазоне концентраций DCPIB от 0,06 до 0,25 мкМ пролиферация тимоцитов значительно подавлялась. Кривая дозозависимости на рисунке 3 хорошо описывалась уравнение Хилла с полумаксимальным эффектом $C_{50}=0,10 \pm 0,03$ мкМ и коэффициентом Хилла $0,36 \pm 0,13$ (сплошная линия на рис. 3). Величина C_{50} существенно ниже, чем концентрация вещества, вызывающая полумаксимальное ингибирование регуляции клеточного объема (1,14 мкМ по данным рис. 1Б, см. выше). Это может свидетельствовать о том, что уже блокирование небольшой части функциональных каналов ОЗАК достаточно для значительного торможения деления тимоцитов. Разумеется, мы не можем исключить возможного действия DCPIB на другие системы, имеющие важное значение для пролиферации тимоцитов.

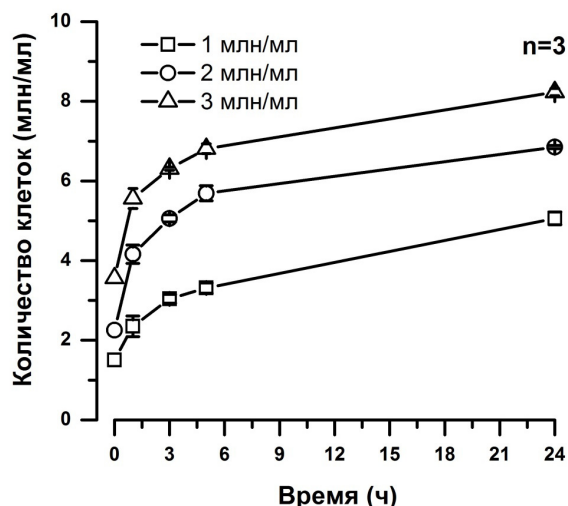


Рис. 2. Кинетика пролиферации тимоцитов крыс в среде RPMI-1640. Указана номинальная концентрация клеток в суспензии (подробности см. в тексте).

При концентрации DCPIB 0,5 мкМ и выше мы наблюдали закономерное повышение эффективности пролиферации тимоцитов (рис. 3, пунктирная линия).

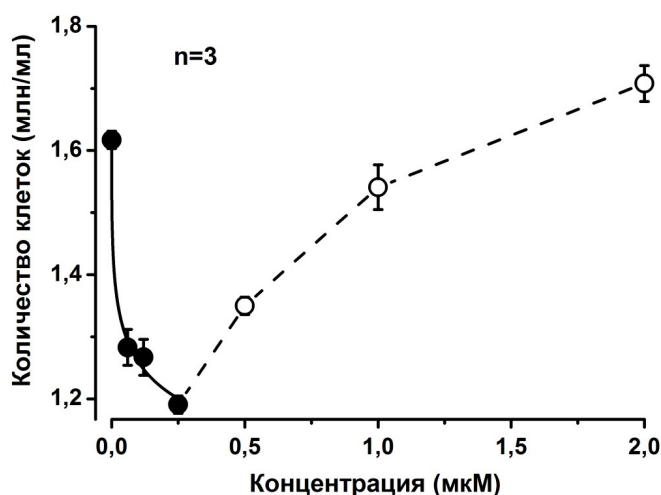


Рис. 3. Дозозависимое влияние DCPIB на пролиферацию тимоцитов крыс. (1 млн/мл, через 5ч инкубации клеток в среде RPMI-1640).

Заключение. Таким образом, DCPIB эффективно ингибирует пролиферацию тимоцитов крыс в низких концентрациях, но в более высоких концентрациях пролиферация восстанавливается. Такое двунаправленное действие DCPIB в определенной мере может объяснить противоречивые сведения литературы, когда одни авторы наблюдали подавление пролиферации [10], тогда как другие наблюдали отсутствие эффекта или даже стимуляцию деления клеток [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Savino W., Mendes-da-Cruz D.A., Dardenne M. Hormonal control of T-cell development in health and disease // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2016. V.12, N 2, P. 77-89.
2. Wehner F., Olsen H., Tinel H., Kinne-Saffran E. Kinne R. K. H. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport and signal transduction // *Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2003. P. 1-80
3. Hempling H.G., Thompson S., Dupre A. Osmotic properties of human lymphocyte. // *J. Cell Physiol.* -1977. V.93, P. 293-302.
4. Kurbannazarova R. S., Tashmukhamedov B. A., Sabirov R. Z. Osmotic water permeability and regulatory volume decrease of rat thymocytes // *Gen. Physiol. Biophys.* 2003. Vol. 22, P. 221-232.

5. Kurbannazarova R. S., Tashmukhamedov B. A., Sabirov R. Z. Role of potassium and chlorine channels in the regulation of thymocyte volume in rats // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. Vol.145, P. 606-609.
6. Okada Y., Okada T., Sato-Numata K., Islam R., Ando-Akatsuka Y., Numata T., Kubo M., Shimizu T., Kurbannazarova R.S., Marunaka Y., Sabirov R.Z. Cell Volume-Activated and Volume-Correlated Anion Channels in Mammalian Cells: Their Biophysical, Molecular, and Pharmacological Properties // *Pharmacol. Rev.*, 2019. V.71, P. 49–88.
7. Okada Y., Sato K. and Numata T. Pathophysiology and puzzles of the volume-sensitive outwardly rectifying anion channel // *J. Physiol.* 2009. 587.10 C 2141–2149.
8. Pedersen S.F., Okada Y., and Nilius B. Biophysics and Physiology of the Volume-Regulated Anion Channel (VRAC)/Volume-Sensitive Outwardly Rectifying Anion Channel (VSOR) // *Pflugers Arch.* 2016. V.468, N 3. P. 371-383.
9. Liu T., Stauber T. The Volume-Regulated Anion Channel LRRC8/VRAC is dispensable for cell proliferation and migration // *Int. J. Mol. Sci.* 2019, V.20, P. 1-14.
10. Wong R., Chen W., Zhong X., Rutka J.T., Feng Zh., Sun H. Swelling-induced Chloride Current in Glioblastoma Proliferation, Migration and Invasion // *J. Cell. Physiol.* 2017. P. 1-23.
11. Decher N., Lang H.J., Nilius B., Eggemann B.A., Busch E.A., Steinmeyer K. DCPIB is a novel selective blocker of ICl, swells and prevents swelling-induced shortening of guinea-pig atrial action potential duration // *Brit. J. Pharm.* 2001. Vol. 134, P.1467-1479.
12. Sabirov R.Z., Manjoseva M.A., Tadjibaeva E.T. and Krasilnikov O.V. The interaction of Amphotericin B with cell membrane of rat thymocytes. // *Gen. Physiol. Biophys.* 1993, V.12, P. 249-257.
13. Клаус Дж. // *Лимфоциты. Методы.* М.:Мир.1990. С. 395

Институт биофизики и биохимии при НУУз

Дата поступления
01.03.2019

**ГАЙИБОВ У.Г., ГАЙИБОВА С.Н., ВЫПОВА Н.Л., ИЗОТОВА Л.Ю.,
ТУРАХОДЖАЕВ М., АРИПОВ Т.Ф.**

СКРИНИНГ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ И ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЕЙ ЭКСТРАКТОВ *FRUCTUS ROSAE*, *CRATAEGI FRUCTUS* И *HERBA LEONURI*

Гайибов У.Г., Гайибова С.Н., Выпова Н.Л., Изотова Л.Ю., Тураходжаев М., Арипов Т.Ф.
FRUCTUS ROSAE, *CRATAEGI FRUCTUS* ВА *HERBA LEONURI* ЭКСТРАКЛАРИНИНГ АНТИРАДИКАЛ
ВА ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИК ФАОЛЛИКЛАРИНИ СКРИНИНГИ

Fructus rosae (наматак), *Crataegi fructus* (дўлана) ва *Herba leonuri* (пустырник) экстрактларининг ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) эркин радикалига нисбатан антирадикалик фаоллиги ўрганилган, ҳамда янги биологик фаол қўшимча яратиш мақсадида уларнинг фармако-токсикологик хусусиятлари тадқиқ этилган.

Калит сўзлар: эркин радикаллар, антиоксидантлар, доривор ўсимликлар, биологик фаол қўшимчалар.

Гайибов У.Г., Гайибова С.Н., Выпова Н.Л., Изотова Л.Ю., Тураходжаев М., Арипов Т.Ф.
СКРИНИНГ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ И ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЕЙ
ЭКСТРАКТОВ *FRUCTUS ROSAE*, *CRATAEGI FRUCTUS* И *HERBA LEONURI*

Проводилось исследование антирадикальной активности экстрактов *Fructus rosae* (шиповник), *Crataegi fructus* (боярышник) и *Herba leonuri* (пустырник) по отношению к свободному радикалу ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил), а также изучение их общего действия и фармако-токсикологической активности с целью разработки на их основе нового БАДа.

Ключевые слова: свободные радикалы, антиоксиданты, лекарственные растения, биологически активные добавки.

SCREENING OF THE ANTIRADICAL AND PHARMACO TOXICOLOGICAL ACTIVITIES OF *FRUCTUS ROSAE*, *CRATAEGI FRUCTUS* AND *HERBA LEONURI* EXTRACTS

We studied the antiradical activity of the extracts of *Fructus rosae* (dog rose), *Crataegi fructus* (hawthorn) and *Herba leonuri* (motherwort) in relation to the free radical of DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), as well as pharmacotoxicological activity in order to develop on their basis a new dietary supplement.

Key words: free radicals, antioxidants, medicinal plants, biological active additives.

Введение. Свободные радикалы, такие, например, как активные формы кислорода, являются неотъемлемой частью любой живой системы. Для сохранения баланса окисление/восстановление в организме функционирует антиоксидантная система, удаляющая избыток радикалов. Однако, воздействие на организм неблагоприятных факторов окружающей среды (радиация, токсины), образ жизни (табак, алкоголь), неполноценный рацион могут приводить к выработке избыточных свободных радикалов, что в свою очередь провоцирует окислительный стресс и, как следствие, развитие ряда хронических и дегенеративных заболеваний [1-3]. Увеличение потребления экзогенных антиоксидантов позволяет уменьшить ущерб от окислительного стресса [4]. Биологически активные добавки (БАД) на основе лекарственных растений являются потенциально важными источниками природных антиоксидантов [5, 6], кроме того они разнообразно воздействуют на организм, не проявляя побочных эффектов [7]. В связи с вышесказанным в данной работе проводилось исследование антирадикальной активности экстрактов *Fructus rosae* (шиповник), *Crataegi fructus* (боярышник) и *Herba leonuri* (пустырник), а также изучение их общего действия и фармако-токсикологической активности с целью разработки на их основе нового БАДа.

Материалы и методы исследования. В работе использовали экстракты *Fructus rosae*, *Crataegi fructus* и *Herba leonuri*. Экстракты получали следующим образом: растительное сырье боярышника и пустырника экстрагировали 70% этиловым спиртом, экстракт концентрировали в вакууме ($t = +50^{\circ}\text{C}$) до 60-70% по содержанию сухого остатка до гелеобразного состояния. Сухой экстракт шиповника был предоставлен фирмой «Замона Рано», Узбекистан. Для экспериментов все образцы разводили дистиллированной водой до требуемой концентрации. Антирадикальную активность экстрактов определяли стандартным методом регистрации изменения кинетики оптической плотности спиртового раствора свободного радикала ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) [5]. Эксперимент проводили при постоянной концентрации свободного радикала ДФПГ (0,1 мМ) и переменной концентрации образцов. Основные параметры острой токсичности определялись методом Личфилда и Уилкоксона. Острая токсичности образцов изучалась на белых мышах, здоровых половозрелых самцах, массой $20 \pm 2,0$ г, прошедших карантин не менее 10 дней, по 6 животных в каждой группе, всего использовали 96 мышей. Все подопытные животные содержались согласно общепринятой концепции [8, 9] в одинаковых стандартных условиях вивария ($t = 18-22^{\circ}\text{C}$), на общем рационе питания со свободным доступом к воде и пище. Мышей запаивали каждым экстрактом отдельно методом принудительного зондирования *per os*. После введения экстракта в разных дозах оценивали состояние мышей. В первые 8 часов животные находились под непрерывным наблюдением, при этом в качестве показателей функционального состояния животных использовали выживаемость в течение опыта, общее состояние, возможные судороги и гибель. Дальнейшие наблюдения проводили в течение 14 дней. Критериями оценки степени токсичности экстрактов служили: изменение общего состояния животных (активность, особенности поведения, частота и глубина дыхательных движений, состояние волосяного и кожного покрова, положение хвоста, количество и консистенция фекальных масс, частота мочеиспускания, изменением массы тела), выживаемость животных в течение 24 часов, рассчитанная среднесмертельная доза (LD_{50}) и определение класса токсичности экстрактов [10]. 20%-ый раствор *F.rosae* вводили в дозах 5000, 6000, 8000 и 10000 мг/кг. Экстракты *C.fructus* и *H.leonuri* перед введением разводили в 2 раза (объем/объем) и вводили в дозах 0,5; 0,6; 0,8 и 1,0 мл/мышь. Последние 3 дозы вводили дробно с промежутком в 1 час.

Результаты исследования. В экспериментах была исследована антирадикальная активность *F.rosae* (0,6 мг/мл), *C.fructus* (6 мг/мл) и *H.leonuri* (10 мг/мл). Рабочие концентрации водных растворов экстрактов подбирались соответственно их предполагаемому соотношению в БАДе. На

рисунке представлена кинетика изменения оптической плотности раствора ДФПГ при добавлении исследуемых нами трех образцов.

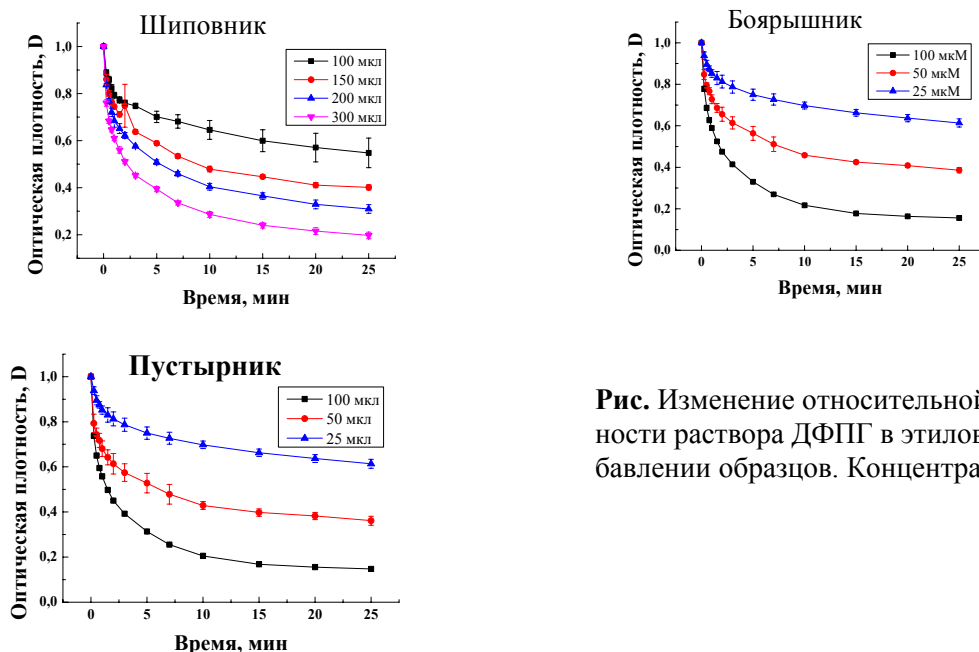


Рис. Изменение относительной оптической плотности раствора ДФПГ в этиловом спирте при добавлении образцов. Концентрация ДФПГ 0,1 мМ.

Из приведенных рисунков следует, что изучаемые экстракты обладают высокой способностью к тушению свободных радикалов. Для количественной оценки антирадикальной активности использовали параметры K (константа скорости реакции ($M \times c^{-1}$)), t_{50} (время необходимое для снижения исходной концентрации стабильных радикалов при реакции их с изучаемыми экстрактами на 50%), IC_{50} (концентрация, ингибирующая 50% ДФПГ (мг)). Рассчитанные параметры представлены в таблице 1. Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что по реакционной способности экстракт шиповника в наименьшей концентрации превосходит остальные экстракты, представленные в более высокой концентрации.

Таблица 1

Значения константы скорости реакции K ($M \times c^{-1}$), концентрации, ингибирующей 50% ДФПГ (IC_{50} , мг) и время, затраченное на ингибирование 50% ДФПГ (t_{50} , сек)

$K, M \times c^{-1}$			$IC_{50}, \text{мг}$			$t_{50}, \text{сек}$		
<i>F. rosae</i>	<i>C. fructus</i>	<i>H. leonuri</i>	<i>F. rosae</i>	<i>C. fructus</i>	<i>H. leonuri</i>	<i>F. rosae</i>	<i>C. fructus</i>	<i>H. leonuri</i>
6×10^{-5}	$4,2 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-6}$	0,25	0,35	0,42	625	135	186

При изучении общего действия и острой токсичности пероральное введение экстрактов *F.rosae* до 10000мг/кг, *C.fructus* и *H.leonuri* до 25000 мг/кг не приводило к гибели животных, симптомы острого отравления также отсутствовали. Следует отметить, что в первые 3-10 минут после введения экстрактов наблюдалось изменение двигательного и эмоционального фона животных в виде увеличения частоты умываний, учащения дыхания, сужения глаз, кучкования и вялости. По истечении 2-6 часов в зависимости от экстракта и его концентрации указанные выше явления проходили. Проведенные в течение двух недель наблюдения за подопытными животными: активность, особенности поведения, частота и глубина дыхательных движений, состояние волосяного и кожного покрова, положение хвоста, количество и консистенция фекальных масс, частота мочеиспускания, изменением массы тела не выявили заметных отклонений по сравнению с контрольным состоянием животных. Также не наблюдалось гибели ни одного животного. Токсичность экстракта при применении *per os* отсутствует. Это свидетельствует о безопасности изучаемых экстрактов. Данный факт следует из результатов, представленных в таблице 2. Согласно Hodge и Sterner [11] этот показатель соответствует V – VI классам малотоксичных и практически нетоксичных препаратов, соответственно.

Таблица 2.

**Результаты показателей острой токсичности при пероральном введении образцов
Fructus rosae, *Crataegi fructus* и *Herba leonuri* мышам**

Препараты	Вид животных Путь введения	Дозы мг/кг или мл/мышь	Число погибших/ число животных в группе	ЛД ₅₀ -m+m мг/кг
<i>Fructus rosae</i>	Мыши перорально	5000	0/6	≥10000
		6000	0/6	
		8000	0/6	
		10000	0/6	
<i>Herba leonuri</i>	Мыши перорально	1,0	0/6	≥25000
		0,8	0/6	
		0,6	0/6	
		0,5	0/6	
<i>Crataegi fructus</i>	Мыши перорально	1,0	0/6	≥25000
		0,8	0/6	
		0,6	0/6	
		0,5	0/6	

В целом анализируя поведение подопытных мышей можно заключить, что исследованные экстракты уменьшают возбудимость центральной нервной системы, проявляя дозозависимый успокоительный эффект. Другие изученные показатели - состояние волосяного и кожного покрова, положение хвоста, количество и консистенция фекальных масс, изменения массы тела при введении им образцов *Fructus rosae*, *Crataegi fructus* и *Herba leonuri* во всех использованных дозах – подтверждают безвредность исследуемых растительных субстанций.

Заключение. Из экспериментальных данных следует, что изучаемые экстракты обладают высокой способностью к тушению свободных радикалов, относятся к V классу относительно безвредных соединений и VI классу практически нетоксичных соединений, а также обладают выраженным седативным действием. Полученные результаты позволяют разработать новую биологически активную добавку на основе местного сырья с оптимальным соотношением компонент.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li S., Tan H.Y., Wang N., Zhang Z.J., Lao L., Wong C.W., Feng Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:26087–26124. doi: 10.3390/ijms161125942.
2. Wang F., Li Y., Zhang Y.J., Zhou Y., Li S., Li H.B. Natural products for the prevention and treatment of hangover and alcohol use disorder. *Molecules.* 2016;21:64 doi: 10.3390/molecules21010064.
3. Zhou Y., Zheng J., Li S., Zhou T., Zhang P., Li H.B. Alcoholic beverage consumption and chronic diseases. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2016;13:522 doi: 10.3390/ijerph13060522.
4. Baiano A., del Nobile M.A. Antioxidant compounds from vegetable matrices: Biosynthesis, occurrence, and extraction systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2015;56:2053–2068. doi: 10.1080/10408398.2013.812059.
5. Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J. Agric. Food Chem.* 2005;53:7749–7759. doi: 10.1021/jf051513y.
6. Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M., Li H.B. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients.* 2014;6:6020–6047. doi: 10.3390/nu6126020.
7. Лапин А.А., Борисенков М.Ф., Карманов А.П., Бердник И.В., Кочева Л.С., Мусин Р.З., Магдеев И.М. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения // *Химия растительного сырья.* №2. С. 79–83. 2007.2
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, Методы фармакологического доклинического исследования / под ред. Р.У. Хабриева, М., С.699-709. 2005.

9. Методические рекомендации по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств // “Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств” I часть, 2012, Миронов А.Н., Бунятян Н.Д. и др. С. 80-93. 2012
10. Методы испытание по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность-метод определение класса острой токсичности. (OECD, Test №423: 2001,IDT) Минск 2013.
11. Hodge, HC; Sterner, JH. Tabulation of toxicity classes. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 10, 1949, 93– 98.

Институт биоорганической химии

Дата поступления
04.03.2019

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

АРИПОВ У.Х., ОМОНОВ М.И.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОМОСОМ КАРАКУЛЬСКИХ ОВЕЦ РАЗНЫХ ОКРАСОК

Aripov U.X., Omonov M.I.

TURLI RANGDAGI QORAKO'L QO'YLARINING XROMOSOMALARINI SITOGENETIK XUSUSIYATLARI

Turli rangdagi qorako'l qo'ylarining xromosomalarini sitogenetik tahlil qilish amalga oshirildi. Xromosomalar soni, ularning morfologiyasi, anormalliklar (anuplodiya, poliploidiya, turli xil anomalii) chastotasi o'rganildi. Turli xil genetik guruhdagi qorako'l qo'ylarining turlariga mos keladigan normal xromosoma to'plamiga ega ekanligi aniqlandi. Karyotipdagi xromosomalarning ortib borayotgan o'zgaruvchanligi ko'rsatildi. Xromosoma o'zgarishi darajasi hayvonlarning hayotiyiligini aks ettirishi aniqlandi.

Kalit so'zlar. Qorako'l qo'ylari, Surxondaryo turlari, xromosoma o'zgarishi, karyotip.

Арипов У.Х., Омонов М.И.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОМОСОМ КАРАКУЛЬСКИХ ОВЕЦ РАЗНЫХ ОКРАСОК

Проведен цитогенетический анализ хромосом каракульских овец разных окрасок. Изучены число хромосом, их морфология, частота спонтанных аномалий (анеуплодия, полиплоидия, различных аномалий (разрывы, пробелы и др.)). Установлено, что каракульские овцы разных генетических групп имеют нормальный хромосомный набор, соответствующий виду. Показана повышенная изменчивость хромосом в кариотипе. Выявлено, что уровень хромосомной изменчивости отражает жизнеспособность животных.

Ключевые слова. Каракульские овцы, сурхандарьинские типы, изменчивость хромосом, кариотип.

Aripov U.X., Omonov M.I.

CYTOGENETIC ANALYSIS OF CHROMOSOMES OF KARAKUL SHEEP OF DIFFERENT COLORS

Cytogenetic analysis of chromosomes of Karakul sheep of different colors was carried out. The number of chromosomes, their morphology, the frequency of spontaneous abnormalities: aneuploidy, polyploidy, various anomalies were studied. It was found that Karakul sheep of different genetic groups have a normal chromosome set corresponding to the species. The increased variability of chromosomes in the karyotype is shown. It was revealed that the level of chromosomal variation reflects the viability of animals.

Keywords. Karakul sheep, Surkhandarya types, chromosome variation, karyotype.

Введение. Хромосомные аномалии являются одной из причин ранней гибели и пониженной жизнеспособности животных. В связи с этим представляет интерес изучение цитогенетических характеристик у каракульских овец разных окрасок и генетических групп. Основной задачей селекционеров Узбекистана является создание высокопродуктивных популяций каракульских овец разных окрасок и расцветок с учетом их морфологических, экологических и генетических особенностей. Развитие каракулеводства требует ускорения генетического совершенствования популяций животных. Успешное проведение направленной селекции на развитие желательных хозяйственно-полезных признаков невозможно без изучения генофонда исходных исследуемых животных, их продуктивной и генетической изменчивости, оценки внутрипородных и дифференциальных мутаций.

Материалы и методы. Опыты проведены в ООО «Боботог-сури» Кумкурганского района Сурхандарьинской области на каракульских овцах окраски сур Сурхандарьинского породного типа и черной масти. Для исследования отобраны 22 голов животных, из них 6 окрасок сур и 16 черной масти. Цитогенетические исследования проведены по общепринятым методам по О.К. Смирнову. Цифровой материал обработан по Н.А. Плохинскому.

Анализ результатов. При цитогенетическом анализе изучали следующие показатели: число хромосом, их морфологию, частота спонтанных аномалий кариотипа: анеуплодию и полиплоидию, структурных аномалий (разрывов и др.). Выявлено, что животные как черной и суровой окраски имели нормальный хромосомный набор, соответствовавший видовой норме (таб. 1.)

Таблица 1.

Состав кариотипа у ягнят суровой и черной окраски

Окраска животных	Учтено животных	Состав кариотипа				
		Диплоидное число хромосом	Число плеч	Мета-центрики	Окра-центрики	Половые хромосомы
Черная	6	54	60	6	48	xx, ху
Сур	16	54	60	6	48	xx, ху

У каракульских овец диплоидное число хромосом выявлено 54, в том числе 3 пары крупных метоцентрических и 24 акроцентрических. Хромосомы у овец по своим размерам образуют постепенно убывающий ряд в котором самым крупным является женские половые хромосомы –хх. Основное число, то есть число хромосомных плеч у всех животных соответствовало видовой норме ($NF \square 60$). Таким образом полученные нами данные позволяют утверждать, что все обследованные животные не имели грубых аномалий, связанных с изменением числа хромосом и их морфологии. У породных животных не обнаружена также довольно распространенной и других животных, в том числе и у крупного рогатого скота, аномалии как химеризм, то есть одновременное присутствие в кроветворных органах ферментных элементов белой крови клеток как с мужским так и женским набором хромосом.

Количества полиплоидных клеток у животных были незначительными и не отличались достоверными различиями между ягнятами разных окрасок. Полуплоидные клетки были представлены как тетраплоидами (клетки с двойным диплоидным набором), так и клетками более высокой степени плоидности. Однако в силу низкой частоты встречаемости этой аномалии, проводить статистический анализ структуры полуплоидии не представляется возможным. Другой тип аномалий кариотипа связан с нарушением целостности хромосом, то есть структурными аномалиями, которые у каракульских овец были представлены хроматидными разрывами.

Таким образом, результаты этих исследований указывают на повышенную нестабильность кариотипа у каракульских овец суровой окраски. Возможно, что клетки костного мозга ягнят окраски сур менее устойчивы действиям агентов внешней среды, но нельзя исключить, что эти различия связаны с генетическими типами животных. Возможно, что уровень хромосомной изменчивости в известной степени отражает жизнеспособность животных. В пользу этого предложения говорит тот факт, что в ряде работ отмечен повышенный уровень спонтанных аномалий у недоношенных или отсталых в росте во внутриутробный период особей.

Одновременно с этим было обнаружено, что часть клеток у обследованных животных несли различные аномалии в своем хромосомном наборе (таб. - 2).

Таблица 2.

Частота спонтанных нарушений (%) в хромосомном наборе клеток костного мозга у животных суровой и черной окраски

Оценка животных	Анеуплодия			Структурные аберрации	Полиплоидия	Общее количество измененных клеток
	Полиплоидия	Гиперплоидия	Всего			
Сур	11,85±1,96	1,85±0,82	13,70±2,09	2,96±1,03	0,33±0,11	16,99±2,27
Черная	6,67±2,04	1,33±0,94	8,00±2,22	0	0,47±0,18	8,47±2,23
Разница между окрасками	5,18±2,82	0,52±1,23	5,70±3,05	2,96±1,03	0,14±0,21	8,52±3,18

У животных обеих окрасок основным типом нарушений хромосомного набора является анеуплодия, представленная главным образом гипоплоидами, то есть клетками утратившими часть хромосом. Гиперплоидия, или клетки несущие добавочное число хромосом встречались у животных примерно в 5 раз реже, чем у гипоплоидии. Установлена устойчивая тенденция к повышению, как общего числа анеуплоидов так и обеих их типов у животных окраски сур. Различия по сравнению с животными черной окраски были достоверными ($P < 0,05$).

Установленные факты индивидуальных различий по частоте хромосомных аномалий у ягнят указывают на необходимость продолжения цитогенетических исследований в каракульском овцеводстве. Частота анеуплоидии у ягнят обеих групп колеблется от 0 до 20 %, колебания частоты полуплоидии составили 0 – 1 %, структурных аномалий от 0 до 10 %. Это говорит о том, что представляется возможным проводить группировку и отбор по этим признакам, которые характеризуют воспроизводительные качества животных.

Заключение. Установлено повышения неустойчивости каракульских овец окраски сур. Их уровень хромосомной изменчивости связана с генетическими особенностями животных и менее устойчивы к действию агентов внешней среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнов О.К. Раннее определение продуктивности животных. М. Колос, 1974 г.
2. Смирнов О.К. и др. Исследования по генетике сельскохозяйственных животных // Бюлл. Научных работ ВИЖа, Дубровицы, 1976. –вып. 8-с. 119-120.
3. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. Изд. М. Колос, 1969 – 252 с.
4. Юсупов С.Ю., ва бошкалар. Коракулчиликда йирик сатхли коракул терилари берувчи куйларни селекциялаш услублари. Ж. Зооветеринария, 2016, № 9. С. 34-35

НИИКЭП
Термезский гос. университет

Дата поступления
29.08.2019

МИКРОБИОЛОГИЯ

В.Б. ФАЙЗИЕВ, Д.Т. ЖАВЛИЕВА, У.М. ЖУРАЕВА, З.Н. КАДИРОВА, А.Х. ВАХАБОВ

ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ХБК

vaxidf@mail.ru

V.B. Fayziev, D.T. Javlieva, U.M. Juraeva, Z.N. Kadirova, A.X. Vahabov

KXVNI AJRATISH, TOZALASH VA IMMUNOKIMYOVIY XUSUSIYATLARINI O'RGANISH

KXV butun dunyoda keng tarqalgan, ko'pgina yovvoyi va madaniy qishloq xo'jalik o'simliklarni kasallantirib katta zarar keltiradigan, keng miqyosda o'rganishni talab etadigan fitoviruslardan biri hisoblanadi. Ushbu maqolada bu virusning mamlakatimizda tarqalgan izolyantini ajratish, tozalangan preparatini olish va immunokimyoviy xususiyatlarini aniqlash bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar hamda ularning natijalari yoritilgan.

Kalit so'zlar. KXV, izolyat.

В.Б. Файзиев, Д.Т. Жавлиева, У.М. Жураева, З.Н. Кадилова, А.Х. Вахабов

ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИКА ХБК

ХБК - один из широко распространённых фитовирусов в мире, требующий обширного изучения, который наносит ущерб многим диким и культурным растениям. В этой статье описываются исследования и результаты по выделению, очистке и изучения иммунохимических свойств выделенного изолята ХБК.

Ключевые слова: ХБК, изолят.

V.B. Fayziev, D.T. Javlieva, U.M. Juraeva, Z.N. Kadirova, A.X. Vahabov

EXPLANATION OF X VIRUSES, IMMUNOCHEMICAL CLEANING AND STUDY OF THE CHARACTERISTICS

PVX is one of the most commonly used fitoviruses in the world, requiring extensive research, which is detrimental to many wild and cultivated crops. This article describes studies on the isolation of a virus isolated from a virus, its removal, a purified drug and its immunochemical properties, as well as their results.

Key words: PVX, isolation.

Введение. По Всемирной таксономии вирусов (*ICTV*) X-вирус картофеля (ХБК) относится к порядку *Tymovirales*, семейству *Alphaflexviridae*, роду *Potexvirus*. Вирион имеет нитевидную форму, содержит 1 цепочную РНК [12]. Многими авторами указано что к этому роду относятся следующие вирусы: вирус мозаики белой клевера (WClMV), вирус мозаики папай (PMV), вирус мозаики нарциса (NMV), вирус желтой мозаики клевера (CYMV), вирус мозаики лисохвост (FMV), вирус мозаики лилии (LMV), вирус аukuба-мозаики картофеля (PAMV) [8, 13]. Очень легкий механический путь передачи выше указанных вирусов дала возможность распространения этого вируса по всему миру [7]. ХБК тоже как выше указанные вирусы, широко распространён в полях возделывания картофеля по всему земному шару, по этому требует разностороннего изучения свойств этого вируса, а это требует применение высоко чувствительных диагностических методов. До настоящего времени для изучения вируса применялись такие методы как электронная микроскопия, полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммунологические методы, метод растений-индикаторов и другие, которые требуют применение чистых вирусных препаратов. Получения чистого вирусного препарата включает в себя выделение вируса из растений-хозяев, очистку из смешанных вирусов и получение чистого специфического вирусного препарата и всё это служит фактором повышения цен диагностикумов во всём мире [8].

На сегодняшний день перед выпускаемыми диагностикумами ставятся следующие основные требования: не требование сложных приборов и дорогостоящих реактивов, краткосрочность диагностики, возможность одновременного анализа нескольких проб и простота выполнения [4].

К методам соответствующим таким требованиям можно отнести иммунологические методы. Степень чувствительности иммунологических методов связано с антигенными свойствами тоист иммунохимическими свойствами вируса из которого готовится антисыворотка [5, 6, 11]. Поэтому основной целью этого исследования является выделение, очистка ХВК, приготовление специфической антисыворотки и изучение его свойств.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели были заражены механическим путём индикаторные растения, ХВК был выделен из растений-хозяев которые были заражены. При очистке вируса от смешанных инфекций использованы его физико-химические свойства, тоист вирус был очищен на основе точки тепловой инаktivации [3]. Очищенность от смешанных инфекций был установлен “сэндвич” вариантом ИФА. Определение вируса методом ИФА приводится ниже.

Основные материалы для проведения ИФА: антитела к ХВК (IgG), конъюгат (IgG+фермент), полистироловые платы и химические реактивы, полученные из организации International Centre of Potato (CIP). Для выявления вируса методом ИФА, первоначально листья картофеля с симптомами поражения и листья индикаторных растений зараженных с препаратом ХВК, который очищен из смешанных инфекции были собраны в отдельные полиэтиленовые мешочки. Затем добавляя фосфатный буфер (Ф.Б.) в соотношении 1:1 (состав для 1 литра - NaCl, KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , KCl, NaN_3 , pH-7,4) их гомогенизировали и приготовили гомогенат. В полистироловые платы иммобилизовали АТ вируса (IgG) в течение 5-6 часов при 37°C, не связавшиеся антитела (АТ) смыли с помощью Ф.Б. с твином (на 1 литр Ф.Б. добавили 20 капель (0,5 мл) твина PBS-T). Затем налили гомогенат антигена (АГ), приготовленный из листьев определяемого растения и инкубировали в течение 3-4 часов при 37°C. Не связавшиеся АГ смыли Ф.Б. с твином. Затем в полистироловые платы налили конъюгат (IgG + фермент), поместили их в полиэтиленовые мешочки и хранили 3-4 часа при 37°C. Не связавшиеся конъюгаты смыли Ф.Б. с твином. Затем в каждую полистироловую плату налили по 80 мкл субстрата (состав: диэтанолламин, 37% HCl, дистиллированная вода и таблетки субстрата – р-нитрофенилфосфат) и наблюдали за проявлением реакции. Реакция проявлялась в течение 30-60 минут в виде изменения окраски.

Анализ результатов. При наблюдениях и проведенных исследованиях было установлено, что X, S, M, A и Y-вирусы картофеля встречаются в месте и усиливают заболевание. При приготовлении специфической антисыворотки к вирусу встречаемость вируса в таком смешанном состоянии приводит к различным трудностям, потому что в большинстве случаев растения-хозяева вирусов тоже одинаковы. Поэтому определение растения-хозяина для выделения и методы очистки от смешанных вирусов имеют особое значение.

Первоначально было установлено, что растения картофеля сорта Диёра с симптомами крапчатой мозаики и измельчением листовой пластинки были заражены X и S-вирусами, растения сорта Туйимли с симптомами мозаики и лодкообразного скручивания были заражены L, X и M-вирусами, растения сорта Санта с симптомами скручивания листьев были заражены только L-вирусом, растения сорта Акраб с симптомами утолщения и мозаики листовой пластинки были заражены X, S и Y-вирусами картофеля. Анализируя литературные данные, была поставлена следующая цель изучение X вируса картофеля, которая из выше перечисленных легко распространяется механическим путём и с помощью насекомых-переносчиков, не проявляет симптомов поражения в течении нескольких лет и приносит большой вред картофелеводству. Для этого было необходимо первоначально выделить вирус, определить его и биологически очистит, затем изучить ряд его свойств вируса.

При выделении и биологической очистке вируса планировалось проведение через растения проявляющие специфический некроз и растения проявляющие системное поражение и очистка от другого вируса [10]. В этих процессах большую эффективность дают учитывание путей передачи вирусов.

При выделении ХВК в качестве естественного источника были использованы растения картофеля сорта Диёра, в качестве растения-дифференциатора были использованы растения *Datura stramonium* L., потому что это растение среди вирусов картофеля кроме ХВК заражается только L-вирусом, но этот вирус не передаётся механическим путём а только прививкой и насекомыми-переносчиками [3, 5]. По этому в наших опытах было исключено заражение растений этим вирусом.

После проявления симптомов поражения в виде системной мозаики из растений *D. stramonium* L. брали инокулюм и заражали растения *G. Globosa*. После проявления некрозов они были вырезаны и гомогенизированы в 0,02 М-ном фосфатном буфере (ФБ) (рН 7,5) и был приготовлен инокулюм и снова ещё 2 раза через это растение, через мононекроз и был биологически очищен. Это было сделано для отделения 2-х вирусов, в нашем случае Х вирус, потому что S и Х-вирусы встречаются в смешанном виде.

Для установления факта биологической очистки вируса механическим путём были заражены такие индикаторных растений как *D. stramonium* L., *D. metel*, *G. globosa*, *Ch. amaranticolor*, *Ch. album* L., затем по проявленным симптомам поражения и исследованиями методом ИФА была установлена биологическая чистота вируса. После он был переведен на растения-накопители и размножен, затем вирусные пробы из этих растений собраны по 250 гр в отдельные полиэтиленовые пакетики и заморожены.

Получение очищенных препаратов вирусов является сложной работой и включает в себя несколько этапов. Вирус очищается от клеточных компонентов растений с помощью денатурации, также из физико-химических методов центрифугированием или с помощью химических веществ, потому что в чистом вирусном препарате должны остаться только вирусные частицы. Методы получения чистых вирусных препаратов отличаются друг от друга, метод выделения одного вируса не подходит для другого вируса [2]. Поэтому при очистке вирусов применяются некоторые модификации.

Используя ряд методов разработанных рядом авторов [2, 6, 10] был выбран самый удобный из них и модифицирован метод очистки ХВК. Очистка вируса была проведена ниже следующим образом:

В заранее замороженную вирусную пробу добавили 0,02М-ный фосфатный буфер, гомогенизировали гомогенизаторе в течении 15 минут, растительный сок пропустили через 4 слоя марли, центрифугировали 15 минут при 3000 об./мин и собрали надосадочную жидкость (супер). В супер добавили хлороформ в соотношении 8:1 и на 20 минут поставили на трясу, затем снова центрифугировали в течении 15 минут при 3000 об./мин. и снова собрали супер.

рН супера довели до 5,0 и снова центрифугировали 15 минут при 3000 об./мин., снова собрали супер, осадок выбросили. В супер добавили 4%-ный ПЭГ (м.м. 6000) и 0,01М-ный NaCl, на 1 час поставили в холодильник при +4°C. По истечении времени супер снова центрифугировали при 4000 об./мин. в течении 25 минут, супер осторожно вылили, собрали осадок. В центрифужные пробирки с осадком до полного покрытия осадка налили 0,02М-ный ФБ (рН 7,5), стеклянной палочкой растворили осадок и снова центрифугировали при 5000 об./мин. в течении 10 минут, супер слили в колбочку, осадок снова растворили в минимальном количестве ФБ и снова центрифугировали 10 минут при 5000 об./мин., супер объединили с первым супером в колбочке. В собранный осветлением супер снова добавили 4%-ный ПЭГ и NaCl, поставили в холодильник на 1 час. Через час снова центрифугировали при 7000 об./мин. в течении 20 минут и осадили вирус. Полученный осадок растворили в минимальном количестве 0,02М-ного ФБ (рН 7,5), центрифугировали при 5000 об./мин. в течении 10 минут, собрали супер, осадок выбросили. Полученный супер содержащий вирусные частицы, для удаления из него использованных при очистке солей (ПЭГ и NaCl) диализировали в течении 2 часов в дистиллированной воде. После диализа получили частично очищенный препарат вируса, однако в нем ещё присутствуют некоторые белки и смеси, поэтому надо провести дополнительные этапы очистки.

Многочисленность этапов очистки вирусов, использование жёстких методов очистки или же использование осаждения в изoeлектрической точке, осаждение с помощью солей (ПЭГ, NaCl, сульфат аммония и др.) в значительной степени приводят к агрегации вирусных частиц [4, 5, 9]. По этому в следующих исследованиях для очистки вирусов использовали такие “щадящие” методы как гельфильтрации.

В исследованиях ряда учёных [1, 4, 9] приводятся такие сведения, что размер пор сефадекса G-200, который используется при гельфильтрации, равен 40-120 мкм и при его использовании можно разделить вещества только с м.м. до 200 кД, а частицы большего размера нельзя отделить. При увеличении %-ного содержания раствора агара размер их пор будет уменьшаться. Размер пор 3%-ного агар-агара составляет 35-40 мкм и эта даёт возможность отделять вещества молекулярной массой больше чем 1000 кД [2].

В наших дальнейших исследованиях, был получен частично очищенный вирусный препарат выше указанным способом, затем его методом гельфильтрации пропустили через колонку заполненной 3%-ным агар-агаром, у которого частицы измельчены до 14×2 см размера и получили несколько фракций. При исследовании полученных фракций спектрофотометрическим методом и с помощью индикаторных растений было установлено, что вирус и органические соединения мелких размеров выходят в очень близких фракциях. Для устранения этого недостатка была удлинена длина хроматографической колонки. Также на поверхность геля в колонке налили в 8 см толщине сефадекс G-200 набухший в воде и колонку в течении нескольких часов промывали буфером.

Для гельфильтрации была подготовлена выше описанным путём вирусная проба, в неё добавили в малом количестве сахарозу, затем после полной готовности колонки пробу внесли под буфер и начали гельфильтрацию. В процессе гельфильтрации элюенты собирали по 3 мл, скорость элюции составило 35 мл в час. Полученные фракции исследовали спектрофотометрически и определили спектр поглощения УФ-лучей (рис.1).



Рис.1. Спектр поглощения УФ лучей.

При проведении опытов было установлено, что из хроматографической колонки вирус выходит начиная 7 фракции, а на 10 фракции его выход составляет максимальное количество, а потом снижается. Начиная с 12 фракций выходят клеточные компоненты. Инфекционность фракций исследовали на растениях *G. globosa* и установили что 7-10 фракции имеют высокую инфекционность. Также фракции исследовали и методом ИФА (рис.2, А) и в этом случае также было установлено, что в 7-10 фракциях присутствует ХВК. Спектро-фотометрический показатель фракций который вышел вирус приведен на рис.2,Б. С помощью выше приведённого метода из 1 кг вирусного материала (листьев) растения *D. stramonium* L. было

выделено 135,5 мг чистого вирусного препарата.

В следующих исследованиях методом гельфильтрации, в отличие от других авторов [3] колонка заполнялась 2 видами геля – нижняя часть 3%-ной агарозой (измельчённой), сверху сефадексом (G-200). Причиной этому служили приведённые многими авторами [1, 3, 10] сведения, что поры геля приготовленные из 3%-ного раствора агар-агара могут выделят макромолекулы у которых величина больше 1000 кД, а сефадекс (G-200) макромолекулы величиной до 200 кД [6]. Кроме этого, по мнению некоторых авторов [4], макромолекулы имеющие большую молекулярную массу не проникая внутрь пор геля двигаются в свободном объёме колонки. Также указано, что после нескольких обработок, в составе частично очищенного препарата остаются макромолекулы м.м. 50-60 кД, а также ряд клеточных компонентов, они задерживаются в гранулах геля, в том числе диффундируя задерживаются в гранулах сефадекса G-200 [3, 6]. Более крупные макромолекулы отделяясь, проникают в агарную часть заполненной колонки и как было сказано выше, макромолекулы с м.м. до 1000 кД диффундируются внутрь пор агара, а более крупные в свободном объёме колонки в смывающей жидкости, тоист в элюенте, выходят раньше них и создают первый пик элюции [4, 10].

Препарат, полученный нами методом гельфильтрации был исследован спектрофотометрическим методом. Установлено, что соотношение D_{260}/D_{280} препарата составляет 1,2, самый высокий пик поглощения света, тоист максимальный показатель равен 260нм, а минимальный 245 нм. Также препарат был исследован электронномикроскопическим метод и было установлено, что вирион вируса имеет нитевидную форму, который соответствует ХВК.

Следующая наша задача заключалась в получении специфической антисыворотки (АС) к полученному вирусу. Приготовление специфической АС включает в себе несколько этапов. Схематическое изображение получения АС приведен на рис.2. Для этого отделенный биологическим путём от смеси вирусов, очищенный оптимальным вариантом чистый, гомогенный вирусный препарат, на каждый 1 мл вирусного препарата добавляли по 1 мл адьюванта Фрейнда, осторожно, медленно смешивали до получения стабильной эмульсии и затем в мускулы бедер, под кожно в

лопатку по 4 мг/мл через день (всего 5 раз) вводили лабораторным животным (в нашем случае это были кролики рода Шиншилла). На 14 день после последней иммунизации с ушной вены кролика брали по 10 мл, после 3 суток опять брали 10 мл крови. Кровь на сутки оставляли в комнатной температуре и она отделялась на 2 части: сыворотки и форменные элементы. Сыворотку сливали в отдельные центрифужные пробирки и для отделения от оставшихся остатков форменных элементов центрифугировали при 2000 об./мин. в течении 5 минут, собрали очищенную АС и определяли его титр с помощью метода реакции двойной диффузии (РДД). Титр АС, полученный первый раз (на 14 день инъекции) была равна 1:4, а титр АС, полученной позже, составил 1:16 (рис.2, А).

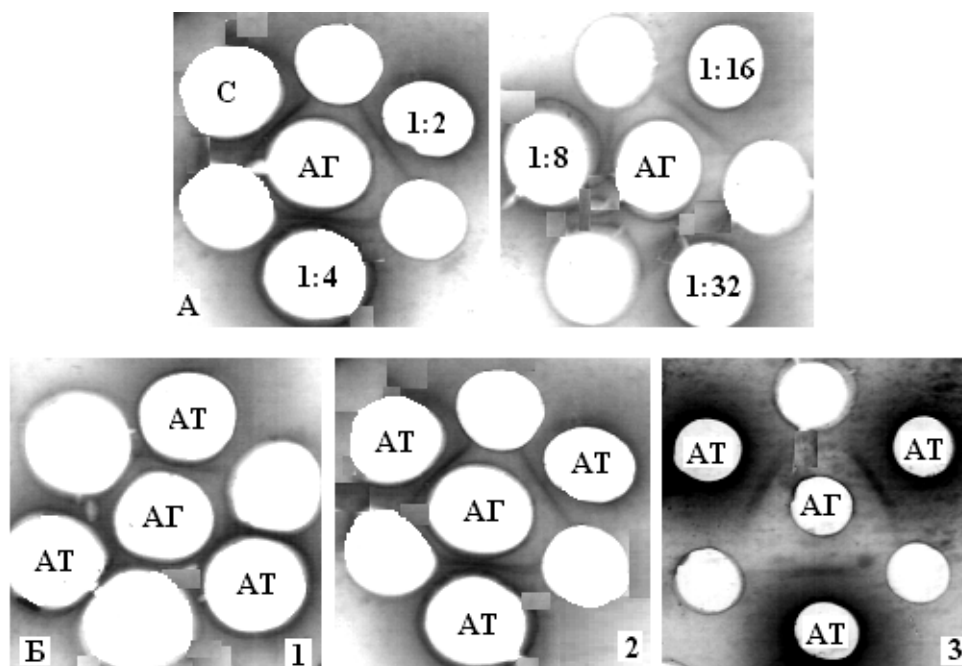


Рис.2. Определение титра АС с помощью РДД.

А – титр полученной АС: С - не разведённая АС и разведённая в 2, 4, 8, 16, 32 раза АС; Б – определение оптимальной степени реакции преципитации АГ и АС при РДД: 1 – расстояние между лунками 3 мм, 2 - 5 мм, 3 - 6 мм.

В целях определения оптимального расстояния движения АС в геля агара и проявление реакции преципитации с АГ расстояние между лунками для АГ и АС составляли 3, 5 и 6 мм. В лунки с различными расстояниями налили АГ и АС и наблюдали за проявлением линий преципитации (рис.2, Б).

В результате проведённых исследований методом РДД стало известно, что оптимальное расстояние между лунками соответствовала 3-5 мм, потому что она была намного чёткая по сравнению с реакцией наблюдаемой между АГ и АС при расстоянии 6 мм. Однако, при окрашивании (приготовлении поятаянного препарата) реакции в 3 мм расстоянии линии преципитации не были четко видны, а в расстоянии 5 и 6 мм линии преципитации были окрашены и видны более чётки. По этому, оптимальным расстоянием между лунками, которые вносятся АС и АГ принята считать расстояние 5 мм (рис. 2, Б).

АС с определёнными титрами по 0,6 мл налили в флаконы, добавили по 1-2 капли хлороформа, плотно закрыли и хранили в холодильнике при -4°C . Количество АС полученной в первый раз составили 5 мл, во второй полученной пробе составила 7,5 мл, в общем в полученной 20 мл крови составила 12,5 мл. Если для исследования 1 анализа методом РДД используется 10 мкл (для маленькой лунки) АС, 100 мкл на 10 проб, 1 мл на 100 проб, полученная нами 12,5 мл АС в неразведённом состоянии хватит на 1250 проб. В нашем случае титр первой полученной АС составляет 1:4, а второй 1:16. Нами в наших исследованиях было установлено что полученная нами АС работает даже при разведении 1:8. Значит, если полученную нами АС в объёме 12,5 мл развести до 1:8, а это составит 50 мл, то 12,5 мл АС можно проанализировать 1250 проб, а 50 мл АС можно проанализировать 5000 проб.

Заключение. Используя модификацию при очистке вируса, ХВК был выделен из растений *D. stramonium* L., который использовался в качестве – дифференциатора, а для биологической очистки было использовано растение *G. globosa*. Установлено, что самыми удобными растениями-накопителями являются *D. stramonium* L. Из этих растений можно собрать максимальное количество вирусного материала. В процессе очистки этот материал легко разрушается и имеет несколько других преимуществ. Чистый, гомогенный вирусный препарат был получен методом гельфильтрации в «комплексной» колонке в котором верхний слой состоял из сефадекса G-200, нижний слой из агар-агара. Была определена концентрация вируса. На основе чистого вирусного препарата получена АС с высоким титром и были изучены иммунохимические свойства вируса по действию на АГ. Методом РДД установлены титр первичной приготовленной АС, она была равна 1:4 и следующей, которая была равна 1:16. Полученная специфическая АС была применена при диагностике Х-вируса картофеля, обнаруженной в нашей республике и названа узбекским изолятом - ХВК-Уз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атабеков И.Г. Иммунодиагностика вирусов растений резервных миллиардов сельском хозяйстве // Биотехнология. Москва, 1984, 234-238 с.
2. Бондус Р. А., Таран О. П., Мищенко Л. Т., Павлик С. А., Изучение устойчивости коллекционных сортов картофеля к вирусным болезням в лесостепи Украины // «Живые и биокосные системы». – 2014. – № 9; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-29>.
3. Вахобов А.Х. Умумий вирусологиядан амалий машғулотлар. I-жилд, –Тошкент: Университет, 2004. – 150 б
4. Гнутова Р.В., Толкач В.Ф. Фитопатогенные вирусы и их штаммы, идентифицированные на азиатской территории России // Микробиологический журнал. – Москва. 2004.- Т. 66. - №4. - С. 48-55.
5. Гнутова Р.В., Толкач В.Ф., Несмелов И.Б. Идентификация, диагностика и филогенетический анализ вирусов овощных культур в агроценозах бассейна реки Амур (Хабаровский край) // Растительный мир Азиатской России, 2014. – №4(16). – С. 71–77.
6. Дьяконов К.П. Экологическая характеристика полевой популяции тлей (Homoptera, Aphididae), вредящих сое. // Аграрная наука - сельскохозяйственному производству Дальнего Востока: К 75 летию образования Россельхоз академии. - Владивосток. 2005. - С. 403-407.
7. Эргашев И.Т. Абдукаримов Б.Т., Остонакулов Т.Э. Картошканинг вирусиз уруғчилиги оид тавсиялар. – Тошкент: Фан, 2005, - 19 б.
8. Макарова С.С., Макаров В.В., Тальянский М.Э.. Устойчивость картофеля к вирусам: современное состояние и перспективы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):62-73
9. Егизбаева Т.К., Лесова Ш.Т., Жумагелданов Б.К. Получение устойчивых к стрессовым факторам внешней среды линий картофеля // Биотехнология в Казахстане: проблемы и перспективы инновационного развития: Тез. докл. – Алма-ата, 2008. – С. 84-87.
10. Agindotan B.O., Shiel P.J., Berger P.H., Simultaneous detection of potato viruses, PLRV, PVA, PVX and PVY from dormant potato tubers by TaqMan® real-time RT-PCR. J. Virol methods. 142, 2007. – p. 1-9.
11. Clark, M. F., and Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483.
12. Kalina N.O., Rakitina D.V., Solovyev A.G., Schiemann J. & Morozov S.Y. RNA helicase activity of the plant virus movement proteins encoded by the first gene of the triple gene block. Virology 296, 2002. – P. 321–329
13. Solovyev A.G. et al. Genom characterization and taxonomi of Plantago asiatica mosaic potexvirus // J. of General Virology. 75, 1994. – p. 259-267.

Чирчикский гос. педагогический институт

Дата поступления
04.05.2019

З.А. КАДИРОВА, С.А. МАХКАМОВ
КЛАССИФИКАЦИЯ АСПОРОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ
ОВОЩНЫХ КОНСЕРВНЫХ ПРОДУКТОВ

sardor-maxkamov@mail.ru

З.А. Кадирова, С.А. Махкамов

САБЗАВОТ КОНСЕРВА МАҲСУЛОТЛАРИНИНГ АСПОРОГЕН АЧИТҚИЛАРИ МИКРОФЛОРАСИ

Сурхондарё вилояти консерва маҳсулотлари микрофлорасидаги аспороген ачитки замбуруғларининг морфологик, культурал хусусиятлари ўрганилган ва систематик белгиларига кўра таърифланган.

Калим сўзлар: аспороген ачитки.

З.А. Кадирова, С.А. Махкамов

КЛАССИФИКАЦИЯ АСПОРОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ ОВОЩНЫХ КОНСЕРВНЫХ ПРОДУКТОВ

Изучены морфологические, культуральные свойства аспорогенных дрожжей консервных продуктов Сурхандарьинской области и классифицированы.

Ключевые слова: аспорогенные дрожжи.

Z.A. Kadirova, S.A. Maxkamov

CLASSIFICATION OF ASPOROGENOUS YEAST OF CANNED FOOD PRODUCTS

Morphological, cultural properties of asporogenous yeast of the canning products of the Surkhandarya region have been studied and classified.

Key words: asporogenous yeast.

Введение. Аспорогенные дрожжи классифицируются по системе Ж. Лоддер и Крегера ван Рий, предложенной в 1970 г. В основу классификации положены способность микроорганизмов образовывать ложный мицелий и способность к брожению. Главными родами этой группы являются *Candida* и *Torulopsis* [1,]. Среди аспорогенных дрожжей имеются окрашенные в желтый, розовый, красный цвета, обусловленные наличием в клетках пигментов каротиноидов. В настоящее время некоторые из этих дрожжей (виды рода – *Rhodotorula*) используют для получения кормовых белково-каротиноидных препаратов, которые являются источником витамина А для животных [3, 4].

По классификации Ж. Лоддера и Крегера Ван Рия несовершенные дрожжи, не способные размножаться половым путем, а также утратившие способность к спиртовому брожению, представляют собой почкующиеся или делящиеся клетки, некоторые из них образуют псевдомицелий (вытянутые клетки). Классификация основана на следующих систематических признаках: способность образовывать ложный мицелий и отношение к сахарам. К аспорогенным относятся дрожжи родов *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* [1, 2].

Целью исследования было выделение и изучение аспорогенных дрожжей консервных продуктов (икра баклажановая, зеленый горошек, лечо, томатная паста), производимых на консервных заводах Сурхандарьинской области, а также определить таксономическое описание доминирующих видов аспорогенных дрожжевых микроорганизмов.

Материалы и методы. Отбор проб для исследования проводили со всего ассортимента овощных консерв: икра баклажановая, зеленый горошек, лечо, томатная паста.

Исследования осуществляли по следующей методике:

определенное количество проб (примерно 1 г) вносили в жидкое виноградное сусло (5 мл) и оставляли в термостате при 26°C на 48 часов;

через двое суток из суспензии виноградного сусла делали высев на сусло агар в чашках Петри глубинным и поверхностным способом в двух повторностях и оставляли в термостате на 2-3 суток при температуре 26°C;

выросшие через трое суток колонии дрожжей высевали на косячки (виноградный сусло-агар в пробирках, из каждой колонии отвивали в две пробирки);

выросшие на косячках дрожжевые культуры через 3-4 суток проверяли на чистоту прямым микроскопированием (однородность клеток микроорганизмов);

у выделенных такой методикой чистых культур дрожжевых микроорганизмов изучали спорообразующую способность либо ее отсутствие.

Далее мы изучали культуральные, морфологические и физиологические свойства доминирующих штаммов дрожжевых микроорганизмов [4, 5, 6].

При определении систематического положения изолированных чистых культур дрожжей пользовались определителем (Lodder, 1970) аспорогенные дрожжи [1].

Анализ результатов. Дрожжевая микрофлора овощных консервных продуктов производства Сурхандарьинской области очень разнообразна. Как отмечалось, значительное место в микрофлоре икры баклажанной, зеленого горошка, лечо, томатной пасты занимают дрожжи. Дрожжи имеют разнообразную форму: круглую, эллиптическую, овальную, реже лимонообразную и цилиндрическую, иногда сильно вытянутую в виде гиф. Форма и структура клеток непостоянны: они могут меняться в связи с изменением условий культивирования.

Результаты наших исследования показали присутствие дрожжей во всех исследованных образцах разных сортов икры баклажанной, зеленого горошка, лечо, томатной пасты. Преобладали дрожжи рода *Torulopsis sp.* (рис. 1).

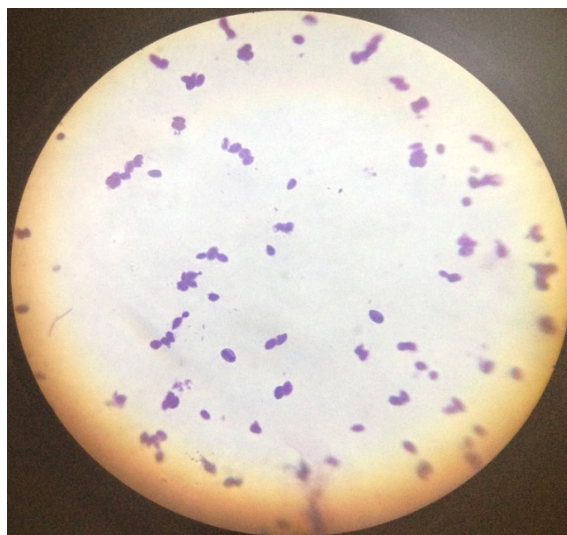


Рис. 1. Клетки дрожжей вида *Torulopsis sp.* Увел. 680.

К роду *Candida* мы отнесли дрожжевые организмы, легко образующие псевдомицелий, при этом клетки псевдомицелия и бластоспоры располагаются по определенному типу.

Штаммы, отнесенные к роду *Candida*, размножались почкованием и имели клетки разнообразной формы и величины. На жидком солодовом сусле образовывали пленку, кольцо и осадок. Почти все штаммы этого рода отличались способностью сбраживать сахара.

При идентификации дрожжей до вида учитывали следующие признаки: характер роста на плотных и жидких средах; характер псевдомицелия и расположение бластоспор на предметных стеклах со слоем агаризованной среды; способность сбраживать и усваивать углеводы, усваивать нитраты в качестве единственного источника азота.

Морфологические и физиологические признаки дрожжей этого рода не всегда были стабильными. Колонии на сусло-агаре были гладкими, а в ряде случаев – складчатыми, псевдомицелий и бластоспоры не всегда удавалось выявить. Наиболее устойчивый признак: способность усваивать сахара путем сбраживания и окисления.

Среди выделенных дрожжей преобладали виды *Torulopsis bacillaris*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis* и др. (табл. 1).

Таблица 1.

**Видовой состав дрожжевой микрофлоры овощных консервных продуктов производства
Сурхандарьинской области**

№	Виды	Частота встречаемости
1	<i>Candida crusei</i>	Очень часто
2	<i>Candida tropicalis</i>	Очень часто
3	<i>Candida mycoderma</i>	Часто
4	<i>Candida utilis</i>	Часто
5	<i>Torulopsis bacillaris</i>	Очень часто
6	<i>Torulopsis datilla</i>	Часто
7	<i>Torulopsis fomata</i>	Часто
8	<i>Torulopsis candida</i>	Очень часто

Результаты исследований показали, что значительное место в микрофлоре консервных продуктов (лечо и томатное пасто) занимают дрожжи рода *Rhodotorula* (рис. 2).

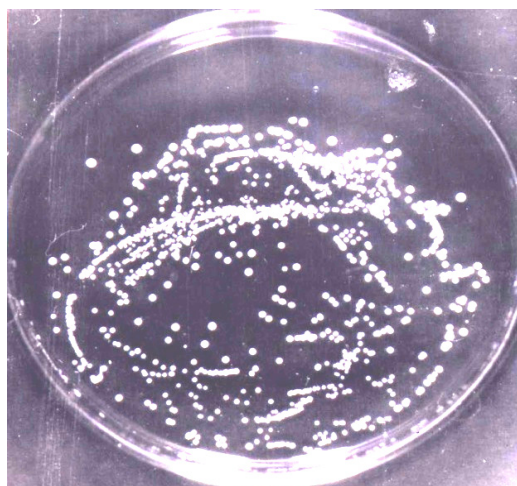


Рис.2. Колония дрожжей вида *Rhodotorula sp.* на солодовом сусло-агаре в натуральной форме.

Дрожжи обнаружили в большом количестве почти во всех исследованных образцах консервных продуктов. Среди выделенных дрожжей преобладали виды *Torulopsis bacillaris*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis*, *Candida guilliermondii* и др.

Приведем таксономическое описание выделенных из консервного производства доминирующих видов аспорогенных дрожжей.

Таблица 2.

**Классификация дрожжевых микроорганизмов консервного производства
Сурхандарьинской области**

№	Семейство	Род	Вид	Автор
1	Cryptococcaceae	<i>Candida</i>	<i>Candida pulcherrima</i>	(Lindner) Windisch,
			<i>Candida sp.</i>	Berkhout,
		<i>Torulopsis</i>	<i>Torulopsis sp.</i>	Berlese
			<i>Torulopsis bacillaris</i>	Kroemer et. Krumbholz, Lodder,
		<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula sp.</i>	Harrison

При исследовании из консервных продуктов (икра баклажановая, зеленый горошек, лечо, томатная паста) в чистую культуру выделено более 40 штаммов дрожжевых микроорганизмов, часть которых оказалась не спорообразующими. Установлено, что 70% выделенных чистых культур составляют спорообразующие дрожжи, а около 25-30% - аспорогенные дрожжи.

Заключение. Изучение культуральных, морфолого-физиологических и биохимических свойств изолированных культур дало возможность описать аспорогенных дрожжевых микроорганизмов. Доминирующими видами микрофлоры консервного производства Сурхандарьинской области являлись *Rhodotorula glutinis*, *Rh.rubra*, *Rhodotorula sp.*, *Torulopsis fomata*, *Tor. bacillaris*, *Tor. apicola*, *Torulopsis sp.*, *Candida crusei*, *C. utilis*, *C. tereus*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lodder J. The yeasts. A taxonomic study. –Amsterdam-London, 1970.
2. Госманов Р.Г. Санитарная микробиология пищевых продуктов. Учебное пособие. СПб. 2015, 560 с.
3. И.А. Еремина, О.В. Кригер. Общая микробиология: Учебное пособие / Кемеровский технологический институт пищевой промышленности Кемерово, 2002.- 112 с.
4. Джей, Д.М. Современная пищевая микробиология / Д.М. Джей, М.Д. Лесснер, Д. Гольден. - М.: Бином, 2014. - 886 с.
5. Красникова, Л.В. Микробиология: Учебное пособие / Л.В. Красникова. - СПб.: Троицкий мост, 2012. - 296 с.
6. Вербина Н.М., Каптерева Ю.В. Микробиология пищевых производств.- М.: Агропромиздат, 1988.- 256 с.

Институт микробиологии

Дата поступления
28.12.2018

БОТАНИКА

НИКИТИНА Е.В., ХАЛБЕКОВА Х.У., КАРИМОВ Ф.И., ПУЛАТОВ С.О.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В ИЗУЧЕНИИ ФИЛОГЕНИИ РАСТЕНИЙ

Никитина Е.В., Халбекова Х.У., Каримов Ф.И., Пулатов С.О.

ЎСИМЛИКЛАР ФИЛОГЕНИЯСИНИ ТАДБИҚ ЭТИШДА МОЛЕКУЛЯР МАРКЕРЛАРДАН ФОЙДАЛАНИШ

Ўсимликларнинг келиб чиқиши ва улар ўртасидаги қариндошлик белгиларини молекуляр-филогенетик таҳлил этишда энг муҳим воситалардан бири хлоропласт геномининг алоҳида қисмлари (*rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rps 16*, *rpl 16*, *atpB*) ва генлараро спайсерлар (*psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH*, *atpB-rbcL*, *rps4-trnS*, *trnL-F*, *trnS-G*) муҳим аҳамиятга эгадир. Ядроли спайсерлардан энг кўп учрайдиган ички транскрипцияланган робосомал ген оралиғи: *ITS1* ва *ITS2*. Барча ўсимлик гуруҳлари учун хос бўлган универсал генлар аниқланмаганлиги боис, улар устида олиб борилаётган филогенетик тадқиқотларда бир вақтнинг ўзида бир неча ДНК-маркерларидан фойдаланилмоқда.

Калит сўзлар: молекуляр-филогенетик таҳлил, ДНК-маркерлари, хлоропластли ва ядроли геномлар, геном полиморфизми.

Никитина Е.В., Халбекова Х.У., Каримов Ф.И., Пулатов С.О.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В ИЗУЧЕНИИ ФИЛОГЕНИИ РАСТЕНИЙ

Для выяснения происхождения и родственных связей растений в молекулярно-филогенетическом анализе служат отдельные участки хлоропластного генома (*rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rps16*, *rpl16*, *atpB*) и межгенные спейсеры (*psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH*, *atpB-rbcL*, *rps4-trnS*, *trnL-F*, *trnS-G*). Из ядерных последовательностей наиболее известны внутренние транскрибируемые спейсеры рибосомных генов: *ITS1* и *ITS2*. Установлено, что при филогенетических построениях используют одновременно несколько ДНК-маркеров, так как, универсальных для всех групп растений генов пока не обнаружено.

Ключевые слова: молекулярно-филогенетический анализ, ДНК-маркеры, хлоропластные и ядерные геномы, геномный полиморфизм.

Nikitina E.V., Khalbekova Kh.U., Karimov F.I., Pulatov S.O.

USES OF MOLECULAR MARKERS IN THE PHYLOGENETIC STUDIES OF PLANT

Plant DNA regions *rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rps16*, *rpl16*, *atpB* and intergenic spacers *psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *trnH-psbA*, *atpF-rpl16*, *atpB-rbcL*, *rps4-trnS*, *trnL-F*, *trnS-G* of chloroplast genome are important tools for molecular phylogenetic analysis. Internal transcribed ribosomal gene spacers (*ITS1*, *ITS2*) are the most well-known of nuclear sequences. Phylogenetic studies is usually carried out in combination with several DNA markers at once, since there are not universal genes for all plant groups.

Key words: molecular-genetic analysis, DNA-markers, chloroplast and nuclear genomes, genomic polymorphism.

Введение. Дикорастущие растения составляют основу биологических ресурсов Узбекистана, поэтому стратегической задачей республики является сохранение видового разнообразия дикорастущей флоры. При сохранении и мобилизации генофондов видов растений необходимо сохранить их морфологическое, функциональное и адаптационное разнообразие, отразить богатство внутривидовой изменчивости, как на межпопуляционном, так и на внутривидовом уровне. Большое фенотипическое разнообразие представителей дикой флоры, произрастающие на территории республики, определено своеобразными климатическими условиями, разнообразием зональности, высотными поясами [1,2]. Среди большого видового разнообразия растений местной флоры имеются группы редких, эндемичных и реликтовых видов [3,4], наиболее адекватно отражающие направления миграционных потоков при формировании флоры и процессы флорогенеза на ограниченных территориях. Чрезвычайное разнообразие морфо-экологических характеристик и многочисленные хромосомные вариации усложняют систематику семейств. Вследствие чего, видоиден-

тификация, оценка меж- и внутривидового генетического полиморфизма, а также филогенетические и эволюционные отношения между видами являются важнейшими задачами современной биологии.

Современная систематика дикорастущих растений в Узбекистане основана преимущественно на классических методах ботаники, проблема построения естественной классификации таксонов, отражающей их филогенетическую историю, построена на основании сравнения морфо-анатомических признаков и кариологических данных [5,6]. Отечественных исследований с использованием генетических методов в изучении филогенетики – идентификации и выяснения эволюционных взаимоотношений между видами, генетического разнообразия дикой флоры Узбекистана к сожалению немногочисленны [7]. Поэтому основными приоритетными направлениями фундаментальных исследований, проводимыми Институтом ботаники АНРУз, являются изучение сложных видовых комплексов на базе совместных ботанических и молекулярно-генетических исследований, важными для решения спорных моментов в эволюционной биологии.

Особый интерес в настоящее время, представляет проведение исследований с помощью молекулярно-генетических маркеров видового разнообразия диких видов растений с высоким внутривидовым полиморфизмом, и напротив с высоким межвидовым морфологическим сходством. Использование молекулярных маркеров для изучения филогении и горизонтального родства таксонов позволяют существенно дополнить и уточнить традиционные классификационные системы: оценить внутривидовой полиморфизм, осложняющий возможность отличать представителей близких видов друг от друга, с высокой точностью идентифицировать виды, отследить филогенетические взаимоотношения между видами, популяциями и отдельными индивидами, определить систематическую принадлежность вида.

Гены, последовательность которых мало различается даже у удаленных в эволюционном отношении образцов (митохондриальные гены НАДФ-Н дегидрогеназы, гены гистоновых белков, некоторые рРНК) не могут быть использованы для идентификации видов, так как различий для их определений, накопленных за миллионы лет эволюции недостаточно. С другой стороны, неэффективными являются маркеры видовой идентификации с излишне вариативными областями генома (некодирующие области, тРНК, гены, кодирующие мультисемейства белков). В этом случае, слишком высокая изменчивость, не позволяет связать определенную последовательность нуклеотидов с конкретным таксоном. В современной филогении растений используются ДНК-маркеры, несколько более или менее общие для всех живых организмов, скорость накопления мутаций в которых близка к скорости появления новых видов.

Задача генетических исследований - рациональный подбор оптимального варианта ДНК-маркеров, являющийся наиболее разнообразным, многочисленным и постоянно увеличивающимся с совершенствованием современных технологий классом маркеров на сегодня. Лишь небольшое количество молекулярных маркеров в настоящее время оказалось полезным для филогенетического логического вывода системы цветковых растений [8]. В идеальном случае для такого маркера одной последовательности нуклеотидов соответствует единственный таксон, т.е. все представители этого таксона будут иметь такую нуклеотидную последовательность маркера (гена), в то время как представители родственных таксонов – иную.

Вследствие невозможности точной оценки гомологичных морфологических характеристик, наиболее целесообразным является применение молекулярных данных для эволюционной реконструкции на высоких таксономических уровнях (семейства). В последние два десятилетия молекулярно-филогенетические исследования внесли значительные изменения в наши представления о взаимоотношениях между таксонами различных уровней. При этом, достоверная информация о том, какими же путями шла эволюция, полученная при помощи современных молекулярно-биологических методов, появилась лишь в недавнее время. Благодаря им выдвинуто множество новых гипотез эволюции растений, существенно повлиявших на систематику, выявлены несоответствия между молекулярно-филогенетическими данными и морфологической системой.

Генетические маркеры обычно подразделяют на три основных класса: морфологические маркеры соответствует гену, аллели которого имеют четко выраженные отличия на уровне фенотипа, молекулярные маркеры соответствует гену или некодирующему участку генома, разные варианты (аллели) которого отличаются на уровне ДНК, белковые маркеры соответствует гену, аллели которого имеют отличия (разную молекулярную массу) на уровне белкового продукта [9].

В целом наиболее важные критерии, которыми должен обладать «идеальный» тип маркера, для решения поставленной задачи, позволяющие повысить достоверность получаемых результатов: универсальность праймера, то есть высоко полиморфный, применимый для амплификации и секвенирования не только близкородственных видов, но и представителей других таксонов растений; иметь кодоминантное наследование, позволяя выявлять генотипы в гомозиготном и гетерозиготном состоянии у диплоидных организмов; маркер должен случайно и часто быть распределен по геному; иметь высокую воспроизводимость; нечувствительность к воздействию окружающей среды, нейтральность.

Необходимо отметить, что ДНК-маркеры имеют ряд существенных преимуществ перед морфологическими. Так, на проявление морфологических признаков существенно влияют условия произрастания, таким образом, не всегда изменяясь дискретно. Морфологические признаки представляют собой лишь одно из проявлений гена, другие аспекты фенотипа могут быть скрыты от поверхностного наблюдения. Тогда как ДНК-маркеры дают возможность выявить недоступные визуальному анализу точечные мутации. Как указывалось, различные области геномной ДНК эволюционируют с различной скоростью, что и используется при их классификации. Морфологические маркеры практически не соответствуют этим критериям. Они недостаточно полиморфны, часто подвержены влиянию других свойств или признаков и могут быть зависимы от воздействия окружающей среды, могут быть доминантными, либо рецессивными (не кодоминантными), что накладывает определённые ограничения в их использовании.

Видоидентификация дикорастущих растений с использованием ДНК-маркеров, основаны на четырех базовых методах: 1. молекулярно-генетическая блот-гибридизация (рестрикционный анализ, RFLP); 2. метод ПЦР, базирующийся на полиморфизме продуктов ПЦР различного происхождения или рестрикционных фрагментов; 3. ДНК-чип технология (SNP анализ); 4. метод секвенирования (прочтения последовательности) варьируемых таксономически значимых фрагментов ДНК. Данная классификация отражает процесс «эволюции» ДНК-маркеров [8].

Основные монолокусные и мультилокусные ДНК-маркеры

Методы	Маркеры	
	монолокусные	мультилокусные
Блот-гибридизация	RFLP– полиморфизм длины рестрикционных фрагментов	Минисателлиты
ПЦР	SSR– простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты) STS– последовательности, характеризующие locus SCAR– последовательность, характеризующая амплифицированную область SSCP– полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК CAPS– расщепленные амплифицированные полиморфные последовательности	RAPD– случайно амплифицированная полиморфная ДНК ISSR– межмикросателлитные последовательности IRAP– полиморфизм амплифицированных последовательностей между ретротранспозонами AFLP– полиморфизм длины амплифицированных фрагментов S-SAP– полиморфизм специфично амплифицированных последовательностей
Секвенирование, ДНК-чипы	SNP– однонуклеотидный полиморфизм	DArT– ДНК-чип технология для изучения разнообразия

Для анализа внутривидового разнообразия или родственных отношений между близкородственными таксонами используется метод с анонимным полиморфизмом продуктов ПЦР различного происхождения или рестрикционных фрагментов, позволяющий получить паттерн всего генома. Так анализ полиморфизма амплифицированных микросателлитных (SSR) последовательностей ДНК позволяет устанавливать филогенетические связи между видами растений. Микросателлитные локусы, в основном, являются некодирующими участками ДНК, и, следовательно, не подвергаются действию естественного отбора. Здесь могут накапливаться мутации, что обуславливает

высокий полиморфизм этих зон. Чаще всего они обладают кодоминантным типом наследования. Такие простые повторы широко распространены в геномах растений, в том числе в генных локусах [9].

При филогенетических исследованиях дикорастущих растений, довольно эффективен метод анализа последовательностей ДНК определенных генов или секвенирования таксономически значимых фрагментов ДНК, к каковым относят ряд вариабельных участков *хлоропластного* и *ядерного геномов*, фланкированные консервативными участками. Исследование хлоропластных геномов в настоящее время является одним из основных источников информации о филогении и эволюции растений.

В настоящее время определены более ста хлоропластных геномов наземных растений (*rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rps16*, *rpl16*, *atpB*) [10]. При этом для выяснения происхождения и родственных связей растений в молекулярно-филогенетическом анализе высоких таксономических категорий (в пределах семейства, трибы, группы родов и видов крупного рода) важным инструментом служат кодирующие участки хлоропластного генома. Так, у покрытосеменных растений известно около 50 генов хлоропластного генома кодирующие белки, участвующие в формировании фотосинтетического аппарата. Гены *psb* кодируют субъединицы фотосистемы II, перспективны для изучения филогенетических взаимоотношений на низком таксономическом уровне; *psa*, *ycf3* и *ycf4* участвуют в формировании фотосистемы I; *pet* кодируют субъединицы цитохромного b6/f-комплекса, осуществляющего взаимодействие фотосистемы I и фотосистемы II; гены *atp* кодируют субъединицы фермента АТФ-синтазы, катализирующего превращение фосфата и АДФ в АТФ; гены *ndh* кодируют субъединицы хлоропластного НАДФН – пластохиноноксидоредуктазного комплекса, участвующий в циклическом потоке электронов. Гены рибосомных РНК (*rrn*): гены *rpl* для большой субъединицы, *rps* гены для малой субъединицы, *rpo* гены для субъединиц мульти-субъединичной хлоропластной РНК-полимеразы.

Ранее других и в настоящее время для анализа отношений таксонов крупного ранга (например, основных групп покрытосеменных, а также порядков или групп семейств) с успехом используется ген большой субъединицы рибулоза-1,5-бифосфаткарбоксилазы/ оксигеназы *rbcL*, длиной более 1400 пн [10].

Известно, что кодирующие регионы очень медленно эволюционируют и непригодны для поиска нуклеотидного полиморфизма среди ортологичных генов близкородственных видов, по сравнению с некодирующими областями хлоропластного генома, имеющие большую частоту мутаций и занимающие большую часть пластома [11]. Секвенирование быстро эволюционирующих *межгенных спейсеров* - области, отделяющие кодирующие участки ДНК (*psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH*, *atpB-rbcL*, *rps4-trnS*, *trnL-F*, *trnS-G*) и *интронов*- некодирующие участки ДНК в пределах гена нашло широкое применение для получения филогенетической информации на низком таксономическом уровне- внутривидовом и внутриродовом. Насчитывается 30 типов генов транспортной РНК (*trn*). В числе первых, в таких исследованиях опробованы участки: *trnL-trnF* спейсер вариабельный участок между генами транспортных РНК лейцина и фенилаланина, экзоны *trnL* короткие (около 80 н.п.) и консервативные, они не несут серьёзной филогенетической информации. Интрон гена *trnL*, длиной 350-600 пн, напротив, эволюционирует достаточно быстро, который также активно используется в филогенетических исследованиях (секвенирован у более 7 тысяч таксонов покрытосеменных); *trnT-trnL*; *atpF-atpH* спейсер между генами, кодирующими субъединицы АТФ-синтазы; *atpB-rbcL*; *psbK-psbI* спейсер генов кодирующих компоненты фотосистемы II; *trnH-psbA* спейсер между генами гистидиновой транспортной РНК и геном, контролирующим синтез белка D1 фотосистемы II; *rpS4-trnT* спейсер между геном рибосомального белка 4 малой субъединицы и треониновой транспортной РНК; *rpl32-ndhF*, *rpl32-trnL* и другие [12].

Но, пожалуй, наиболее используемым хлоропластным маркером в филогенетических исследованиях растений является ген *matK*, кодирующий матуразу К, которая участвует в сплайсинге интронов II группы и локализуется в интроне гена *trnK*. Это один из наиболее быстро эволюционирующих пластидных генов растений, который сохранился, в том числе и у всех проанализированных на настоящий момент бесхлорофильных растений [11].

Из наиболее популярных некодирующих ядерных последовательностей для филогенетических исследований растений являются последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров ядерных генов рРНК (ITS1 и ITS2) (ITS internal transcribed spacer), для которых характерна высокая вариабельность: ITS1 расположенный между генами 18S и 5,8S РНК, а также ITS2, распо-

женный между генами 5,8S и 28S рНК. По сравнению с генами рНК, спейсеры ITS1 и ITS2 характеризуются более высоким полиморфизмом и широко используются в качестве филогенетического маркера для филогенетических и биогеографических исследований, классификации растений на разных таксономических уровнях [10].

Заключение. Поскольку для молекулярно-филогенетического анализа используется большое количество переменных участков генома возникает проблема выбора оптимального ДНК-маркера. Ни один из множеств маркеров не претендует на универсальность, поэтому при филогенетических построениях используют одновременный анализ нескольких ДНК-маркеров, что способствует увеличению достоверности полученных данных, особенно при использовании как хлоропластного, так и ядерного маркера. Это позволяет в сочетании со всеми другими методами биологии растений приблизиться к решению проблемы точной видоидентификации.

ЛИТЕРАТУРА

20. Тожибаев К.Ш., Бешко Н.Ю., Попов В.А. Ботанико-географическое районирование Узбекистана // Ботанический журнал, 2016, Т.101, №10. - С.1105-1132.
21. Sennikov A.N., Tojibaev K.Sh., Khassanov F.O., Beshko N.Yu. The Flora of Uzbekistan Project // Phytotaxa, 2016, V.282, №2. - P.107–118.
22. Tojibaev K., Beshko N., Karimov F., Batoshov A., Turginov O., Azimova D. The Data Base of the Flora of Uzbekistan // Journal of Arid Land Studies, 2014, V. 24, №1. - P.157-160.
23. Batoshov A. R., Beshko N. Yu. Characteristics of the flora and plant cover of the relic mountains of the South Kyzylkum. Aridnye Ecosystemy // 2013, V.19, №3. - P. 73-78. (In Russ.).
24. Ключиков Е. В., Тожибаев К. Ш., Лысков Д. Ф. Род *Elwendia* Boiss. (Apiaceae) во флоре Узбекистана // Turczaninowia, 2018, V. 21, №2. – P. 210–220.
25. Tojibaev K. Sh., Beshko N. Yu., Kadirov R. U., Skhinas L. V. Basic results of current floristic researches in Uzbekistan (Central Asia) // The 2014 EABCN Symposium «Conservation and Sustainable Development of Biodiversity in East Asia», 13 October 2014. Korea. - P. 27-32.
26. Шеримбетов С.Г. Молекулярно-биологические и экологические особенности растений высохшего дна Аральского моря // Автореферат дисс. д.б.н., 2017. 64 с.
27. Tian X., Li D. Z. Application of DNA sequences in plant phylogenetic study // Acta Bot. Yunnan, 2002, V. 24. – P. 170-184.
28. Zimmer E. A., Wen J. Using nuclear gene data for plant phylogenetics: Progress and prospects II. Next-gen approaches // Journal of Systematics and Evolution, 2015, V. 53, № 5. - P. 371-379.
29. Кузнецов В. В. Хлоропласты. Структура и экспрессия пластидного генома. Т.65, № 4, 2018. - С.243-255.
30. Patwardhan A., Ray S., Roy A. Molecular Markers in Phylogenetic Studies-A Review // J. Phylogen. Evolution. Biol., 2014, V.2, №2. - P.1-9.
31. Dong W., Liu J., Yu J., Wang L., Zhou Sh. Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding // 2012, V. 7, № 4. – P. 1-9.

Институт ботаники

Дата поступления
01.02.2019

ХАМРАЕВА Д.Т.

МОРФО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕДКОГО И ЭНДЕМИЧНОГО ВИДА
KOMAROVIA ANISOSPERMA

hamraeva.dilovar@mail.ru

Хамраева Д. Т.

НОЁБ ВА ЭНДЕМ *KOMAROVIA ANISOSPERMA* ТУРИНИНГ МОРФО-АНАТОМИК ХУСУСИЯТЛАРИ

Илк бор *Apiaceae* оиласининг *Komarovia Korovin* туркумига кирувчи ноёб эндем ўсимлигининг вегетатив ва генератив органларини морфо-анатомик тузилиши ўрганилди. Олинган натижаларнинг таҳлили асосида *Komarovia anisosperma* учун қуйидаги диагностик белгилар ажратилди, яъни чуқур ўқилдизли тизимнинг бўлиши, кўп бошли каудексининг бўлиши, поя бўғимларининг озгина шишсимонлиги, мураккаб кўп марта патсимон бўлакли илдизолди баргларининг ва кам ривожланган ёки қингача редукциялашган поя баргларининг бўлиши, битта мерикарпий 3 та қовурғали, биттаси эса 4 та қовурғали бўлиши қабилардир.

Калит сўзлар: *Komarovia anisosperma*.

Хамраева Д.Т.

МОРФО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕДКОГО И ЭНДЕМИЧНОГО ВИДА
KOMAROVIA ANISOSPERMA

Впервые изучено морфолого-анатомическое строение вегетативных и генеративных органов, для редкого эндемичного растения из монокарпичного рода *Komarovia Korovin* семейства зонтичных. Из проведенного анализа для вида *Komarovia anisosperma* выявлены наиболее диагностические значимые признаки изученных органов, таких как, глубокостержневой тип корневой системы, наличие многоглавого каудекса, немного вздутые междоузлия в побеге, сложные многократно перисто-рассеченные прикорневые листья и слабо развитые или редуцированные до влагалищ стеблевые, один мерикарпий с 3-й, второй с 4-й килевидными боковыми ребрами и др.

Ключевые слова: *Komarovia anisosperma*.

Khamraeva D.T.

MORPHO-ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF RARE AND ENDEMIC SPECIES
KOMAROVIA ANISOSPERMA

First studied the morphological and anatomical structure of vegetative and generative organs for the rare endemic plants of monotypic species *Komarovia Korovin* family *Apiaceae*. From the above analysis for the species *Komarovia anisosperma* revealed the most diagnostically significant signs of the studied organs such as deep-root of the first type of root system, the presence of many-headed caudex, slightly swollen nodes at the shoot, complex multiple pinnatisected basal leaves and underdeveloped or reduction to the boot cauline, one mericarpium with the 3rd, second with 4th keeled lateral ribs, etc.

Key words: *Komarovia anisosperma*.

Введение. В эпоху резкого усиления антропогенного стресса и угрозы экологической катастрофы особо актуально всестороннее и глубокое изучение особо ценных объектов флоры, а также сохранение их для настоящего и будущего. Эндемичные растения составляют наиболее уязвимый компонент флоры и утрата любого из них, означает невозполнимую потерю для биоразнообразия в целом. Среди редких видов, наиболее важны для сохранения эндемичные или реликтовые виды растений, ареал которых лишь захватывают узкую территорию.

Одним из мало изученных таксонов семейства *Apiaceae* Lindley является *Komarovia anisosperma* Korovin, который распространен в Самаркандской и Кашкадарьинской областях Узбекистана, а особенности структурной организации вызывает интерес для установления диагностических морфолого-анатомических признаков.

Род *Komarovia* был описан в 1939 году с единственным эндемичным видом *Komarovia anisopterum* (= *K. anisospermum*, = *K. anisosperma*) Korovin, который в таком же составе был рассмотрен в монографических сводках (Шишкин, 1951; Коровин, 1959). Первые гербарии были собраны К.З. Закировым в 1937 году на окрестностях Самарканда в Агалыкских горах во влажных местах, около сая.

Komarovia anisosperma включен в Красную книгу Республики Узбекистан со статусом 1, является реликтовым, редким и эндемичным видом Зарафшанского хребта (Пименов, 2009). Автором при исследовании территории распространения вида были найдены популяции в 6 пунктах, в виде сильно разрозненных немногочисленных с различным числом особей (от 10 до 100).

Кроме того, для выявления таксономической близости *Komarovia anisospermum* с видами рода *Ferula* L. был изучен его химический состав и выделены из корней 3 разновидности фурукумарина – изоимператорин, феллоптерин и 5-метокси-8-геранилоксипсорален, последний из которых является видоспецифичным (Соколова и др., 1976).

Целью данного исследования являлось выявление диагностических морфолого-анатомических признаков вегетативных и генеративных органов *Komarovia anisosperma*.

Материалы и методы исследования. Материал для изучения собран из естественных мест произрастания растений в 2013 и 2018 годы исследований.

Распространен на горной территории Самаркандской и Кашкадарьинской областей, на северной и южной склонах западного отрогах Зарафшанского хребта. Растет в тенистых влажных узких ущельях, в трещинах скал, заполненных мелкоземом, на крутых щебнистых склонах и осыпях на высоте 1300–1700 м. Цветет в июне-июле, плодоносит в августе-сентябре (Пименов, 2009).

Морфологическое описание растений сделано по монографическим сводкам (Шишкин, 1952; Коровин, 1959; Kljuikov et al., 2004), гербарному и фиксированному материалам. Срезы плода сделаны от руки, окрашены метиленовой синью и заключены в глицерин-желатине по общепринятой методике (Барыкина, Чубатова, 2005). Произведена микрофотосъемка цифровой камерой Canon A 2300, Canon EOS 600D и на бинокулярном микроскопе Moticam 5 N-300M.

Анализ результатов. *Komarovia anisosperma* - растение многолетнее травянистое поликарпическое с полициклическими удлиненными прямостоячими высокими одетыми при основании жесткими волокнистыми остатками листьев монокарпическим от 1 до 3 побегом до 2–3 м высотой, акротонно разветвленный до 2–3 порядка по типу ярусной кисти из открытых двойных зонтиков, по 2–6 собранных в мутовки. Стебель голый, гладкий, плотный, жесткий, цилиндрический, в узлах немного вздутый, в базальной части до 2 см в диаметре.

Листья преимущественно прикорневые, черешковые, с крепкими стержнями, многократно перисто-рассеченные, с жесткими желобчатыми стеблеобъемлющими влагалищами. Прикорневые листья 30–70 см длиной, пластинка листа длиной 8–20 см, шириной 10–12 см, черешок 2–5 см длины. Сегменты ланцетной формы, концы заостренные, нижние и средние на ножках, конечные сидячие, которые длиной 3,5–5 см, шириной до 1,0 см. Стеблевые листья более мелкого размера, образуются в числе 1 или редуцированы до стеблеобъемлющих влагалищ.

Корневая система глубокостержнекорневого типа, многоглавым каудексом, с редковидно утолщенным основанием главного корня, который в остальной части цилиндрический. Кора корня бурого цвета, толстая, растрескивающаяся, горизонтально складчатая или морщинистая, корень в базальной части до 9 см в диаметре.

Плоды двойчатые, сбоку сжатые, к верху сужены, в очертании продолговато-яйцевидные, нераспадающиеся, коричневые или темно-коричневые, 8–14 мм длины, 2–3 мм ширины (рис. 1 а, б). Спинная поверхность гладкая, один мерикарпий с 3-я, второй с 4-я боковыми ребрами. Брюшная поверхность ровная, гладкая, узким центральным ребром. Подстолбие коротко коническое, края волнисто складчатые, зубцы чашечки отсутствуют, столбики отогнутые в спинку до 1,2–1,5 мм длины.

На поперечном срезе мерикарпий продолговато-овальной формы, с килевидными боковыми ребрами, под ложбиночными каналцами слегка выпуклый (рис. 1 в). Экзокарп однослойный, с утолщенной наружной оболочкой, клетки местами сжатые, на комиссуральной стороне заканчивается у колонковой борозды (рис. 1 д). Мезокарп тонкостенный, паренхимный, имеет внешний слой из 4–5 рядов округло-овальных, местами наполненных густым содержимым клеток и внутренний слой из 2–4 рядов уплощенных, под каналцами сильно сдавленных клеток (рис. 1 д). На комиссуральной стороне клетки мезокарпа смыкаясь, образуют небольшое отверстие под проводящим пучком фуникулуса (рис. 1 в). Боковые ребра с одним секреторным каналцем, в общем числе с 3-я или с 4-я каналцами, из которых две брюшные ребра более крупные (рис. 1 в). Проводящие пучки в числе 5, две брюшные пучки немного крупнее остальных. Флоэма узкая, сосуды мелкие, немногочисленные (рис. 1 д). Ложбинки между ребрами широкие, содержащие по одному каналцу округло-овальной, эллипсоидальной или овальной формы, в общем числе 4, их эпителиальные

клетки облитерированные. Некоторые плоды с 4-я ребрами имеют еще один более мелкий узкий ложбиночный каналец, с облитерированными эпителиальными клетками, между спинным ложбиночным и боковым реберным канальцами (рис. 1 г). Комиссуральные секреторные каналцы немногочисленны, широко-эллипсоидальной формы, в числе 2, их эпителиальные клетки также облитерированные (рис. 1 е). В полости ложбиночных и комиссуральных секреторных канальцев имеются остатки секрета.

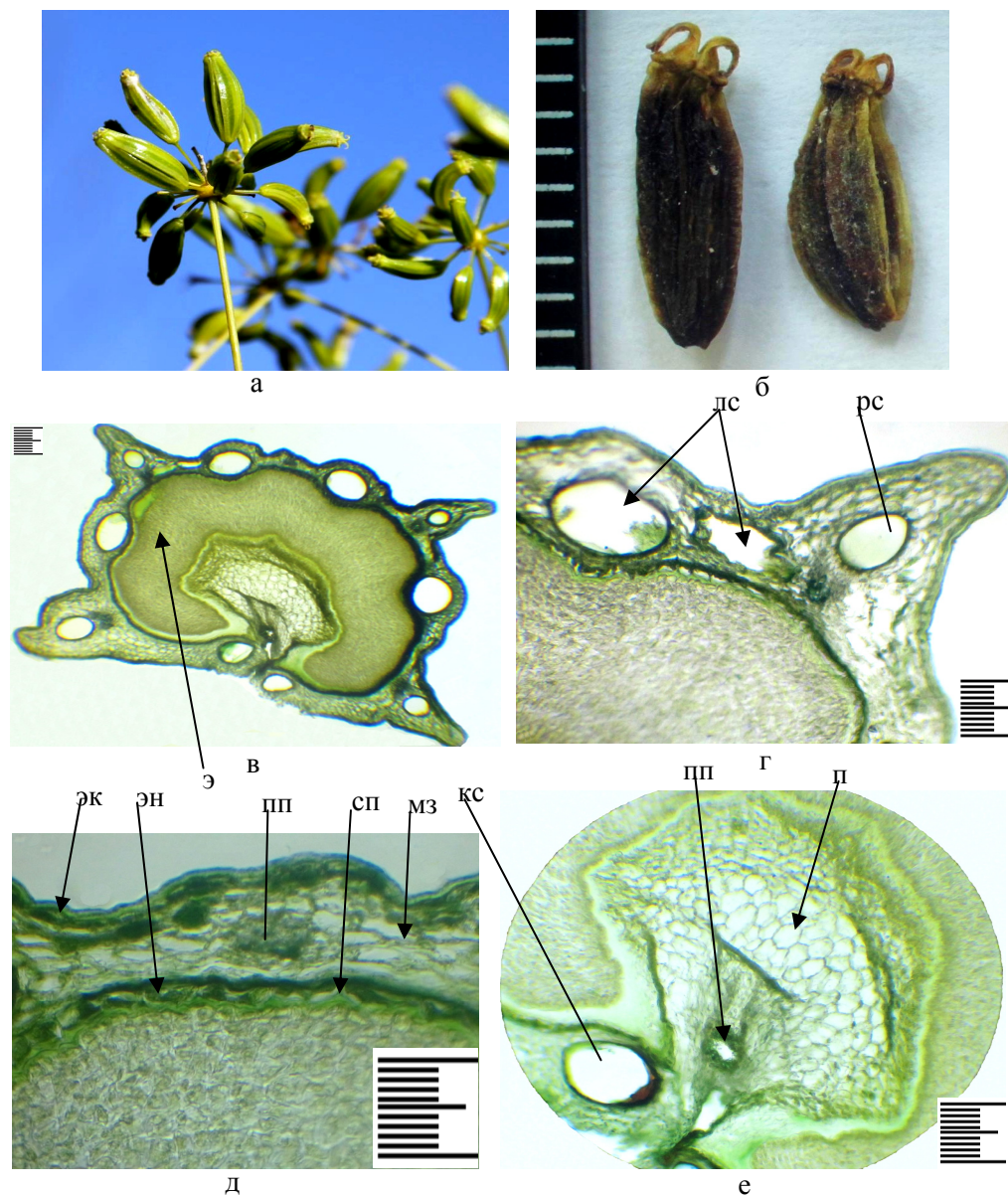


Рис. 1. Структура перикарпия плода *Komarovia anisosperma*. а – незрелые плоды, б – вид плода со спинной стороны, в – поперечный срез мерикарпия, г – часть среза с ложбиночными секреторными канальцами, д – часть среза плода с мезокарпом, е – часть среза в области фуникулуса и комиссуральных секреторных канальцев.

Масштабная линейка: б – 1 мм, в–е – 100 мкм. Условные обозначения: кск – комиссуральный секреторный каналец; лск – ложбиночный секреторный каналец; мз – мезокарп; пф – паренхима фуникулуса; пп – проводящий пучок; ппф – проводящий пучок фуникулуса; рск – реберный секреторный каналец; сп – спермодерма; э – эндосперм; эн – эндокарп; эк – экзокарп;

Эндокарп однослойный, наружная стенка утолщенная, из мелких прямоугольных, местами крупных клеток, плотно срастается со спермодермой, которая на всем протяжении сильно смятая

(рис. 1 д). Фуникулярная паренхима хорошо развитая, плотная, вдаётся в эндосперм обуславливая его кампилоспермию, состоит из тонкостенных клеток, ближе к эндосперму с уплощенными и мелкими, а в остальной части более крупными клетками (рис. 1. е). Проводящий пучок фуникулы небольшой, округлой формы, сосуды слегка одревесневшие (рис. 1. е). Эндосперм обильный, клеточный, клетки заполнены крахмальными зёрнами, незамкнуто-кольцеобразный (рис. 1 в).

Таким образом, на основании результатов морфологического (подземных и надземных органов) и анатомического (строение перикарпия плода) изучения органов у зрелых генеративных особей *Komarovia anisosperma* выявлены наиболее значимые в таксономическом аспекте морфологические признаки. Эти особенности проявлены в следующем:

- корневая система глубокостержневого типа с многоглавым каудексом, главный корень в основании редьковидно или веретеновидно утолщенный, в остальной части цилиндрический;
- побег в количестве 1–3, прямостоячий удлинённый, в узлах немного вздутый;
- прикорневые сложные многократно перисто-рассечённые листья с ланцетными цельными долями, стеблевые листья слабо развиты или редуцированы до ланцетных стеблеобъемлющих влагалищ;
- один мерикарпий с 3-я, второй с 4-я килевидными боковыми ребрами.

Эволюционно-адаптивная связь подземных органов с аридными условиями произрастания проявляется в утолщении главного корня в сторону усиления запасующей функции. Стеблекорень или каудекс становится многоглавым за счёт интенсификации ветвления посредством реализации пазушных почек розеточных листьев главного побега (Васильев, Лашинский, 1987). Выявленные диагностические признаки могут быть использованы в систематике семейства зонтичных, а также для решения некоторых вопросов филогении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова Л.А., Волкова П.А., Борисова П.Б., Митирева Е.А. Предварительные итоги сеточно-го картирования флоры Удомельского района Тверской области // Вестн. Твер. гос. ун-та. Сер. Биология и экология. – 2011. – № 24. – С. 127–143.
2. Гришуткин О.Г. Возможности применения ГИС-технологий в ботанических исследованиях // Вестник Мордовского университета. – 2013. №3–4. – С. 16–20.
3. Коровин Е.П. Флора Узбекистана. Т. 4. – Ташкент: Фан, 1959. – С. 257–470.
4. S. R. Downie, K. Spalik, D.S. Katz-Downie, J.-P. Reduron. Major clades within Apiaceae subfamily Apioideae as inferred by phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences // Plant Div. Evol. E Stuttgart, 2010. Vol. 128/1–2. P. 111–136.
5. Барыкина Р.П., Чубатова Н.В. Большой практикум по ботанике. Экологическая анатомия цветковых растений. М. 2005. – 77 с.
6. Васильева Л.В., Лашинский Н.Н. Особенности онтогенеза *Bupleurum aureum* Fisch. в черневых лесах Салаира // Раст. Ресурсы. 1987. Вып. 3. С. 397–404.
7. Закиров К.З. Флора и растительность бассейна реки Зеравшан. Т. 1. – Ташкент: Изд-во АН УзССР, 1955. – 205 с.
8. Закиров К.З. Флора и растительность бассейна реки Зеравшан. Т. 2. – Ташкент: Изд-во АН УзССР, 1962. – 446 с.
9. Пименов М.Г. Комаровия неровносемянная – *Komarovia anisosperma* Korovin // Красная Книга Республики Узбекистан: Редкие и исчезающие виды растений и животных. Т.1. Растения и грибы. Ташкент, 2009. С. 116–117.
10. Pimenov M.G., Leonov M.V. The genera of the *Umbelliferae*. A Nomenclator. - Kew: Royal Bot. Gardens. 1993. – 156 p.
11. Петрова С.Е. Зонтичные (Umbelliferae) Средней России: биоморфологический анализ. – М.: МАКС Пресс. 2016. 280 с.
12. Шишкин Б. К. Umbelliferae – Зонтичные // Флора СССР. Т. XVI. М.-Л.: АН СССР, 1951. С. 223–225.
13. Кузнецова Т.В., Тимонин А.К. Соцветие: морфология, эволюция, таксономическое значение (применение комплементарных подходов). М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2017. 181 с.
14. Серегин А.П. Пространственная структура флоры Владимирской области // Дисс. на соис. уч. степ. доктора биол. наук. Москва. 2014. 518 с.

15. Соколова А.И., Скляр Ю.Е., Перельсон М.Е., М.Г. Пименов. Фурукумарины *Komarovia anispermum* // Химия природных соединений. Ташкент, 1976. №1. С. 166–169.
16. Khamraeva D. T., Beshko N. Yu., Abdullayeva A. T., Sharipova V. K. Structural investigation of the secretory system of some endemic and medicinal species of Apiaceae from Uzbekistan // Iranian Journal of Botany. 24. (1). 2018. – P. 53–64.
17. Kljuykov E.V., Liu M., Ostroumova T.A., Pimenov M.G., Tilney P.M., Wyk van B-E. 2004. Towards a standardized terminology for taxonomically important morphological characters in the *Umbelliferae* // South African Journal of Botany. V.70 (3). pp. 488-496.

Институт ботаники

Дата поступления
01.02.2019

АЛИМЖАНОВА Х.А., РАЖАБОВА М.С.
ВЕСЕННИЕ ФИТОПЛАНКТНЫ БАСИЛЛАРИОФЫТА
АКДАРЬИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

alimjanovakh@gmail.com

Алимжанова Х.А., Ражабова М.С.

ОҚДАРЁ СУВ ОМБОРИНИНГ БАСИЛЛАРИОФЫТА СУВ ЎТЛАРИ

Таксонометрик таҳлил натижасида Оқдарё сув омборининг диатом сув ўтлари баҳорги фитопланктонлари 18 турга, 4 та вариация ва 1 та формага, улар эса 2 синфга (*Centrophyceae*, *Pennatophyceae*), 3 тартибга (*Discoidales*, *Araphinales*, *Raphinales*), 5 оилага ва 10 та туркумга (*Cyclotella Kuetz.*, *Diatoma D.C.*, *Fragilaria Lyngb.*, *Synedra Ehr.*, *Navicula Bory*, *Neidium Ag.*, *Amphora Ehr.*, *Cymbella Ag.*, *Nitzschia Hass.*, *Surirella Turp.*) тегишли эканлиги кўрсатилди.

Калим сўзлар: Оқдарё сув омбори, фитопланктон.

Алимжанова Х.А., Ражабова М.С.

ВЕСЕННИЕ ФИТОПЛАНКТНЫ БАСИЛЛАРИОФЫТА АКДАРЬИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Таксономический анализ показал, что весенние фитопланктоны диатомовых водорослей Акдарьинского водохранилища представлен 18 видами, 4 вариациями и одной формой водорослей, которые по систематической принадлежности относятся к 2 классам (*Centrophyceae*, *Pennatophyceae*), 3 порядкам (*Discoidales*, *Araphinales*, *Raphinales*), 5ти семействам (*Coscinodiscaceae Kuetz.*, *Fragilariaceae Lyngb.*, *Naviculaceae West.*, *Nitzschiaceae Hass.*, *Surirellaceae Turp.*), 10 родам (*Cyclotella Kuetz.*, *Diatoma D.C.*, *Fragilaria Lyngb.*, *Synedra Ehr.*, *Navicula Bory*, *Neidium Ag.*, *Amphora Ehr.*, *Cymbella Ag.*, *Nitzschia Hass.*, *Surirella Turp.*).

Ключевые слова: Акдарьинское водохранилище, фитопланктон.

Alimzhanova Kh.A., Razhabova M.S.

SPRING PHYTOPLANKTONS BACILLARIOPHYTA AKDARYA RESERVOIR

Taxonomic analysis shows that the spring phytoplanktons of diatom algae of the Akdarya's reservoir is represented by 18 species, 4 variations and one form of algae, which systematically belong to 2 classes (*Centrophyceae*, *Pennatophyceae*), 3 orders (*Discoidales*, *Araphinales*, *Raphinales*), 5 families (*Coscinodiscaceae Kuetz.*, *Fragilariaceae Lyngb.*, *Naviculaceae West.*, *Nitzschiaceae Hass.*, *Surirellaceae Turp.*), 10 genera (*Cyclotella Kuetz.*, *Diatoma D.C.*, *Fragilaria Lyngb.*, *Synedra Ehr.*, *Navicula Bory*, *Neidium Ag.*, *Amphora Ehr.*, *Cymbella Ag.*, *Nitzschia Hass.*, *Surirella Turp.*).

Key words: Akdarya's reservoir, phytoplankton.

Введение. Фитопланктон является одной из единиц трофических цепей в био-экосистеме Акдарьинского водохранилища в бассейне среднего течения реки Зарафшан. Он употребляется часто прямо или косвенно другими представителями гидробионтами, такими как микрозоопланктоны и

макрозоопланктоны. Кроме того он является жизненно важным продуцентом кислорода, и остро необходим гидробионтам, таким как зоонаселения – 1,2,3, ...n го порядка консументами данного водохранилища. Последними консументами водохранилища являются рыбы, необходимые в дальнейшем этапе для пищи человека по следующей схеме: Фитопланктоны -----> Зоопланктоны: Микрозоопланктоны -----> и Макрозоопланктоны -----> Рыбы -----> Люди.

Биологическое разнообразие и его стабильное развитие в водохранилище сильно зависит от роста и развития продуцентов фитопланктона. Фитопланктон и фитобентос, перифитон русловой части среднего течения реки Зарафшан (р. Зарафшан, Окдаря, Карадаря) и некоторых горных саев (Аманкутансай, Еттиуйлисай) более детально изучены в работах [1,5]. Однако, альгофлоры, в частности фитопланктон Акдарьинского водохранилища остался неизученным.

Анализ результатов. Акдарьинское водохранилище расположено на 39°995' северной широты и 66°382' восточной долготы, на 485 м высоты над уровнем моря Самаркандском вилояте Иштиханского района. Она питается водой Акдарьи. Объем воды - 131,8 млн м³. Используется с 1989 года.

Весной из Акдарьинского водохранилища собрано и отработано 15 альгологических проб по общепринятым методикам альгологии и гидробиологии [2,3]. В лабораторных условиях из альгологических проб приготовили препараты и определили видовой состав фитопланктона и установили частоту встречаемости в одном поле зрения объектива. В ходе работы использовали световой микроскоп типа Carl Zeiss, микрометр окуляр 7⁺, красители, определитель диатомовых водорослей согласно работам [1,3]. В 16³⁰ часов 15.04.19г. температура воды равнялась +18-20°C. Общая минерализация водохранилища - 450-500 мг/л, pH 6,5-7,0. В результате исследований выявлены 23 видов и разновидностей диатомовых водорослей, представленные в нижеследующей таблице.

Весенние альгофлоры Bacillariophyta Акдарьинского водохранилища

Название водорослей и их систематическое положение	Размеры клетки			Частота встречаемости, h, балл	№			Источник определителя, страница, номера рисунки
	длина, мкм	ширина, мкм	диаметр, мкм		станции лабораторных журналов	пробы	препараты	
Класс <i>Centrophyceae</i> Порядок <i>Discoinales</i> Сем. <i>Coscinodiscaceae</i> <i>Kuetz.</i> Род <i>Cyclotella</i> Kuetz.								
<i>Cyclotella ocellata</i> Pont.			6-20	един., редко	5	9п	1	Д *-4, С.94 Р.49,6а,б [4]
Класс <i>Pennatophyceae</i> Порядок. <i>Araphinales</i> Сем. <i>Fragilariaceae</i> <i>Lyngb.</i> Род <i>Diatoma</i> D.C.								
<i>Diatoma hiemale</i> (Lyngb.) Heib.	37,8	6,30		един.	1	26	3	Д-4, С.123, Р.67,5[4]
Род. <i>Fragilaria</i> Lyngb.								
<i>Fragilaria capucina</i> Desm.	192,2	6,30-12,60		един.	1	26	1	Д-4, С.127, Р.69,2а [4]
Род <i>Synedra</i> Ehr.								
<i>Synedra ulna</i> (Nitzsch.) Ehr.	308,7	6,30		часто	1	26	2	Д-4, С.144-145,

								P.79,1a [4]
<i>Synedra ulna</i> (Nitzsch.) Ehr.	179,6	9,45		един.	1	2б	3	Д-4, С.144-145, P.79,1a [4]
<i>Synedra ulna</i> var. <i>aequalis</i> (Kuetz.)Hust.	85,05	4,73		един.	1	2б	1	Д-4, С.145-146, P.79,2 [4]
<i>Synedra ulna</i> var. <i>amphirhynchus</i> (Ehr.) Grun.	144,9	6,30		един.	2	4б	3	Д-4, С.144-146 P.79,4 [4]
<i>Synedra pulchella</i> (Ralfs) Kuetz.	129,2	6,30		един.	2	3п	2	Д-4, С.142-143, P.78,1 [4]
Порядок <i>Raphinales</i> Подпор. <i>Diraphineae</i> Сем. <i>Naviculaceae</i> West. Род <i>Navicula</i> Bory								
<i>Navicula cryptocephala</i> var. <i>veneta</i> (Kuetz.) Grun.	18,90	6,30		часто, масса	1	1п	2	Д-4, С.308-309 P.172,4 [4]
<i>Navicula subtilissima</i> var. <i>baicalensis</i> Skv.	31,5	12,6		един.	1	2б	1	Д-4, С.293, P.167,7 [4]
Род <i>Neidium</i> Ag.								
<i>Neidium distincte punctatum</i> Hust.	78,75	12,60		един.	2	4б	3	Д-4, С.384-385 P.235,3 [4]
Род <i>Amphora</i> Ehr.								
<i>Amphora commutata</i> Grun.	40-85	20-30		редко, един.	1	1п	2	Д-4,С.423, P.263,1a,б [4]
<i>Amphora lineolata</i> Ehr.	30-60	13-28		редко, един.	1	1п	2	Д-4, С.425, P.265,2
<i>Amphora lineolata</i> Ehr.	34,65	15,75		един.	1	2б	1	Д-4, С.423, P.263,1a, б [4]
Род <i>Cymbella</i> Ag.								
<i>Cymbella lacustris</i> (Ag.) Cl. f. <i>baicalensis</i> Skv.	78,75	15,75		часто	1	2б	3	Д-4, С.443, P.274,5 [4]
<i>Cymbella parva</i> (W.Sm.) Cl.	50,4	12,6		редко, един.	1	2б	1	Д-4,С.449-450, P.279,1 [4]
<i>Cymbella helvetica</i> Kuetz.	94,5	22,05		един.	1	2б	3	Д-4, С.452, P.281,3 [4]
<i>Cymbella tartuensis</i> Mölder	65	15,75		един.	1	2б	3	Д-4, С.438, P.271,3 [4]
Подпор. <i>Aulonraphineae</i> Сем. <i>Nitzschiaceae</i> Hass. Род <i>Nitzschia</i> Hass.								
<i>Nitzschia distans</i> Greg.	100,8	18,9		редко, един.	1	2б	1	Д-4, С.509, P.322,1 [4]
<i>Nitzschia vermicularis</i> (Kuetz.) Grun	50,40	3,15-4,73		един.	1	2б	1	Д-4,С.527-528,

								P.333,4a, б [4]
<i>Nitzschia vermicularis</i> (Kuetz.) Grun.	78,75	6,90		ред.	1	26	2	Д-4,С.527- 528, P.333,4a, б [4]
<i>Nitzschia regula</i> Hust.	63	4,73		един.	2	3п	2	Д-4,С.521- 522, P.329,9a [4]
<i>Nitzschia sigmoidea</i> (Ehr.) W.Sm.	236,3	6,30- 7,85		един.	2	3п	2	Д-4,С.527- 528, P.333,26 [4]
<i>Nitzschia filiformis</i> (W.Sm.) Hust.	129,2	15,75		един.	1	3п	2	Д-4,С.530- 531 P.335,4в [4]
Сем. <i>Surirellaceae</i> Turp. Род <i>Surirella</i> Turp.								
<i>Surirella linearis</i> W.Sm.	53,55	6,30		един.	1	26	2	Д-4,С.551- 552, P.350,16 [4]
<i>Surirella linearis</i> W.Sm.	113,4	15,75		един.	2	3п	2	Д-4,С.551- 552, P.350,16 [4]
<i>Surirella linearis</i> W.Sm.	47,25	11,03		един.	1	26	3	Д-4,С.551- 552, P.350,16 [4]
<i>Surirella didyma</i> Kuetz.	69,3	22,05		един.	1	26	2	Д-4,С.554- 555, P.353,1 [4]
Примечание: един. – единично.								

Заключение. Исследован весенний фитопланктон диатомовых водорослей Акдарьинского водохранилища. Он представлен 18 видами, 4 вариациями и одной формой водорослей, которые по систематической принадлежности относятся к 2 классам (*Centrophyceae*, *Pennatophyceae*), 3 порядкам (*Discooidales*, *Araphinales*, *Raphinales*), 5 семействам (*Coscinodiscaceae* Kuetz., *Fragilariaceae* Lyngb., *Naviculaceae* West., *Nitzschiaceae* Hass., *Surirellaceae* Turp.), 10 родам (*Cyclotella* Kuetz., *Diatoma* D.C., *Fragilaria* Lyngb., *Synedra* Ehr., *Navicula* Bory, *Neidium* Ag., *Amphora* Ehr., *Cymbella* Ag., *Nitzschia* Hass., *Surirella* Turp.). Большинство видов встречаются единично и редко в одном поле зрения объектива. Небольшое количество видов водорослей встречаются часто в массовом развитии, такие как *Synedra ulna* (Nitzsch.) Ehr., *Navicula cryptocephala* var. *veneta* (Kuetz.) Grun., *Cymbella lacustris* (Ag.) Cl. f. *baicalensis* Skv.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алимжанова Х.А. Закономерности распределения водорослей бассейна реки Чирчик и их значение в определении эколого-санитарного состояния водоемов. - Ташкент, Фан. 2007. - 265 с.
2. Голлербах М.М., Полянский В.И. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 1. Общая часть. Пресноводные водоросли и их изучение. - М.: Советская наука, 1951.-350 с.
3. Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Щешукова В.А.. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 4. Диатомовые водоросли. - М.: Советская наука, 1951. - 619 с.
4. Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Щешукова В.А. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 4. Диатомовые водоросли. - М.: Советская наука, 1951. - 619 с.

5. Ташпулатов Й.Ш., Алимжанова Х.А. Распределения индикаторно-сапробных водорослей по течениям (на примере среднего течения р.Зарафшан). Актуальные проблемы сохранения биоразнообразия: Материалы международной научно-практической конференции // Вестник ОшГУ. Специальный выпуск. - Ош, 2014. – б. 38-40.
6. Унифицированные методы исследования качества вод. Ч.III. Методы биологического анализа вод. 1-е изд. доп. и перераб. / Отв. за выпуск Губачек З. – М.: СЭВ, 1977. – 185 с.

Институт ботаники

Дата поступления
01.02.2019

ЗООЛОГИЯ

И.М. МИРАБДУЛЛАЕВ, А.Д. САПАРОВ

СИСТЕМАТИКА И ФИЛОГЕНИЯ КОЛОВРАТОК (ROTIFERA)

imirabdullayev@umail.uz

И.М. Мирабдуллаев, А.Д. Сапаров

РОТИФЕРЛАР (ROTIFERA) СИСТЕМАТИКА ВА ФИЛОГЕНИЯСИ

Рассматриваются вопросы систематики коловраток, их родственные отношения с другими беспозвоночными и положение в системе многоклеточных животных. Коловратки входят в группу Gnathifera, которая вместе с Lophotrochozoa образует кладу Spiralia.

Калим сўзлар: ротиферлар, акантосефаллар, филогения, Syndermata, Protostomia, Metazoa.

И.М. Мирабдуллаев, А.Д. Сапаров

СИСТЕМАТИКА И ФИЛОГЕНИЯ КОЛОВРАТОК (ROTIFERA)

Рассматриваются вопросы систематики коловраток, их родственные отношения с другими беспозвоночными и положение в системе многоклеточных животных. Коловратки входят в группу Gnathifera, которая вместе с Lophotrochozoa образует кладу Spiralia.

Ключевые слова: коловратки, скребни, филогения, Syndermata, Protostomia, Metazoa.

I.M. Mirabdullayev, A.D. Saparov

SYSTEMATICS AND PHYLOGENY OF ROTIFERS (ROTIFERA)

Taxonomy of rotifers and their relationship with other invertebrates and position in the system of multicellular animals are discussed. Rotifers are part of Gnathifera which, together with the Lophotrochozoa forms the clade Spiralia.

Key words: rotifers, acanthocephals, phylogenetics, Syndermata, Protostomia, Metazoa.

Первым открыл коловраток А. Leeuwenhock в начале XVIII в. с помощью усовершенствованного им микроскопа. С. Linnaeus и Ж.-П. Lamarck рассматривали коловраток как простейших (Protozoa). С.Г. Ehrenberg в 1838 г. также отнес их к инфузориям (Infusoria) в качестве отдельного класса. А. Remane и Ф.Дж. Myers в начале XX в. рассматривали коловраток в качестве отдельного типа многоклеточных животных. Позднее коловраток рассматривали в качестве класса в составе типа Nematelminthes (Aschelminthes). В настоящее время коловратки рассматриваются в ранге самостоятельного типа. Основным характерным признаком коловраток является наличие так называемого коловращательного аппарата (corona) – ресничного образования на переднем конце тела, который используется для питания и движения. Другой характерный признак – хитиновый челюстной аппарат (trophy). В связи с малыми размерами ткани коловраток часто приобретают синцитиальное строение. Для типа в целом характерна эутелия – постоянство клеточного состава, то есть постоянное число клеток у всех особей одного вида.

В настоящее время известно около 2000 видов коловраток.

Тип Rotifera традиционно подразделяется на 3 класса:

Класс Seisonidea – морские коловратки, эктопаразиты и комменсалы морского ракообразного Nebalia. Коловращательный аппарат редуцирован, боковые щупальца отсутствуют. Размножение только двуполое. Половая система состоит из 2 гонад. Желточники отсутствуют. Известно только 2 рода, включающих 3 вида.

Класс Bdelloidea («пиявкоподобные») (=Digononta, «двухгонадные») – главным образом пресноводные коловратки, размножающиеся только партеногенетически, половая система состоит из 2 гонад. Желточники имеются. Бделлоидных коловраток есть уникальная особенность – они способны включать в свои хромосомы чужеродную ДНК происходящую от бактерий, грибов, расте-

ний (горизонтальный перенос генов). Таким образом в отсутствии полового процесса бделлоидные коловратки поддерживают значительную изменчивость генома, что необходимо для адаптивной эволюции. Это редкий случай для многоклеточных животных. Известно около 300 видов.

Класс Monogononta («одногонадные») – главным образом пресноводные коловратки, размножающиеся партеногенетически и двуполо, половая система состоит из 1 гонады. Резко выраженный половой диморфизм. Самцы известны не для всех видов. Подразделяются на 3 отряда: Ploima (6 сем.), Flosculariacea и Collothecacea. Известно более 1500 видов.

Bdelloidea и Monogononta объединяются в группу «настоящих» коловраток Eurotatoria [4].

Г.И. Маркевич подразделяет коловраток на 4 подкласса: Eurotatoria, Hemirotatoria, Pararotatoria, Archerotatoria [2].

Ближайшими родственниками коловраток являются эндопаразитические скребни (Acanthocephala), которых объединяют вместе с коловратками в тип (либо надтип) Syndermata [6, 7]. Апоморфными признаками для синдермат считаются:

Синцитиальный интегумент эпидермиса;

Необычные базальные тела ресничек, состоящие из дублетов, а не триплетов микротрубочек;

Жгутик спермия направлен вперед.

Есть также сходства в эмбриологии коловраток и скребней.

Иногда скребней рассматривают в ранге класса типа Rotifera, как сильно специализированных паразитических коловраток, утративших в связи с паразитизмом челюсти. В этом случае Syndermata оказываются синонимом коловраток Rotifera. По одним молекулярным данным эндопаразитические скребни филогенетически ближе к Eurotatoria, чем к Seisonidea, по другим – к эктопаразитическим Seisonidea. В настоящее время система коловраток и наши представления о их родственных отношениях (филогении) находятся в состоянии преобразований (рис. 1).

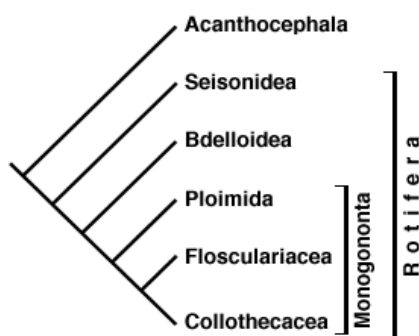


Рис. 1. Возможная филогения Syndermata.

Существует также старинная (XIX в.) полузабытая гипотеза В. Hatschek, что коловратки произошли от неотенических трохофор (личинки аннелид и моллюсков) – ее сторонником был еще И.И. Мечников.

Рубеж XX–XXI веков стал эпохой «революции в зоологии» – широкого пересмотра представлений о родственных связях многоклеточных животных и сценариев их эволюции. В результате за несколько лет было построено обновленное эволюционное древо животного мира – так называемая новая филогения животных.

Syndermata вместе с Micrognathozoa, Gnathostomulida и морскими стрелками Chaethognata в настоящее время объединяются, главным образом на основании молекулярно-генетических данных, в таксон высокого ранга Gnathifera [10]. Общие признаки этой группы – мелкий размер (чаще всего меньше миллиметра), крайне примитивное для животных ресничное движение, отсутствие кровеносной системы, упрощенная выделительная система протонефридиального типа, прямое развитие (без личинки), наличие *MedPost* Нох-гена и сложный челюстной аппарат с твердыми структурами, приводимыми в движение собственными мышцами. Именно последнему признаку группа Gnathifera обязана своим названием, которое буквально значит «несущие челюсти».

Сравнительно небольшая по объему (количеству известных видов) группа Gnathifera является вероятно сестринской по отношению к огромной по объему группе Lophotrochozoa, включающей

плоских червей, аннелид, моллюсков, немертин, брахиопод, форонид, мшанок и др. Вместе они образуют группу спиральнодробящихся (по широко распространенному типу раннего эмбрионального развития) или просто Spiralia. У коловраток наблюдается модифицированное спиральное дробление. Spiralia является сестринской группой по отношению к Ecdysozoa («линяющие»), включающей членистоногих, нематод, приапулид, тихоходок, онихофор и др.

Spiralia вместе с Ecdysozoa образуют группу первичноротых животных Protostomia, которая в свою очередь является сестринской группой по отношению к вторичноротым животным Deuterostomia (хордовые, иглокожие, оболочники и др.) (рис. 2). Обе группы объединяются в эволюционную кладу Nephrozoa, характеризующуюся наличием целома, выделительной системы и нервных тяжей.

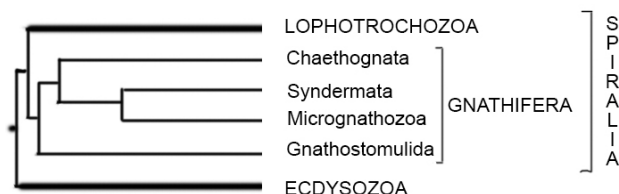


Рис. 2. Возможная филогения первичноротых животных Protostomia (по: [10]).

В целом современная филогения многоклеточных животных Metazoa выглядит следующим образом (рис. 3). Первичноротые и вторичноротые животные объединяются в группу Nephrozoa («почечные животные»), в пределах которой появились целом, выделительные органы, нервные тяжи. Сестринской к ней является Xenacoelomorpha – примитивные билатерии объединяющие бескишечных турбеллярий, ксенотурбеллид и немертодерматид [5].

Nephrozoa и Xenacoelomorpha являются двусторонне-симметричными животными и образуют группу Bilateria. Эволюционно ниже билатерий располагаются стрекающие (гидроиды, медуза, кораллы), пластинчатые (трихоплакс), губки и гребневники. Впрочем, у коралловых полипов внутренняя симметрия тела двусторонняя. Это вполне может оказаться примитивным состоянием и для билатерий, и для стрекающих [1]. Последние две эволюционные ветви сейчас принято объединять в родственную группу, которая называется Planulozoa.

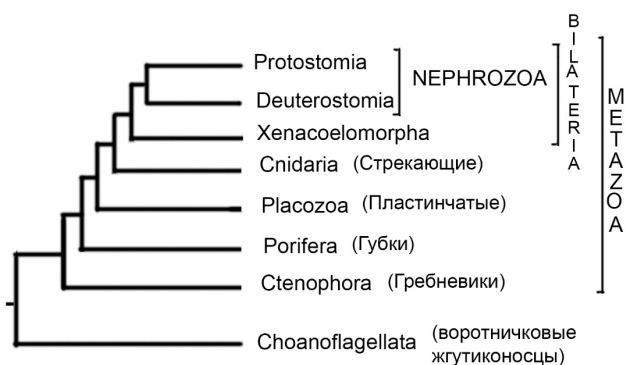


Рис. 3. Современные представления о филогении многоклеточных животных Metazoa (по: [9]).

Последние филогенетические данные неожиданно указывают на то, что гребневники возможно являются наиболее ранним ответвлением многоклеточных животных, что гребневники ответвились от общего ствола эволюционного древа животных гораздо раньше, чем губки и пластинчатые. В этом случае их двусторонняя симметрия и нервная система возникли независимо от книдарий и билатерий. Так же обнаружилось, что нервная система гребневников имеет много уникальных особенностей – например, совершенно иной по сравнению с любыми другими животными набор нейромедиаторов.

Metazoa входят в состав супергруппы эукариот Opisthoconta («заднежгутиковые») вместе с грибами, микроспоридиями, хоанофлагеллятами и др. [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Малахов В.В. Симметрия и щупальцевый аппарат книдарий // Биология моря. 2016. Т. 42. № 4. С. 249–259.
2. Маркевич Г.И. Основы построения филогенетической системы коловраток // В кн.: Биологические ресурсы пресных вод: беспозвоночные. Рыбинск: «Рыбинский дом печати», 2005. С. 252–277.
3. Мирабдуллаев И.М., Муминов Б.А. Современные представления о системе органического мира // Узб. биол. ж. 2018. № 3. С. 50–54.
4. Ahlrichs W. Epidermal ultrastructure of *Seison nebaliae* and *Seison annulatus*, and a comparison of epidermal structures within the Gnathifera // Zoomorphology. 1997. V. 117. P. 41–48.
5. Cannon J.T., Vellutini B.C., Smith J. III, Ronquist F., Jondelius U., Hejnol A. Xenacoelomorpha is the sister group to Nephrozoa // Nature. 2016. V. 530. P. 89–94.
6. Garcia-Varela M., Nadler S.A. Phylogenetic relationships among Syndermata inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution. 2006. V. 40. P. 61–72.
7. Garey J.R., Schmidt-Rhaesa A., Near T.J., Nadler S.A. The evolutionary relationships of rotifers and acanthocephalans // Hydrobiologia. 1998. V. 87. P. 83–91.
8. Gladyshev E.A., Meselson M., Arkhipova I.R. Massive horizontal gene transfer in bdelloid rotifers // Science. 2008. V. 320. P. 1210–1213.
9. Jekely G., Paps J., Nielsen C. The phylogenetic position of ctenophores and the origin(s) of nervous systems // EvoDevo. 2015. V. 6. № 1. P. 1–9.
10. Marletaz F., Peijnenburg K.T., Goto T., Satoh N., Rokhsar D.S. A new spiralian phylogeny places the enigmatic arrow worms among gnathiferans // Current Biology. 2019. V. 29. № 2. P. 312–318.

Нукусский гос. педагогический институт

Дата поступления
01.02.2019

КОЖЕВНИКОВА А.Г.

ЦИКАДОВЫЕ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР УЗБЕКИСТАНА

gnadezhda03@mail.com

А.Г. Кожевникова

ЎЗБЕКИСТОН ШАРОИТИДА ДОН ЭКИНЛАРИНИНГ ЦИКАДАЛАРИ

Ўзбекистон шароитида дон экинларининг тур таркибини ўрганиш бўйича маълумотлар, яъни хавфли турларнинг, биологик ва озикланиш хусусиятлари, зарари, ривожланиш босқичлари, табиий кушандалари ва улар ҳақида тадқиқот натижалари берилган.

Калит сўзлар: цикадалар, *Psammotettix striatus* L., *Macrosteles laevis* Rib., *Cicadula divaricata* Rib., *Laodelphax striatellus* Fall.

А.Г. Кожевникова

ЦИКАДОВЫЕ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР УЗБЕКИСТАНА

Представлены материалы по изучению цикадовых – вредителей злаковых культур в Узбекистане, их видовой состав, представлены наиболее вредоносные виды, пищевые связи, биологические особенности, вредоносность, особенности фаз развития, определены зимующие фазы вредителей, их естественные враги.

Ключевые слова: цикады, *Psammotettix striatus* L., *Macrosteles laevis* Rib., *Cicadula divaricata* Rib., *Laodelphax striatellus* Fall.

CICADAS ARE GRAIN CROP PLANT PESTS OF UZBEKISTAN

Materials on the study of cicadas - grain crop pests in Uzbekistan, their species composition are presented, the most harmful species, food links, biological features, harmfulness, features of development phases are presented, the wintering phases of pests, their natural enemies are identified. It has presented the materials of cicadas research, which are grain crop plant pests of Uzbekistan, its species composition, the most harmful species, food ties, biological features, harmfulness, development phases features identified wintering phases of pests, its natural enemies.

Key words: Cicadas, *Psammotettix striatus* L., *Macrosteles laevis* Rib., *Cicadula divaricata* Rib., *Laodelphax striatellus* Fall.

Введение: Имеются несколько литературных источников, в которых даны материалы специального или попутного изучения цикадовых, как вредителей зерновых злаков [1]. По сведениям В.Энгельгарда и А.Мищенко [7] в Индии, Японии, Китае, Корее цикадовые являются первостепенными вредителями злаков, особенно риса. В Финляндии *Calligyrona pellucida* наносит серьезный вред посевам овса. На большой вред, причиняемый этой цикадой овсу в Скандинавии и Финляндии, указывает N.Nuorteva [2,3]. Список подобных примеров можно было бы продолжить, но и приведенные факты довольно убедительно иллюстрируют роль цикад в растениеводстве, их отрицательное хозяйственное значение [2]. Однако необходимо отметить, что главенствующая роль в изучении цикадовых Центральной Азии принадлежит известному учёному Г.К.Дубовскому [6]. По различным причинам вредоносная деятельность цикадовых в Узбекистане изучена ещё недостаточно. С необходимой полнотой не представлен видовой состав цикадовых, повреждающих злаки, меры борьбы с ними не разработаны, до последнего времени они не считались опасными вредителями. Поэтому, как указывал ещё Ф.М. Успенский [4], применяемые до последнего времени методы борьбы с сосущими вредителями, имеют ряд существенных агротехнических и санитарно-гигиенических недостатков. Ликвидация этих недостатков, изучение видового состава вредителей, их вредоносности, биоэкологических особенностей и, на этой основе разработка современных мер борьбы, входили в цели нашей работы, поскольку в настоящее время решение этих вопросов актуально.

Методика исследований: Цикадовых злаковых культур мы изучали в хозяйствах в Северном и Южном Узбекистане, в Ферганской и Зеравшанской долинах и в других зонах Узбекистана. Цикадовые изучались на пшенице, ячмене, рисе, кукурузе и других злаковых культурах. Всего собрано, обработано, просмотрено более 5000 экземпляров цикад, составлена коллекция цикадовых злаковых культур Узбекистана. Материалом для настоящей работы явились 10 летние исследования, использовались специальные и общепринятые в энтомологии методики [5].

Анализ результатов. Исследования показали, что вредителями злаковых культур во многих странах мира, в том числе и в Узбекистане, являются цикадовые. Потери от них в мировом масштабе велики и достигают 20-30%. Цикадовые являются опасными вредителями хлебных злаков. Так в 2005 и 2015 гг. в Ферганской долине наблюдались обширные поражения посевов злаковых культур, в связи с массовым заселением шеститочечной цикадкой - *Macrosteles laevis*. Шеститочечная цикадка, обладая колюще-сосущим ротовым аппаратом, высасывает соки из растения, что особенно влияет на молодые растения. Злаки, повреждённые цикадками, под влиянием солнечных лучей сохнут иногда усыхают полностью.

Вред от цикадовых, повреждающих злаковые культуры в Узбекистане проявляется в следующем образом: Цикадовые обладают колюще-сосущим ротовым аппаратом, поэтому они высасывают соки из сосудистых пучков корней, стеблей, листьев. Высасывание соков вызывает истощение и недоразвитие растений, так как они лишаются азотистых и других питательных веществ, необходимых для построения своих тканей и органов. Особенно опасно, когда цикадовые в массовом количестве нападают на молодые растения и вызывают торможение роста, угнетение и их гибель. Некоторые виды при питании способны вызывать закупорку проводящих сосудов и нарушать сокодвижение. Поврежденные растения приобретают желтовато-бурую или красноватую окраску разной степени интенсивности. Кроме того цикадовые наносят яйцекладом ранки на вегетативных частях в период яйцекладки.

Особое место в переносе вирусных заболеваний принадлежит насекомым с колюще-сосущим ротовым аппаратом, поскольку вирусы самостоятельно не способны проникать в здоровые клетки

растения. Наколы, производимые колюще-сосущим ротовым аппаратом некоторых видов цикад, являются воротами для проникновения вирусов [4]. Цикадовые, в этом отношении находятся на особом месте, поскольку переносят ряд наиболее опасных вирусных заболеваний растений (вирус мозаики пшеницы, вирус белой мозаики озимой пшеницы, карликовости пшеницы, бледно-зелёной карликовости пшеницы, вирус полосатости пшеницы и овса, вирус карликовости овса и ячменя, вирус закукливания овса и других злаков, вирус рыжей карликовости кукурузы, вирусы карликовой и полосатой болезни риса и другие).

Наши многолетние исследования показали, что на зерновых злаках в оазисных и предгорных районах Зеравшанской и Ферганской долинах преобладали *Balclutha rhenana* Wgn., *B. mitjajevi* Dlab., *Macrosteles laevis* Rib., *Cicadula divaricata* Rib., *Psammotettix striatus* L., *Laodelphax striatellus* Fall., *Hyalesthes obsoletus* Sign., *Pentastiridius pallens* (Germ.) и *P. Leporinus* L.

На рисе размножаются и сильно повреждают его *Laodelphax striatellus* Fall., *Psammotettix striatus* L., *Macrosteles laevis* Rib. Например, проведённые нами регулярные учёты на рисовых полях в пойме реки Сырдарьи, близ селения Чиназ, показали, что на 100 взмахов сачком попадалось массовое количество цикад. Среди них преобладали тёмная – *L. striatellus* и полосатая – *P. striatus*. Снижение их численности наблюдалось с середины августа, когда началось колошение риса и пожелтение листьев. *L. striatellus* и *P. striatus* переносят вирусные болезни злаков, т.е. ставится под угрозу уничтожения до 100% урожая от вирусных болезней. Высокая численность цикадовых на рисовых полях ежегодно наблюдается в пойме рек Карадарьи и Андижанская.

Нами отмечено, что цикадовые на посевах злаков в некоторые годы могут давать вспышки массового размножения, и тогда они размножаются в колоссальном количестве. Цикадовые настолько много высасывают влаги, что растения не успевают её компенсировать, увядают и усыхают. Мы проводили количественный учёт цикадовых на колосовых злаках Зеравшанской и Ферганской долин в 2017-2018 гг. Во всех пробах содержалось в среднем 25-40 экземпляров цикадовых, с колебаниями от нескольких до 115-125 экземпляров на 50 взмахов стандартным энтомологическим сачком. Однако, при наличии в пробах 40-50 цикадовых, в пересчете на каждый гектар, встречается от 15 до 16 тысяч экземпляров на гектар. Экономический порог вредоносности 50-80 экземпляров на 50 взмахов сачком.

Отмечено, что резерваторами цикад в осенний период были люцерновые поля. В настоящее время расширяются посевы зерновых и озимые культуры привлекают большое количество этих вредителей. На всходах озимых злаков осенью скапливаются зимующие в фазе имаго цикады и те виды, которые откладывают яйца на всходы злаков. В результате весной следующего года скопится количество вредителей, ставящее под угрозу урожай зерновых. Особенно опасны, при этом полосатая, шеститочечная и темная цикадки.

Мы приводим некоторые полученные нами материалы по биологии полосатой, шеститочечной и темной цикадок в Узбекистане.

Полосатая цикадка - *Psammotettix striatus* L. повреждает пшеницу, ячмень, овес, кукурузу, просо, рис и другие злаковые культуры, предпочитая всходы растений. Насекомые очень вредоносны, ослабляют растения, кроме того, поскольку они вредят озимым, повреждённые растения плохо переносят зимний сезон.

P. striatus многочисленна во всех районах исследований. При питании вызывает увядание растений, замедляя кущение их, вызывает гибель. Она является переносчиком вирусных болезней растений.

В условиях Узбекистана вид развивается в 3-4 поколениях в году. Появление личинок первой генерации в условиях Северного Узбекистана происходит в конце марта, начале апреля. К концу мая, началу июня личинки заканчивают свое развитие и превращаются в имаго. В середине июня откладываются яйца, как обычно в ткани листьев растений и к концу августа, началу сентября заканчивает свой цикл развития вторая генерация цикад. Третья генерация развивается до конца октября или начала ноября. В наших условиях зимуют яйца *P. striatus* цикадки. В годы с тёплыми зимами в Ферганской долине и на юге Узбекистана она развивается в 4 поколениях.

Шеститочечная цикадка - *Macrosteles laevis* Rib., на орошаемых землях встречается в Узбекистане повсеместно. Является многоядным вредителем. Она особенно многочисленна в поймах рек, саев и на рисовых полях. *M. laevis* сильно ослабляет растение, вызывает его обесцвечивание и увядание. Кроме того повреждают растения при яйцекладке.

В зависимости от зоны выращивания злаковых культур в Узбекистане, *M. laevis* может давать 1-5 поколений в году. Но везде она уходит в зимовку в фазе яйца.

По сведениям Г.К.Дубовского [2] - А.Ф.Емельянов считает, что *M. laevis* в европейской части России развивается в 2 поколениях, сам Г. К. Дубовский, приводит материалы, что в альпийских лугах цикадка развивается в 1 поколении, а ниже в долинах дает 4-5 генераций.

Наблюдения, проведенные нами, позволяют сделать вывод, что в Условиях Узбекистана *M. laevis* развивается на орошаемых землях и в предгорьях в 3-5 поколениях в зависимости от района обитания и погодных условий.

Шеститочечная цикадка - *M. laevis* участвует в переносе вирусных заболеваний злаковых культур.

Темная цикадки - *Laodelphax striatellus* Fall. Предпочитает злаки, особенно рисовые поля. Зимуют личинки старших возрастов (3-5 возраст). Имаго из них появляются ранней весной, в начале или середине марта. Развиваются в 4-5 поколениях. Яйца откладывают группами на листья (15-20 яиц). Длина яиц от 0,70 до 0,80, ширина 0,15-0,20 мм. Цикадки предпочитают нижнюю часть растения. Имаго, получившиеся из зимующих личинок откладывают яйца в апреле. Из яиц появляются личинки в 1 декаде и развиваются до 3 декады апреля, затем, превратившись в имаго они откладывают яйца в третьей декаде мая. Личинки второй генерации развиваются в течении июня. Имаго этой генерации откладывают яйца с первой по вторую декады июля. Личинки 3 генерации развивались 2 и 3 декады июля, а получившиеся из них имаго в начале августа приступают к яйцекладке. Во 2 и 3 декадах августа по 2 декаду сентября развивались личинки 4 поколения. В конце сентября и начале октября имаго 4 поколения откладывают яйца, из которых в октябре-ноябре развиваются личинки 5 поколения. Личинки старших возрастов этого поколения уходят на зимовку, затем весной следующего года заканчивают свое развитие. Отмечено, что наиболее многочисленна *L. striatellus* в августе и сентябре.

При уборке урожая зерновых *L. striatellus* может переходить на дикую и сорную растительность. *L. striatellus* тоже является переносчиком вирусных заболеваний злаков.

Изучение энтомофагов цикадовых показало, что их уничтожают многие хищные и паразитические животные. Поэтому биологический метод борьбы с цикадовыми, тоже ждёт своего решения. Мы можем отметить, что цикадовые, как и другие насекомые подвергаются нападению естественных врагов, которые играют определённую роль в снижении их численности. Цикадовых уничтожают пресмыкающиеся: туркестанская агама, степная агама, такырная круглоголовка, сетчатая круглоголовка, песчаная круглоголовка и другие. Ими питаются воробьи, майны, длиннохвостые сорокопуть, темнозобые дрозды, сороки, рыжепоясничные ласточки, ласточки-касатки и другие пернатые. В своих исследованиях мы отметили паразитов из семейств Trombididae, Dorylidae, Dryinidae. Наиболее эффективными паразитами являются перепончатокрылые из семейства Dryinidae, заражение которыми в 2017-2018 годы в среднем достигало 13-14%.

В целом можно отметить, что на злаках в Узбекистан зарегистрировано 30 видов цикадовых. Среди них наиболее многочисленными и вредоносными являются полосатая - *Psammotettix striatus*, шеститочечная – *Macrostelus laevis*, цикадула - *Cicadula divaricata* и темная - *Laodelphax striatellus*, к тому же все они, кроме *C. divaricata* переносят вирусные заболевания. Именно эти виды заслуживают пристального внимания.

Заклучения. На зерновых злаках в хозяйствах Узбекистана зарегистрировано 30 видов цикадовых из 6 семейств. Среди них наиболее многочисленными и вредоносными являются полосатая - *Psammotettix striatus*, шеститочечная – *Macrostelus laevis*, цикадула - *Cicadula divaricata* и темная - *Laodelphax striatellus*, все они, кроме *C. divaricata* переносят вирусные заболевания. Из них 1 вид *Macrostelus forficulus* Rib. новый для фауны Узбекистана, 27 видов отмечаются впервые на зерновых злаках в Зеравшанской долине и 1 вид в Ферганской долине, согласно литературным изысканиям 9 видов известны как переносчики опасных вирусных болезней растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гальков В.П. Шеститочечная кобылка (*Jassus sexnotatus* Fall.) // Защита растений от вредителей. – Вып.4. - №2. – М.: – 1927. – С. 8-9.
2. Дубовский Г.К. Цикадовые (Auchenorrhyncha) Ферганской долины. - Фан. – Ташкент: – 1966. - 256 с.

3. Дубовский Г.К., Кожевникова А.Г. Тёмная цикадка опасный вредитель риса в Ферганской долине //Тезисы докладов респ. конф. Защита растений и окружающая среда. – Андижан: – 1996. – С. 29-30.
4. Кожевникова А.Г. Цикады семейства Issidae – вредители сельскохозяйственных культур в Узбекистане // Узбекский биологический журнал. - № 3. – Ташкент. - 2018. - С. 47-49.
5. Митяев И.Д. Цикадовые Казахстана (Homoptera, Cicadinea). -Наука. - Алма-Ата: - 2001. - 210 с.
6. Попова Е.А. Вредители кукурузы в условиях Самаркандской области //Тр. УзГУ. - №87. – Самарканд: - 1959. – С. 38-39.
7. Энгельгард В., Мищенко А. Насекомые вредители риса в Дальневосточном крае. - Сельхозгиз. - М.: – 1931. – С. 24-25.

Ташкентский гос. аграрный университет

Дата поступления
01.02.2019

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Ш.У. БОБОХУЖАЕВ, М.Ф. САНАМЬЯН

БИОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АНЕУПЛОИДНЫХ ГИБРИДОВ F₁, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ СКРЕЩИВАНИЙ АНЕУПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ ВИДА *G.HIRSUTUM* L. С ЛИНИЕЙ PIMA 3-79 ВИДА *G.BARBADENSE* L.

bobohujayev@mail.ru

Sh.U. Bobohujayev, M.F. Sanamyan

G.HIRSUTUM L. TURINING ANEUPLOID LINIYALARINI *G.BARBADENSE* L. TURINING PIMA 3-79 LINIYASI BILAN CHATISHTIRIB OLINGAN F₁ ANEUPLOID DURAGAYLARIDA BIOMORFOLOGIK TAHLILI

G'o'za o'simligida birinchi marodaba alohida xromosomasi-almashgan (*G.hirsutum* L. turining monosomik va monotelodisomik liniyalarini *G.barbadense* L. turining Pima 3-79 liniyasi bilan chatishtirib olingan F₁) F₁ aneuploid duragaylarda biomorfologik tahlil olib borildi. F₁ aneuploid duragaylarda bir birlari quyidagi belgilari bilan farqlandi, poyani barglanishi, barglarni shakli va o'lchami, ko'sak bandi va ko'sak uzunligi va boshqalar.

Kalit so'zlar: g'o'za, xromosomasi-almashgan, barg shakli, gul osti kosacha bargi, tumshuqcha, ko'sak bandi va uzunligi.

Бобохужаев Ш.У., Санамьян М.Ф.

БИОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АНЕУПЛОИДНЫХ ГИБРИДОВ F₁, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ СКРЕЩИВАНИЙ АНЕУПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ ВИДА *G.HIRSUTUM* L. С ЛИНИЕЙ PIMA 3-79 ВИДА *G.BARBADENSE* L.

Впервые было проведено биоморфологическое описание анеуплоидных гибридов F₁ с замещениями отдельных хромосом (полученных от скрещивания моносомных и монотелодисомных линии вида *G.hirsutum* L. с линией Pima 3-79 вида *G.barbadense* L.). Анеуплоидные гибриды F₁ различались между собой по таким признакам, как облиственность куста, размер и форма листа, длина плодоножки и коробочки и другим.

Ключевые слова: хлопчатник, хромосом-замещенные гибриды, форма листа, прицветник, выступ рыльца, длина плодоножки и коробочки.

Sh.U. Bobokhujayev, M.F. Sanamyan

BIOMORPHOLOGICAL ANALYSIS OF ANEUPLOID F₁ HYBRIDES OBTAINED FROM CROSSES OF ANEUPLOID LINES OF *G.HIRSUTUM* L. LINE WITH PIMA 3-79 LINE OF *G.BARBADENSE* L.

For the first time in the Republic of Uzbekistan, a biomorphological description of aneuploid F₁ hybrids with substitutions of individual chromosomes was carried out (obtained from the crosses monosomics and monotelodisomics lines species *G.hirsutum* L. with line Pima 3-79 species *G.barbadense* L.). Aneuploid F₁ hybrids differed among themselves according to such characteristics as the foliage of the bush, the size and shape of the leaf, the length of the peduncle and the bolls and others.

Key words: cotton, chromosome-substituted hybrids, leaf shape, bract, stigma, stem length and bolls.

Введение. В течение последних лет были обнаружены и описаны два новых тетраплоидных вида хлопчатника: *Gossypium ekmanianum* Wittm. (Grover et al., 2015) и *Gossypium stephensii* J. Gallagher, C. Grover & Wendel, которые могут быть использованы дальнейшем для создания новых хромосом-замещенных линий (Gallagher et al., 2017).

В США создали и использовали моносомные и монотелодисомные линии для получения трех различных серий хромосом-замещенных линий (CS) с участием трех тетраплоидных видов: *G.barbadense* L. (Saha et al., 2004; Stelly et al., 2005), *G.tomentosum* Nutt. ex Seem (Saha et al., 2006) и *G. mustellium* Miers ex Watt. (Saha et al., 2013). Так, с использованием вида *G.barbadense* L. было создано 20 замещенных линий с замещениями 11 пар негомологичных хромосом, а также с

замещениями семи коротких плеч и двух длинных плеч хромосом (Stelly et al., 2005, Saha et al., 2015).

Кроме того, с участием вида *G.tomentosum* получено 11 замещенных линий, из них семь по целым хромосомам и четыре с замещениями отдельных плеч хромосом. С участием вида *G. mustellium* было создано 9 хромосом-замещенных линий (Saha et al., 2015).

Материалы и методы. В Национальном университете Узбекистана им. М. Улугбека проводятся исследования по использованию Цитогенетической коллекции хлопчатника, включающей анеуплоидные линии (Sanamyan et al., 2014), для создания форм с замещениями отдельных хромосом от вида *G. barbadense* L. (Санамьян 2011; Sanamyan et al., 2016).

С целью получения хромосом-замещенных форм хлопчатника проводились скрещивания моносомных линий с идентифицированными хромосомами (хромосомы 2, 4, 6, 7 и 18) и двух монотелодисомных линий (хромосомы 6 и 11) с линией донором - Pima 3-79 вида *G. barbadense* L. (Санамьян и др. 2016; Sanamyan et al., 2018). Среди 16 гибридных семей с помощью цитогенетического анализа выделяли моносомные и монотелодисомные гибриды с замещениями отдельных хромосом или их плеч (Бобохужаев и др. 2018).

Анализ результатов. Биоморфологический анализ анеуплоидных гибридов F_1 , полученных от скрещиваний анеуплоидных линий вида *G.hirsutum* L. с линией Pima 3-79 вида *G.barbadense* L., проводился в сравнении с исходными формами. Две исходные линии – линия Л-458 вида *G.hirsutum* L. и линия Pima 3-79 вида *G.barbadense* L. сильно различались между собой по большинству признаков. Так, линия Л-458 характеризовалась раскидистым кустом, в отличие от линии Pima 3-79, у которой куст имел компактную форму. Линия Л-458 отличалась средней облиственностью, тогда как линия Pima 3-79 имела слабую облиственность. Хотя листья у двух линий были крупного размера и пальчатодольчатой формы, у линии Pima 3-79 листья выделялись большей толщиной и темно-зеленой окраской. Линии различались также по длине черешка (Л-458 - 11 см, Pima 3-79 - 7 см), количеству зубцов в прицветниках (10-12 и 12-13, соответственно), а также размеру цветков, где линия Pima 3-79 имела более крупные цветки, чем линия Л-458. Кроме того, линия Л-458 характеризовалась почти вдвое меньшим числом тычинок на тычиночной колонке (53) и большим числом семянчиков в завязи (31) по сравнению с линией Pima 3-79 (104-106 и 26-27, соответственно). Сильные различия наблюдались в окраске цветков, так как линия Л-458 характеризовалась кремовой окраской лепестков и отсутствием пятна, а линия Pima 3-79 – желтой окраской цветков и присутствием большого антоцианового пятна в основании лепестка. Сильные различия наблюдались также по форме, размеру, характеру поверхности и числу створок коробочки, поскольку у линии Л-458 формировались яйцевидные коробочки со звездочкой, гладкой поверхностью и 4-5 створками, а у линии Pima 3-79 - яйцевидные вытянутые коробочки с длинным носиком и темно-зеленой, железистой поверхностью и с 3-створками.

Сравнительный анализ дисомного гибрида F_1 (Л-458хPima 3-79) и двух исходных линий выявил как различия, так и сходство его с одним из родителей. Такими различиями были: пирамидальная форма куста, листья более крупного размера, менее выраженное антоциановое пятно на лепестках, чем у линии Pima 3-79, меньшее число семянчиков (18) в завязи, а также больший размер коробочек, по сравнению с обоими родителями. Сходство гибрида с линией Л-458 наблюдалось в количестве зубцов у прицветника, кремовой окраске лепестков, тогда как сходство с линией Pima 3-79 выражалось в слабой облиственности, длине черешка, окраске пыльника и форме, а также характеру поверхности коробочки.

Моносомные гибриды F_1 с замещением по хромосоме 2 - F_1 (Мо16хPima 3-79) имели такие характерные черты по сравнению с двумя родителями и дисомным исходным гибридом, как большее число тычинок на тычиночной колонке (от 143 до 152), меньший размер выступа рыльца (0,1 см), меньшая длина плодоножки (0,6-1 см). Поскольку в литературных источниках отсутствует подробное описание гибридов F_1 с замещением по хромосоме 2 от вида *G.barbadense* L., прямое сравнение наших данных не представляется возможным. Из отрывочных данных по материалам американской цитогенетической коллекции известно, что хромосом-замещенная линия по хромосоме 2 - CS-B02 имела коробочки большого размера [Saha et al., 2015].

Моносомные гибридные растения с замещениями по хромосоме 4 - F_1 (Мо7 хPima 3-79, Мо38 хPima 3-79, Мо58 хPima 3-79, Мо59 хPima 3-79, Мо60 хPima 3-79, Мо69 хPima 3-79 и Мо75 хPima 3-79), имели такие характерные черты по сравнению с двумя родителями и дисомным исходным гибридом, как более длинные черешки листьев (от 10 до 17-18см), за исключением моносомного

гибрида F₁ Mo75 x Pima 3-79, у которого длина черешка была намного меньшей (6 см). Кроме того, эти моносомные гибриды отличались более густой облиственностью, а также листьями более крупного размера и более длинными цветоножками (от 4 до 7 см), за исключением моносомного гибрида F₁ (Mo58xPima 3-79), у которого длина цветоножки была намного меньшей (2 см). Моносомные гибридные растения с замещениями по хромосоме 4 характеризовались более крупными цветками (от 9 см до 14 см), большим количеством зубцов на прицветниках (от 13 до 19) и количеством тычинок на тычиночной колонке (от 97 до 155), за исключением одного моносомного гибрида F₁ Mo75 x Pima 3-79, который характеризовался присутствием 87 тычинок на тычиночной колонке и 26 семян в завязи, что было намного меньше, чем у других моносомных гибридов с замещением по хромосоме 4 (от 31 до 41). Поскольку в литературных источниках отсутствует подробное описание гибридов F₁ с замещением по хромосоме 4 от вида *G. barbadense* L., непосредственное сравнение наших данных с данными американских исследователей не представляется возможным. Тем не менее, из отрывочных данных по материалам американской цитогенетической коллекции известно, что дисомная хромосом-замещенная линия по хромосоме 4 (CS-B04) с замещением от вида *G. barbadense* L. характеризовалась большей низкорослостью, чем дисомная хромосом-замещенная линия CS-M04 с замещением по хромосоме 4 от вида *G. mustelinum* Miers ex Watt. и дисомная хромосом-замещенная линия CS-T04 вида *G. tomentosum* Nutt. ex Seem. (Saha et al., 2015).

У моносомных гибридных растений F₁ (Mo34xPima 3-79, Mo67xPima 3-79, Mo92xPima 3-79 и Mo95xPima 3-79) с замещением по хромосоме 6 наблюдалась компактность куста, короткие симподиальные ветви, более толстые и темно-зеленые листья. Количество зубцов на прицветнике было немного большим (от 12 до 16) с увеличенным расстоянием между зубцами. Кроме того, плодоножки имели меньшую длину (от 1 до 2 см), а коробочки характеризовались шаровидной формой с длинным носиком. Также у монотелодисомных гибридов с замещением одного плеча хромосомы 6 (F₁Telo12xPima 3-79), наблюдались такие характерные черты, как более длинные черешки (до 15 см), меньшее количество тычинок на тычиночной колонке (от 79 до 81), а также большее количество семян (до 33) по сравнению с моносомными гибридами F₁ с замещением по хромосоме 6.

У моносомного гибрида F₁Mo27xPima 3-79 с замещением по хромосоме 7 наблюдалось увеличение длины черешков (13 см), количества тычинок на тычиночной колонке (135) и числа семян (34).

У монотелодисомного гибрида с замещением одного плеча хромосомы 11 F₁Mo21xPima 3-79 наблюдались листья трёх-лопастной или трёх-дольчатой формы, прицветники с увеличенным числом зубцов (15) и числа тычинок на тычиночной колонке (135), а также числа семян (34). Хромосом-замещенная линия CS-B11sh с замещением по короткому плечу хромосомы 11 от вида *G. barbadense* L., а также линия CS-M11sh с замещением от вида *G. mustelinum* характеризовались очень поздним цветением и созреванием коробочек по сравнению с TM-1 и CS-T11sh (Saha et al., 2015).

Моносомный гибрид F₁Mo48xPima 3-79 с замещением по хромосоме 18 характеризовался слабой облиственностью, густой опушенностью стебля и листьев, а также объемными прицветниками. Какие-либо данные по хромосом-замещенной линии по хромосомам 6, 7 и 18 от вида *G. barbadense* L. в литературе отсутствуют.

Заключение. Изученные анеуплоидные гибриды F₁ характеризовались изменчивостью большинства биоморфологических признаков по сравнению с исходным дисомным гибридом F₁. Биоморфологические различия анеуплоидных межвидовых гибридов F₁ с замещениями отдельных хромосом или их плеч от вида *G. barbadense* были обусловлены нехватками определенных хромосом (2, 4, 6, 7 и 18) и отдельных плеч хромосом (6 и 11).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобохужаев Ш.У., Санамьян М.Ф. Цитологическое изучение межвидовых гибридов F₁ с замещениями отдельных идентифицированных хромосом вида *Gossypium barbadense* L. // Респ. науч. конф. «Современные Проблемы Генетики, Геномики и Биотехнологии». Ташкент.- 2017. 18 мая. С. 184-186.
2. 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 (Россия). 2016. Т.20. №5. С.643-652.
3. Grover C. E., X. Zhu, K.K. Grupp, J. Jareczek, J. P. Gallagher., E. Szadkowski and J. F. Wendel. Molecular confirmation of species status for the allopolyploid cotton species, *Gossypium ekmanianum* // Genetic Resources and Crop Evolution. 2015. V. 62. P.103-114.
 4. Sanamyan M.F., Petlyakova J., Rakhmatullina E.M., Sharipova E. World Cotton Germplasm Resources. Chapter 10. "Cytogenetic Collection of Uzbekistan". – Intech. – Croatia. 2014. P. 247-287.
 5. Sanamyan M.F., Makamov A.K., Bobokhujayev Sh.U., Usmonov D.E., Buriev Z.T., Saha S., Stelly D.M. The Utilization of Translocation Lines and Microsatellite Markers for the Identification of Unknown Cotton Monosomic Lines // в книге «Cotton Research», Chapter 8. Intech. – Croatia. 2016. P. 167-183.
 6. Sukumar Saha., J.Wu., J.N. Jenkins, J.C. McCarty, Jr., O.A. Gutierrez, D.M. Stelly, R.G. Percy, and D.A. Raska. Effect of Chromosome Substitutions from *Gossypium barbadense* L. 3-79 into *G. hirsutum* L. TM-1 on Agronomic and Fiber Traits // The Journal of Cotton Science. 2004. V. 8. P.162-169.
 7. Saha S., Raska, D. A. and Stelly D. M. Upland (*Gossypium hirsutum* L.) x Hawaiian cotton (*G.tomentosum* Nutt. ex Seem.) F₁ hybrid hypoaneuploid chromosome substitution series. // Journal of Cotton Science. 2006. V.10. P.102-114.
 8. Saha S., Dwaine A. Raska., Stelly D.M., Shivapriya Manchali and Osman A. Gutierrez. Hypoaneuploid Chromosome substitution F1 Hybrids of *Gossypium hirsutum* L. x *G.mustelinum* Miers ex Watt // The Journal of Cotton Science. 2013. V. 17. P. 102-114.
 9. Saha S., Stelly D.M., Makamov A. K., Ayubov M.S., Osman D.R., Gutierrez A., Manchali Sh., Jenkins J.N., Abdurakhmonov I.Y. Molecular confirmation of *Gossypium hirsutum* chromosome substitution lines // Euphytica. 2015. V. 205. P.459–473.
 10. Stelly D.M., Saha S., Raska D.A., Jenkins J.N., McCarty J.C., Jr., and Gutierrez 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.
 11. Gallagher J.P., Grover C. E., Rex K., Moran M. and Wendel J. F. A new species of cotton from the Wake Atoll, *Gossypium stephensii* (Malvaceae) // Systematic Botany. 2017. V. 42. P.115-123.

Национальный Университет Узбекистана

Дата поступления
08.04.2019

ХОТАМОВ М.М., АВАЗХОДЖАЕВ М.Х.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА РОСТБИСОЛ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ТВЕРДОЙ ГОЛОВНЕЙ ПШЕНИЦЫ

mansurhatamov@mail.ru

HOTAMOV M.M., AVAZKHODJAEV M.H.

ROSTBISOL PREPARATINI BUG'DOYNING QORA KUYA KASALLIGIGA TA'SIRI

Mazkur maqolqda yumshoq bug'doyning qora kuya kasaligini oldini olishda va o'simlikning qimmatli ho'jalik belgilari ortishiga Rostbisol va Raksil preparatlarini birgalikda qo'yidagi 0.1, 0.2, 0.4, 0.5% miqdorda qo'llash orqali olingan natijalar keltirilgan.

Kalit so'zlar: Ростбисол, Раксил, иммуностимулятор.

ХОТАМОВ М.М., АВАЗХОДЖАЕВ М.Х.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА РОСТБИСОЛ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ТВЕРДОЙ ГОЛОВНЕЙ ПШЕНИЦЫ

В статье приводятся данные влияния препарата Ростбисол и смеси препарата Ростбисол с Раксилом в различных 0.1, 0.2, 0.4, 0.5% нормах расхода с целью предотвращения заражения пшеницы от болезни твердой головней и для получения ценных хозяйственных признаков.

Ключевые слова: Ростбисол, Раксил, иммуностимулятор.

STUDYING THE IMMUNE MULTI-ACTIVATING ACTIVITY OF ROSTBISOL DRUGS AT INFECTION OF SOLID HEAD WHEAT

It has presented the obtained data concerning usage of various doses of Rostbisol preparation in 0.1, 0.2, 0.4, 0.5% doz combination of Rostbisol and Raksil preparations against loose smut diseases of wheat.

Key words: Rostbisol, Raksil, immunostimulant.

Введение: Научные исследования, направленные на разработку интегрированных систем защиты растений, в том числе зерновых культур (пшеницы) от вредителей и болезней, являются одним из приоритетных направлений мировой науки [1]. Устойчивость растений к заболеваниям во многом зависит от его физиологического состояния, которое, в свою очередь зависит от условий выращивания, обеспеченности водой, элементами минерального питания, физических и химических характеристик почвы. Создание оптимальных условий произрастания, в сочетании с мерами борьбы с инфекционными заболеваниями, способствует максимальному проявлению потенциальных возможностей растений, в том числе и устойчивости к патогенам. Для снижения заболеваемости растений и увеличения урожайности многие авторы использовали иммуно-биостимулятор Ростбисол [2-5]

Методика. Эксперимент проводили в течение 3 лет. В полевом мелкоделяночном опыте изучали иммуностимулирующую активность препарата Ростбисол для борьбы с головневыми заболеваниями пшеницы. В этом опыте препарат Ростбисол был использован в качестве протравителя семян как в отдельности, так и в баковой смеси совместно с промышленным протравителем Раксиллом.

Анализ результатов. Обработка семян пшеницы, препаратом Ростбисол с нормой расхода 0,1 л/т и смесью Ростбисол (0,1 л/т) + Раксил (0,2 л/т) в лабораторных условиях оказывает стимулирующее действие на прорастание и всхожесть семян. Если в контроле энергия прорастания семян составила 90,0%, а всхожесть – 93,4%, то в варианте с Ростбисолом – соответственно 95,9 и 98,3%. Практически такие же результаты были получены и в варианте применения смеси Ростбисола с Раксиллом. При использовании препарата Раксил, взятого в качестве «стандартного» протравителя семян пшеницы с нормами расхода 0,2; 0,4 и 0,5 л/т, энергия прорастания и всхожесть незначительно превосходили контрольные показатели. Учет полевой всхожести семян пшеницы в этих вариантах подтвердил результаты лабораторных экспериментов. Если в контрольном варианте насчитывали в среднем по 210,4 шт/м², то в варианте применения только Ростбисола возшло в среднем по 238,5 шт/м², а в варианте совместного использования Ростбисола с Раксиллом (0,1 + 0,2 л/т) - 237,8 шт/м².

В полевом опыте пораженность посевов твердой головней была достаточно высокой, а на контрольных делянках больных колосьев насчитывали в среднем по 90,5 шт на 1000, т.е. пораженность посевов составила 9,05% (таблица).

Влияние протравителей на поражаемость сорта пшеницы «Унумли» твердой головней и на урожай зерна в мелкоделяночном опыте ($S_x = 5,4365$, $HC_{P_{0.1}} = 19,2$ г/м²)

Варианты опыта	Норма расхода препарата, л/т	Лабораторная всхожесть семян, %		Среднее кол-во всходов шт/м ²	Среднее кол-во продуктивных стеблей при уборке, шт/м ²	Поражено колосьев твердой головней, %		Масса 1000 зерен, г	Биологический урожай, г/м ²	Прибавка к зараженному контролю	
		энергия прорастания	Всего			Всего	биол. эфф-ть			г/м ²	%
Контроль заражен.	-	90,0	93,4	210,4	341,6	9,050	-	36,2	290,5	-	-
Ростбисол	0,1	95,9	98,3	238,5	360,2	1,090	69,9	37,6	319,3	28,8	9,9
Ростбисол +Раксил	0,1+0,2	95,7	98,7	237,8	360,0	0,165	95,5	37,4	330,8	40,3	13,9
Раксил	0,2	91,3	94,5	225,8	343,7	0,815	77,4	36,8	315,1	24,6	8,5
	0,4	93,0	96,0	229,1	349,2	0,600	93,4	37,1	322,3	31,8	10,9
	0,5	92,0	95,8	232,0	352,3	0,040	99,6	37,5	329,5	39,0	13,4

На делянках с обработкой семян препаратом Ростбисол колосьев, пораженных твердой головней, насчитывали в среднем по 10,9 шт на 1000 колосьев (1,09%). Таким образом, биологическая эффективность препарата составила 69,9%, что свидетельствует о том, что Ростбисол не обладает ярко выраженными фунгицидными свойствами. Этот препарат обладает иммуно- и ростостимулирующей активностью, т.е. в данном случае стимулирует иммунную систему растения, способствуя увеличению сопротивляемости растения к патогенам. В то же время использование Ростбисола в смеси с Раксиллом, примененные в половинной норме расхода (0,2 л/т) от рекомендуемой в практике (0,4-0,5 л/т), значительно снизило пораженность посевов твердой головней.

Если применение Раксила с нормой расхода 0,2 л/т было явно недостаточным для подавления развития твердой головни (77,4% биологической эффективности), то использование его с аналогичной нормой расхода в смеси с Ростбисолом способствовало подавлению болезни на 95,5%, т.е. на уровне использования Раксила с нормами расхода 0,4 (93,4% биологической эффективности) и 0,5 л/т (99,6%).

Закключение. Исследования показали, что добавление препарата Ростбисол к Раксилу способствует снижению нормы расхода последнего в 2 раза, что значительно снижает себестоимость протравливания семян пшеницы и уменьшает химический прессинг на окружающую среду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хасанов Б.А. Ржавчинные болезни пшеницы в Узбекистане и борьба с ними, Ташкент-2007.
2. Алимухаммедов С.Н., Урунов И.С. «Состояние и перспективы исследований по разработке мер борьбы с вилтом хлопчатника». «Материалы всесоюзного координационного совещания по вилту хлопчатника» 1992 год стр. 6-14.
3. Исаев Р.Ф., Середа Н.А. Влияние различных препаративных форм Гуми на фитосанитарное состояние посевов яровой пшеницы // Гуминовые вещества в биосфере. Тезисы докладов II Международной конференции - Москва, Санкт Петербург, 2003.- С.108-109.
4. Мухаммеджанов М.В., Авазходжаев М.Х., Жуманиязов И., Мамаджанов К., Бегметов Р., Закиров А. «Прогрессивная технология земледелия и бисол-2 в борьбе с вилтом хлопчатника». «Материалы всесоюзного координационного совещания по вилту хлопчатника» 1992. с. 124-127.
5. Кадиров А.К., Авазходжаев М.Х., Монаков С.Б., Агаев Г.М. «Использование Ростбисолом в баковой смеси» «Ўзбекистон кишлок хўжалиги» №5, 2008 йил 31-бет.

Институт генетики

Дата поступления
04.03.2019

ПОЧВОВЕДЕНИЕ И АГРОХИМИЯ

Т.К. ОРТИКОВ, Х.Т. АРТИКОВА, О.Р. УМАРОВ, З.Х. БАФОЕВА

ИЗМЕНЕНИЕ АГРОХИМИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛУГОВЫХ ПОЧВ БУХАРСКОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ЗАСОЛЕНИЯ

ortikovt@mail.ru

T.K. Ortikov, H.T. Artikova, O.R. Umarov, Z.X. Bafoeva

BUXORO VILOYATI O'TLOQ TUPROQLARI AGROKIMYOVIY VA MIKROBIOLOGIK KO'RSATKICHLARINI SHO'RLANISH DARAJASIGA BOG'LIQ RAVISHDA O'ZGARISHI

Buxoro viloyati o'tloq tuproqlaridagi suvda eruvchan tuzlar miqdori va turlarining tuproq mikrobiologik va agrokimyoviy xossalriga ta'siri bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan. Bunda sho'rlangan tuproqlar tuzlarining tuproq agrokimyoviy xossalriga nafaqat mikrobiologik jarayonlari orqali bilvosita, balki kimyoviy jarayonlarni borish sharoitini belgilovchi kimyoviy modda sifatida ham ta'sir qilishi ko'rsatib o'tilgan.

Kalit so'zlar: agrokimyoviy xossa, mikroorganizmlar, o'tloq tuproq, sho'rlanish, tuzlar, gumus, oziq moddalar.

T.K. Ортиков, Х.Т. Артикова, О.Р. Умаров, З.Х. Бафоева

ИЗМЕНЕНИЕ АГРОХИМИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛУГОВЫХ ПОЧВ БУХАРСКОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ЗАСОЛЕНИЯ

Приведены данные о влиянии степени и типов засоления на микробиологические и агрохимические свойства луговых почв Бухарской области. При этом показано, что водорастворимые соли засоленных почв оказывает влияние на агрохимические свойства почв не только опосредованно через микробиологические процессы, но и непосредственно как химические вещества определяющие условий протекания химических процессов.

Ключевые слова: агрохимическое свойство, микроорганизмы, луговая почва, засоление, соли, гумус, питательные вещества.

T.K. Ortikov, H.T. Artikova, O.R. Umarov, Z.X. Bafoeva

CHANGE OF AGROCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL INDICATORS OF MEADOW SOILS OF THE BUKHARA REGION DEPENDING ON THE DEGREE OF SALINATION

It has presented data on the influence of the degree and types of salinization on the microbiological and agrochemical properties of meadow soils Bukhara region. It was shown that water-soluble salts of saline soils affect the agrochemical properties of soils not only indirectly through microbiological processes, but also directly as chemical substances that determine the conditions for the occurrence of chemical processes.

Keywords: agrochemical property, microorganisms, meadow soil, salinization, salts, humus, nutrients

Введение. Изучение изменения агрохимических показателей луговых почв под действием водорастворимых солей, в зависимости от количества и формы солей, имеет большое значение в понимании формирования агрохимических свойств этих почв. Содержание и формы солей сильно влияют на активность микроорганизмов, участвующих в тех процессах, при которых образуются питательные вещества, определяющие агрохимические свойства почвы. В исследованиях С. Муродовой [6] наибольшее количество гумуса обнаруживалось в незасоленной орошаемой лугово-сероземной почве (2,06%) и самое низкое - в сильнозасоленной лугово-сероземной почве (0,73%). При этом количество аммонифицирующих бактерий резко снизилось. Негативное действие соли на биологическую активность почв связывают, прежде всего, с резким повышением осмотического давления. Засоление снизило интенсивность развития аэробных углеводородосодержащих микроорганизмов по сравнению с незасоленной почвой [7]. Исследования зарубежных ученых показали, что инокуляция семян сельскохозяйственных культур ризобактериями рода *Azospirillum* значительно смягчают негативный эффект засоления [10,11,12,13].

В сильнозасоленных почвах с высоким содержанием «рН» щелочной эффект являлся основным препятствием для развития азотфиксирующих, нитрифицирующих, целлюлозаразлагающих бактерий. В этих почвах групповой состав микроорганизмов оказался весьма бедный, и глубина проникновения в почву была очень незначительна. В щелочных засоленных почвах количество грибов тоже значительно снижается [1]. Такие же данные получены и в работах [2,3,4,5,8,9]. Поэтому, изучение влияния степени и типов засоления на агрохимические и микробиологические свойства почв является актуальным.

Материалы и методы. В Бухарской области отбирали почвы, различающиеся по степени засоления: незасоленная, слабо, средне и сильнозасоленная. Были сделаны почвенные разрезы и взяты почвенные образцы по генетическим горизонтам. В этих почвенных образцах определяли общее содержание водорастворимых солей, количество катионов и анионов в водной вытяжке по общепринятым методикам. Содержание гумуса определяли по Тюрину, аммонийного азота – с реактивом Несслера на ФЭЖе, нитратного азота – по методу Грандвальд-Ляжу, подвижного фосфора – по Мачигину, обменного калия – по Протасову, реакции почвенной среды – потенциометрически на рН-метре.

Количество бактерий и аммонификаторов – на мясопептонном агаре (МПА) в 5 разведениях водной суспензии почвы, грибов – на среде Чапека в 4 разведениях водной суспензии почвы, актиномицетов – на крахмально-аммиачном агаре (КАА) в 5 разведениях. Из физиологических групп микроорганизмов изучали количество азотфиксаторов на среде Эшби (5 разведений), нитрификаторов на пластинках Виноградского (4 разведения), нитратредуциентов на среде Гильтая (5-6 разведений).

Анализ результатов. Исследование показывает, что степени и типы засоления оказывают большое действие на количество и активность микроорганизмов и их таксономических и физиологических групп, что сильно влияет на образование питательных веществ и формирование агрохимических свойств (таблица). Вместе с тем, высокое содержание водорастворимых солей в почве само по себе оказывает влияние на агрохимические свойства почвы, в основном на реакцию среды. Высокое содержание натрия в почвенном растворе и почвенно-поглощающем комплексе (ППК) увеличивает значение рН и обуславливает щелочность почвы. При этом сильно увеличивается растворимость гумусовых веществ, что приводит к их вымыванию и быстрому разложению. Это особенно сильно проявляется, когда в почве увеличивается содержание иона карбоната. Ион карбоната как анион слабой кислоты увеличивает щелочность среды при гидролизе его натриевой соли. Высокое содержание ионов хлорида и сульфатов не оказывает влияния на реакцию среды (рН), так как эти ионы химически не гидролизуются в почве. Но их высокое содержание отрицательно действует на жизнедеятельность микроорганизмов и физические свойства почвы (таблица). Токсическое действие хлора на живые организмы проявляется и на жизнедеятельности микроорганизмов. При высоком содержании хлора сильно уменьшается количество нитратов и нарушается в почве соотношение аммония к нитратам. В почве увеличивается относительное содержание аммонийного азота по сравнению с нитратным, что увеличивает токсическое действие почвы по отношению к микроорганизмам и в особых случаях к растениям. Увеличение содержания сульфатов приводит к образованию гипса и гипсоносных почв. Гипс сильно ухудшает физические свойства почвы, условия для микроорганизмов и растений.

С увеличением в почве содержания водорастворимых солей ухудшаются микробиологические процессы гумусообразования, о чем свидетельствует низкое содержание гумуса в сильнозасоленной луговой почве по сравнению с незасоленными и слабозасоленными луговыми почвами (таблица). В средnezасоленных почвах содержание гумуса было тоже невысокое. Эти закономерности наблюдаются и в пахотном, и подпахотном слоях почвы.

В ряду незасоленных→слабо→средне→сильнозасоленных почв количество бактерий, грибов, актиномицетов, азотфиксаторов, нитрификаторов, нитратредуциентов, целлюлозаразлагающих бактерий и бактерий, растущих на минеральном азоте слева направо, т.е. в сторону повышения содержания водорастворимых солей уменьшалось. Вместе с тем снижается активность процессов, при которых участвуют эти микроорганизмы, что обуславливает особое формирование агрохимических свойств каждой почвы, различающихся по степени и типу засоления.

С увеличением засоленности уменьшается содержание и аммонийного и нитратного азота (таблица). Но при этом уменьшение содержания нитратного азота преобладает над уменьшением

аммонийного, что сильно нарушает соотношение этих форм азота в почве по сравнению с незасоленными почвами.

Как процесс гумусообразования, так и процессы аммонификации и нитрификации, при которых образуются ионы аммония и нитраты соответственно, сильно зависят от активности микроорганизмов, участвующих в этих процессах. А водорастворимые соли почвы сильно влияют на количество и активность этих микроорганизмов. Засоленность почвы сильно влияет и на содержание подвижного фосфора. В незасоленных и слабозасоленных луговых почвах Бухарской области содержание подвижного фосфора было выше, чем в средние и сильнозасоленных почвах (таблица).

Степени засоления	горизант, см	Количество микроорганизмов						Агрохимические свойства				
		Бактерии, млн/г почвы	Грибы, тыс/г почвы	Актиномицеты, млн/г почвы	нитрификаторы, тыс/г почвы	нитратредуценты, млн/г почвы	азотфиксаторы, млн/г почвы	Гумус, %	N-NH ₄ , мг/кг	N-NO ₃ , мг/кг	P ₂ O ₅ , мг/кг	K ₂ O, мг/кг
Незасоленная лугово-аллювиальная почва	0-30	28,5	45,2	12,8	75	25,5	31,5	1,12	22,5	24,4	18,8	230
	30-70	12,4	28,5	8,5	42	14,5	20,8	0,96	18,8	20,5	16,5	220
	70-100	7,8	3,5	2,5	7	8,8	10,5	0,78	14,3	16,6	13,2	200
Слабозасоленная лугово-аллювиальная почва	0-30	23,5	38,3	10,7	67	20,6	23,3	0,98	18,3	17,8	15,2	200
	30-70	10,1	24,6	7,3	38	12,5	14,5	0,85	16,0	15,7	13,5	200
	70-100	6,4	3,3	1,4	5	7,0	8,2	0,67	11,5	10,7	11,1	180
Среднезасоленная	0-30	13,4	22,5	5,8	38	15,1	14,7	0,82	12,5	8,6	14,5	180
	30-70	7,6	17,5	2,6	24	9,5	9,5	0,73	8,7	6,5	12,0	160
	70-100	5,1	2,3	0,78	3	5,8	6,0	0,59	5,2	4,8	9,4	140
Сильнозасоленная	0-30	9,8	14,5	3,6	21	9,5	9,4	0,78	10,3	8,2	10,3	170
	30-70	5,6	8,7	1,2	9	6,3	6,8	0,63	8,0	7,1	8,4	150
	70-100	2,5	1,6	0,63	0,83	3,1	3,2	0,50	4,6	4,0	6,5	120

Это говорит о том, что засоление влияет на образование и содержание подвижного фосфора. Однако, при повышенном содержании катиона натрия, например солонцеватых почвах или солонцах увеличивается содержание подвижного фосфора. Катион натрия повышает подвижность фосфатов, что увеличивает доступный фосфор для растений (таблица). В гипсовых почвах содержание сульфатов, а также реакции среды (рН) почвы. При интенсивном протекании процесса нитрификации и образования сульфатов значение рН снижается, т.е. изменяется в сторону кислотности, что увеличивает растворимость фосфатов и повышает содержание подвижного фосфора. В естественных условиях, т.е. в целинных почвах, это зависит от времени года, температуры почвы и воздуха, влажности почвы и количества осадков, засоленности и солевого состава, механического состава почвы. При легком механическом составе и условии незасоленных почв процессы нитрификации и образования сульфатов протекают более быстро по сравнению с засоленными и более тяжелому механическому составу почвы. Так как, более объемное наличие кислорода (воздуха) и содержание водорастворимых солей в пределах нормы, особенно токсических солей, способствует нормальному протеканию процессов нитрификации и образования сульфатов. При плохой аэрации почвы и высоком содержании водорастворимых солей, особенно токсических, угнетается жизнедеятельность нитрификаторов и микроорганизмов, участвующих в процессах окисления, серосодержащих соединений в почве до сульфатов. Это приводит к уменьшению содержания нитратов и подвижного фосфора в почве, что наблюдается в засоленных почвах.

Содержание обменного калия больше зависит от механического и минералогического состава почвы, чем от засоленности почвы.

Высокое содержание карбонатов способствует ощелачиванию почвы, что влияет на питательный режим и агрохимические свойства почвы. В щелочной среде за счет чисто химических про-

цессов усиливается потеря аммиака путем улетучивания в виде газообразного вещества – аммиака, что наблюдается в сильнозасоленных почвах, особенно карбонатами. Все это должно учитываться при возделывании сельскохозяйственных культур и применении азотных удобрений. Увеличение значения рН, т.е. ощелачивание почвы, снижает подвижность большинства микроэлементов, таких как железа, марганца, бора, цинка, меди и других. Поэтому снижение значения рН в сторону кислотности увеличивает содержание подвижных форм микроэлементов и фосфатов, что улучшает питательный режим засоленных луговых почв Бухарской области. При этом повышается количество таксономических физиологических групп и активность процессов, при которых участвуют эти группы микроорганизмов. При очень высоком значении рН (10 и более) останавливается жизнедеятельность уробактерии, которые обуславливают уреазной активности почвы, при котором мочевины превращается в аммоний, который сильно теряется, при высоком значении рН. Это отрицательно действует на процессы аммонификации. При таких условиях применение карбамида, искусственного аналога мочевины, не дает нужного эффекта, так как карбамид в почве с помощью уробактерий и их фермента уреазы должен превращаться в аммоний прежде, чем их растения будут использовать.

Заключение. Засоленность почвы сильно влияет на формирование ее агрохимических и микробиологических свойств. На агрохимические и микробиологические свойства почвы влияет не только степени, но и виды засоления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиева М.Л. Микромицеты в щелочных засоленных почвах // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М., 2006. -24с.
2. Ибатуллина И.З. Биологическая активность и восстановление засоленных почв при нефтяном загрязнении // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М., 2012. -24с.
3. Ибатуллина И.З., Семенова Т.А., Виноградова Ю.А., Кураков А.В., Яковлев А.С. Влияние биопрепаратов на микобиоту нефтезагрязненных засоленных лугово-каштановых почв // Микология и фитопатология, 2011, том 45, вып.6. –с.40-48
4. Меньяло О.В. Особенности процесса денитрификации в засоленных почвах // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М., 1996. -24с.
5. Морозкина Е.В. Влияние факторов стресса на свойства нитратредуктаз микроорганизмов // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М., 2005. -24с.
6. Муродова С.С. Микробиологическая активность почвы в условиях засоления // «Агросаноат мажмуи тармоклариди инновацион фаолият самарадорлигини ошириш муаммолари» университетлараро ёш олимлар илмий-амалий конференцияси материаллари. Тошкент, 2012.
7. Рахимова Э. Р. Биологическая активность нефтезагрязненной почвы при засолении / Э. Р. Рахимова // Почвоведение. – 2005. - №4. – С. 481-485;
8. Саданов А.К. Микробиологические процессы в засоленных почвах Акдалинского массива орошения при внесении мелиорантов // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Алма-Ата, 1984.
9. Стрелкова В.И. Влияние переувлажнения и засоления на биологические свойства почв Юга России // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Ростов-на-Дону, 2006. -24с.
10. Barassi C.A., Ayrault G., Creus C.M., Sueldo R.J., Sobrero M.T. Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce // *Scientia Horticulturae* – 2006.Vol.109.–P.8-14
11. Ayrault G. Seed germinability and plant establishment of *Lactuca sativa* and *Daucus carota* inoculated with *Azospirillum* and exposed to salt stress // MSc Thesis, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mar del Plata, Argentina.- 2002.–90p
12. Hamaoui B., Abbadi J.M., Burdman S., Rashid A., Sarig S., Okon Y. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions // *Agronomie* – 2001. Vol.21.–P.553-560

13. Creus C.M., Sueldo R.J., Barassi C.A. Shoot growth and water status in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses // *Plant Physiology and Biochemistry* – 1997. Vol. 35. – P. 939-944

Самаркандский ветеринарный мед. институт

Дата поступления
04.03.2019

МУНДАРИЖА

Аширов О.Н., Сасмаков С.А., Абдурахманов Ж.М., Хасанов Ш.Ш., Махнев А.А., Эшбоев Ф.Б., Юсупова Э.Г., Азимова Ш.С.	
GS115 <i>Pichia pastoris</i> ачитқисида одам гепатит В вируси (HBV) S регионини кодловчи рPIC3.5-S ва рPIC9-S рекомбинант плазмидаларини клонлаш	3
Тоштемирова Г.А., Курбанназарова Р.Ш., Рустамова С.И., Циферова Н.А., Мерзляк П.Г., Сабиров Р.З.	
Каламуш тимоцитлари пролиферациясига ҳажмга боғлиқ анион канали блоклянишининг таъсири	7
Гайилов У.Г., Гайилова С.Н., Выпова Н.Л., Изотова Л.Ю. Тураходжаев М., Арипов Т.Ф.	
<i>Fructus rosae</i> , <i>Crataegi fructus</i> ва <i>Herba leonuri</i> экстрактларининг антирадикал ва фармако-токсикологик фаолликларини скрининги	11
Арипов У.Х., Омонов М.И.	
Турли рангдаги Қоракул қўйларининг хромосомаларини цитогенетик хусусиятлари	16
Файзиев В.Б., Жавлиева Д.Т., Жураева У.М., Кадирова З.Н. Вахабов А.Х.	
KXV ни ажратиш, тозалаш ва иммуннокимёвий хусусиятларини аниқлаш	19
Кадирова З.А., Махкамов С.А.	
Сабзавот консерва маҳсулотларининг аспороген ачитқилари микрофлораси	25
Никитина Е.В., Халбекова Х.У., Каримов Ф.И., Пулатов С.О.	
Ўсимликлар филогениясини тадбиқ этишда молекуляр маркерлардан фойдаланиш	29
Хамраева Д.Т.	
Ноёб ва эндем <i>Komarovia anisosperma</i> турининг морфо-анатомик хусусиятлари	34
Алимжанова Х.А., Ражабова М.С.	
Оқдарё сув омборининг Basillariophyta сув ўтлари	38
Мирабдуллаев И.М., Сапаров А.Д.	
Ротиферлар (Rotifera) систематика ва филогенияси	43
Кожевникова А. Г.	
Ўзбекистон шароитида дон экинларининг цикадалари	46
Бобохужаев Ш.У., Санамьян М.Ф.	
<i>G.Hirsutum</i> L. турининг aneuploid liniyalarini <i>G.Barbadense</i> L. турининг Pima 3-79 линияси билан чатиштириб олинган F ₁ aneuploid дурагайлариининг биоморфологик тахлили	51
Хотамов М.М., <u>Авазходжаев М.Х.</u>	
Rostbisol препаратини бугдойнинг кора куя касаллигига таъсири.....	54
Ортиков Т.К., Артикова Х.Т., Умаров О.Р., Бафоева З.Х.	
Бухоро вилояти ўтли тупроқларининг агрокимёвий ва микробиологик шўрланиш даражасига боғлиқлиги.	57

ОГЛАВЛЕНИЕ

Аширов О.Н., Сасмаков С.А., Абдурахманов Ж.М., Хасанов Ш.Ш., Махнев А.А., Эшбоев Ф.Б., Юсупова Э.Г., Азимова Ш.С.	
Клонирование рекомбинантных плазмид pPIC3.5-S и pPIC9-S, кодирующие S регион вируса гепатита В человека (HBV) в GS115 <i>Pichia pastoris</i>	3
Тоштемирова Г.А., Курбанназарова Р.Ш., Рустамова С.И., Циферова Н.А., Мерзляк П.Г., Сабилов Р.З.	
Эффект блокирования объем-зависимого анионного канала на пролиферацию тимоцитов крыс	7
Гайилов У.Г., Гайилова С.Н., Выпова Н.Л., Изотова Л.Ю., Тураходжаев М., Арипов Т.Ф.	
Скрининг антирадикальной и фармако-токсикологической активностей экстрактов <i>Fructus rosae</i> , <i>Crataegi fructus</i> и <i>Herba leonuri</i>	11
Арипов У.Х., Омонов М.И.	
Цитогенетические особенности хромосом каракульских овец разных окрасок	16
Файзилов В.Б., Жавлиева Д.Т., Жураева У.М., Кадилова З.Н. Вахабов А.Х.	
Выделение, очистка и изучение иммунохимических характеристик ХВК	19
Кадилова З.А., Махкамов С.А.	
Классификация аспорогенных дрожжей овощных консервных продуктов	25
Никитина Е.В., Халбекова Х.У., Каримов Ф.И., Пулатов С.О.	
Использование молекулярных маркеров в изучении филогении растений.....	29
Хамраева Д.Т.	
Морфо-анатомические особенности редкого и эндемичного вида <i>Komarovia anisosperma</i> ...	34
Алимжанова Х.А., Ражабова М.С.	
Весенние фитопланктоны Bacillariophyta Акдарьинского водохранилища	38
Мирабдуллаев И.М., Сапаров А.Д.	
Систематика и филогения коловраток (Rotifera)	43
Кожевникова А.Г.	
Цикадовые злаковых культур Узбекистана	46
Бобохужаев Ш.У., Санамьян М.Ф.	
Биоморфологический анализ анеуплоидных гибридов F ₁ , полученных от скрещиваний анеуплоидных линий вида <i>G.Hirsutum</i> L. с линией Pima 3-79 вида <i>G.Barbadense</i> L.....	51
Хотамов М.М., <u>Авазходжаев М.Х.</u>	
Изучение иммуностимулирующей активности препарата Ростбисол при заражении твердой головней пшеницы.....	54
Ортиков Т.К., Артикова Х.Т., Умаров О.Р., Бафоева З.Х.	
Изменение агрохимических и микробиологических показателей луговых почв Бухарской области в зависимости от степени засоления.....	57

CONTENTS

Ashirov O.N., Sasmakov S.A., Abdurakhmanov J.M., Khasanov Sh.Sh., Makhnev A.A., Eshboev F.B., Yusupova E.G., Azimova Sh.S.	
Cloning of recombinant plasmids pPIC3.5-S and pPIC9-S encoding the S region of the human hepatitis B virus (HBV) in GS115 <i>Pichia pastoris</i>	3
Toshtemirova G.A., Kurbannazarova R.Sh., Rustamova S.I., Tsiferova N.A., Merzlyak P.G., Sabirov R.Z.	
Effect of blockage of the volume-sensitive anion channel on the proliferation of rat thymocytes ...	7
Gayibov U.G., Gayibova S.N., Vypova N.L., Izotova L.Yu., Turahodjaev M., Aripov T.F.	
Screening of the antiradical and pharmacotoxicological activities of <i>Fructus rosae</i> , <i>Crataegi fructus</i> and <i>Herba leonuri</i> extracts	11
Aripov U.X., Omonov M.I.	
Cytogenetic analysis of chromosomes of Karakul sheep of different colors	16
Fayiev V.B., Javlieva D.T., Juraeva U.M., Kadirova Z.N., Vakhobov A.X.	
Explanation of X viruses, immunochemical cleaning and study of the characteristics	19
Kadirova Z.A., Maxkamov S.A.	
Classification of Asporogenous yeast of canned food products	25
Nikitina E.V., Khalbekova Kh.U., Karimov F.I., Pulatov S.O.	
Uses of molecular markers in the phylogenetic studies of plant	29
Khamraeva D.T.	
Morpho-anatomical characteristics of rare and endemic species <i>Komarovia anisosperma</i>	34
Alimzhanova Kh.A., Razhabova M.S.	
Spring phytoplanktons Bacillariophyta Akdarya reservoir	38
Mirabdullayev I.M., Saparov A.D.	
Systematics and phylogeny of Rotifers (Rotifera)	43
Kojevnikova A.G.	
Cicadas are grain crop plant pests of Uzbekistan	46
Bobokhujayev Sh.U., Sanamyan M.F.	
Biomorphological analysis of aneuploid F ₁ hybrides obtained from crosses of aneuploid lines of <i>G.Hirsutum</i> L. line with Pima 3-79 line of <i>G.Barbadense</i> L.	51
Khotamov M.M., Avazkhodjaev M.Kh.	
Studying the immune multi-activating activity of Rostbisol drugs at infection of solid head wheat	54
Ortikov T.K., Artikova H.T., Umarov O.R., Bafoeva Z.X.	
Change of agrochemical and microbiological indicators of meadow soils of the Bukhara region depending on the degree of salination	57