

СОЗДАНИЕ СКОРОСПЕЛЫХ, ВИЛТОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА ИММУНОХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Оразбайева Гулмира Эгамбергеновна

доктор философии по сельскохозяйственным наукам, старший научный сотрудник.
Научно-исследовательский институт селекции, семеноводства и агротехнологии
выращивания хлопка

E-mail: ahmedova10071977@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6794-6058>

Бабаев Яшин Аманович

доктор сельскохозяйственных наук, профессор. Научно-исследовательский
институт селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка

E-mail: yashin.babayev@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5527-5480>

Ходжиматов Ҳабибулла Абдуллажанович

соискатель. Научно-исследовательский институт селекции, семеноводства и
агротехнологии выращивания хлопка, Наманганская научно-опытная станция

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-8823-6728>

<https://doi.org/10.5281/zenodo.19060725>

Аннотация: В статье изучены степень устойчивости к вилту при инокуляции растений более вирулентными штаммами грибов вертициллиума и фузариума у родительских форм, гибридов F2 и беккросс-гибридов F2B4, а также фоновые морфохозяйственные, физиолого-биохимические и молекулярные тесты для оценки генотипической вилтоустойчивости. Определены ингибиторы протеиназ у родительских форм и гибридов F2, проведены иммунохимические анализы для выявления родства родительских форм и гибридов и их взаимосвязи с устойчивостью к вилту. В исследованиях изучены коллекционные сортообразцы зарубежной и отечественной селекции, а также дикие и рудеральные формы по вилтоустойчивости при инокуляции растения-хозяина более вирулентными штаммами гриба вертициллиума.

Ключевые слова: хлопчатник, сорт, линия, гибрид, вилт, устойчивость, скороспелость, урожайность, иммунохимия, инокуляция, маслячность.

CREATION OF EARLY, WILT-RESISTANT COTTON VARIETIES BY AN IMMUNOCHEMICAL METHOD

Orazbayeva Gulmira Egambergenovna

Doctor of Philosophy in Agricultural Sciences, Senior Researcher. Research Institute of
Cotton Breeding, Seed Production and Agrotechnologies of Cultivation

E-mail: ahmedova10071977@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6794-6058>

Babayev Yashin Amanovich

Doctor of Agricultural Sciences, Professor. Research Institute of Cotton Breeding, Seed
Production and Agrotechnologies of Cultivation

E-mail: yashin.babayev@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5527-5480>

Khodjimatov Habibulla Abdullajanovich

Applicant. Research Institute of Cotton Breeding, Seed Production and Agrotechnologies of Cultivation, Namangan Scientific Experimental Station

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-8823-6728>

Abstract: The article examines the degree of wilt resistance when plants are inoculated with more virulent strains of *Verticillium* and *Fusarium* in parental forms, F2 hybrids, and F2B4 backcross hybrids, as well as background morphological, agronomic, physiological, biochemical, and molecular tests used to assess genotypic wilt resistance. Proteinase inhibitors were identified in parental forms and F2 hybrids, and immunochemical analyses were carried out to determine the relatedness of parental forms and hybrids and their relationship with wilt resistance. The study investigated foreign and domestic collection samples, as well as wild and ruderal forms, for wilt resistance under inoculation with more virulent strains of the *Verticillium* fungus.

Keywords: cotton, variety, line, hybrid, wilt, resistance, early maturity, yield, immunochemistry, inoculation, oil content.

**ИММУНОКИМЁВИЙ УСУЛДА ТЕЗПИШАР, ВИЛТГА БАРДОШЛИ ҒЎЗА
НАВЛАРИНИ ЯРАТИШ**

Оразбайева Гулмира Эгамбергеновна

қишлоқ хўжалиги фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD), катта илмий ходим.
Пахта селекцияси, уруғчилиги ва етиштириш агротехнологиялари илмий-тадқиқот
институти

E-mail: ahmedova10071977@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6794-6058>

Бабаев Яшин Аманович

қишлоқ хўжалиги фанлари доктори, профессор. Пахта селекцияси, уруғчилиги ва
етиштириш агротехнологиялари илмий-тадқиқот институти

E-mail: yashin.babayev@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5527-5480>

Ходжиматов Ҳабибулла Абдуллажанович

изланувчи. Пахта селекцияси, уруғчилиги ва етиштириш агротехнологиялари
илмий-тадқиқот институти, Наманган илмий-тажриба станцияси

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-8823-6728>

Аннотация: Мақолада ота-она шакллари, F2 гибридлар ва F2B4 беккросс гибридларда ўсимликни вертициллиум ва фузариум замбуруғларининг юқори вирулент штаммлари билан инокуляция қилиш шароитида вилтга бардошлилик даражаси, шунингдек, генотипик вилтбардошликни баҳолаш учун морфоҳўжалик, физиологик-биокимёвий ва молекуляр тестлар ўрганилди. Ота-она шакллари ва F2 гибридларда протеиназа ингибиторлари аниқланиб, уларнинг ўзаро қариндошлиги ҳамда вилтга бардошлилик билан боғлиқлиги иммунокимёвий таҳлиллар асосида баҳоланди. Тадқиқотларда маҳаллий ва хорижий коллекцион нав намуналари, шунингдек ёввойи ва рудерал шакллар вертициллиум замбуруғининг юқори вирулент штаммлари таъсирида вилтбардошлик бўйича таҳлил қилинди.

Калит сўзлар: ғўза, нав, линия, гибрид, вилт, бардошлилик, тезпишарлик, ҳосилдорлик, иммунокимё, инокуляция, мойдорлик.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что продуктивность растений зависит от их способности к быстрому ответу и приспособлению к действию стресса. Белки, синтезируемые высшими растениями в ответ на стрессовые воздействия, достаточно детально охарактеризованы. Стрессовые белки синтезируются в количестве до 2 % от белков, образующихся в нормальных условиях, причем их синтез носит временный характер. Обычно он происходит в течение нескольких часов от момента стресса и чаще всего в две фазы: синтез так называемых ранних и поздних белков. Выявлении биохимических тестов-ингибиторов протеиназ и проведении иммунохимических анализов, а также изучение генетической природы по вилтоустойчивости сортов, линий и гибридов хлопчатника при инокуляции растений-хозяина более вирулентными штаммами (расами) гриба *Verticillium dahliae* Kleb, устойчивость к черной корневой гнили и гаммозу, и на их основе разработать методику создания новых высокопродуктивных, скороспелых (с вегетационным периодом 95-115 дней), с комплексной устойчивостью к вилту, к черной корневой гнили и гаммозу сорта с высоким выходом 38-42% и с качеством волокна IV-V типа, которым не будет аналогов в отечественной и зарубежной селекции, что является очень актуальной проблемой в теоретическом и практическом плане.

Создание новых сортов сочетающих хозяйственно полезные качества нескольких видов хлопчатника, является одной из актуальных задач современной селекции. Использование нами впервые ингибиторного анализа и иммунохимической диагностики, а также современных методов селекционных исследований позволит на практике сократить на 3-5 лет сроки создания новых урожайных сортов хлопчатника. Впервые были усовершенствованы методы создания новых сортов и линий хлопчатника за счет оптимизации морфохозяйственных и физиолого-биохимических признаков, а также на основе изучения генетической природы вилтоустойчивости у диких видов, рудеральных форм, сортов, линий, гибридов и беккросс-гибридов хлопчатника на естественном инфекционном вилтовом фоне, где преобладают различные вирулентные популяции гриба вертициллиум, а также при инокуляции растения-хозяина более вирулентными изолятами гриба *Verticillium dahliae* Kleb, выделенных из сильно пораженных растений у возделываемых сортов в разных почвенно-климатических регионах Республики Узбекистан [1, 88-с.].

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Ким Р.Г., Амантурдиев А.Б., Марупов А. и др. отмечают что линия-162 имеет высокую восприимчивость к изолятам 3 и 10 как при визуальной оценке, так и по срезу стебля, но обладает высокой вилтоустойчивостью к изоляту 20. Различие между оценками по степени проявлении болезни у растений при заражении изучаемыми изолятами варьирует от 0 до 40%. Толерантные свойства растений наблюдается при инокуляции изолятами 15, 17 и 30. Разница между оценками составило 30-40% [3, 250-253-с.].

Хашимова Н.Р. сообщает, что маркерным ферментом, определяющим развитие защитных реакций в хлопчатнике, является связанная с клеточной стенкой анионная пероксидаза, проявляющая специфичность по отношению к хитину гриба. Выделены две гомогенные анионные хитин-специфичные пероксидазы хлопчатника с изоточками $pI \sim 3,5$ и $pI \sim 3,9$ и молекулярной массой 93,5 к Да и 85 к Да, определены К ти их субстратная специфичность, имеющие важное значение при разработке эффективного метода оценки устойчивости хлопчатника к вилту [4, 56-с.].

Мавлонов Г.Т., Шерматов Ш.Э. сообщают, что масло из семян хлопчатника в качестве заменителя этилацетат, ацетон или бутанол – подобных растворителей при выделении и очистке гидрофобных веществ для фармацевтических целей и в качестве биологически активных добавок. Масло семян хлопчатника может быть применено в качестве биосовместимого растворителя в биотехнологических процессах по выделению и очистке биологически активных веществ [5, 162-164-с.].

Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Махкамова М.П., Гулямова Т.Г. отмечают, что сравнение результатов культивирования на питательных средах различного состава показало, что наибольшая ингибиторная активность экстрактов проявляется на солодово-дрожжевой среде у всех исследованных штаммах. При этом ингибиторная активность на уровне 74% обнаружена у 182 экстракта *Aspergillus terreus*-AF104S при стационарном культивировании, у экстрактов *Aspergillus egypticus*-HT166S и *Amaranthus caudatus*-200 на уровне 62-58% и 93-95% соответственно, как при стационарном, так и периодическом выращивании. Необходимо отметить, что ингибиторная активность экстракта *Amaranthus caudatus*-200 превышает активность акарбозы, составившая 87%. Полученные данные свидетельствуют о том, что правильный подбор состава среды и типа культивирования может способствовать повышению биоактивности вторичных метаболитов эндофитов, в частности, ингибирование панкреатической α -амилазы [6, 181-182-с.].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Среди этих белков одно из первых мест принадлежит ингибиторам протеолитических ферментов. 2. Однако экономически выгоднее решать проблему защиты растений не химическим методом а созданием устойчивых сортов хлопчатника к болезням и вредителям на основе иммунохимического теста. 3. Ингибиторы протеиназ выделяли и очищали из контрольных районированных сортов Омад, С-8296, Бухара-10, С-8297, которые использовали в качестве антигена во время иммунизации животных (кроликов). 4. Была получена сыворотка (ки) с титром 1/64. Результаты иммунохимического анализа, который основан на использовании сыворотки-биологического теста позволит нам точно определить степень иммунохимического родства исследуемых нами линий (сортов) к контрольным сортам. Скрининг исследуемых нами линий хлопчатника иммунохимическим методом мы планируем провести далее по плану. Необходимо отметить, что вышеуказанные сорта Омад, С-8296, Бухара-10, С-8297 были взяты как контрольные т.к они являются косвенными или прямыми родителями изучаемых линий. Наиболее точно генетическую структуру селекционных линий и сортов хлопчатника отражают белковые маркеры исследованием которых мы занимаемся. Впервые нами произведен поиск генетически закрепленных форм хлопчатника с высоким содержанием белков-ингибиторов протеиназ, который будет способствовать выведению новых сортов хлопчатника с природными инсектицидными свойствами. В результате проведенных исследований по выделению и очистке белковых маркеров (ингибиторов протеиназ) на 11 гибридных комбинациях у гибридов F₂, с целью идентификации высокоингибиторных гибридов.

Таблица 1. Гибридные комбинации, использованные в ингибиторном анализе

№	Гибридные комбинации
1.	Л-526 х Бухара-10
2.	Л-888 х Бухара-10
3.	Л-717 х Бухара-10

4.	Л-2014 x C-8296
5.	Л-2017 x C-8296
6.	Л-2021 x C-8296
7.	Л-1435 x C-8297
8.	Л-2027 x C-8297
9.	F ₂ (F ₄ Гулистан x Омад) x C-8296
10.	F ₂ (F ₄ F ₃ (C-8292 x Гулистан) x Гулистан) x C-8296
11.	F ₂ (F ₄ F ₃ (C-8290 x Гулистан) x Гулистан) x C-8296

Идентификацию проводили используя ингибиторный анализ гибридных комбинаций. Нами была проведена работа по определению активности ингибиторов протеиназ не только в вышеприведенных районированных сортах (рис 1), но и у рудеральных и диких форм хлопчатника (рис 2) 02672 *G.hirsutum punctatum*, 05152 *G.hirsutum punctatum*, 02800 *G.hirsutum purpuracus*, 06422 *G.hirsutum mexicanum*.

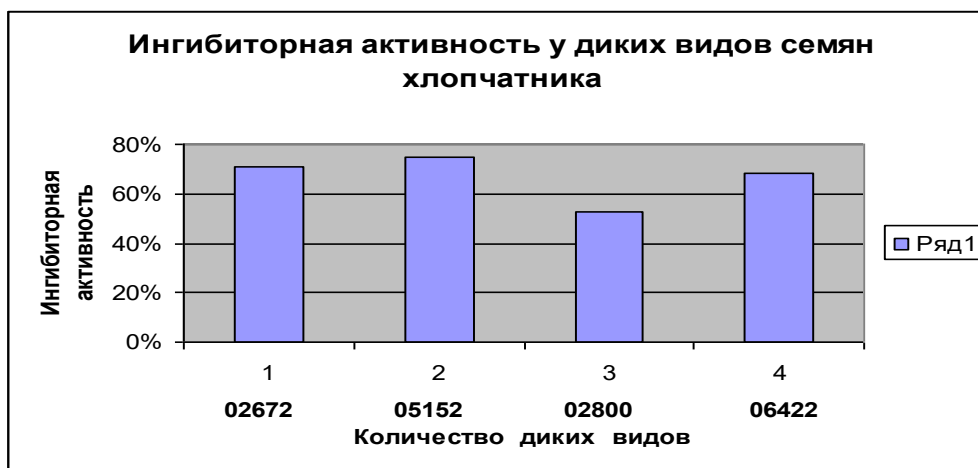


Рисунок-1. Ингибиторная активность у диких видов семян хлопчатника.
1. Punctatum-02672, 2. Punctatum-05152, 3. Purpurasens-02800, 4. Mexicanum-06422



Рисунок-2. Ингибиторная активность у семян районированных сортов хлопчатника

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ингибиторная активность у изучаемых линий Л-2014, Л-2017, Л-888, Л-2027, Л-2021 была более 90%. Именно эти высокоингибиторные линии отличаются хорошими морфохозяйственными признаками, которые имеют селекционную ценность (по скороспелости, урожайности, выходу и длине волокна и т.д.). Кроме того, эти идентифицированные высокоингибиторные линии были устойчивы к вилту, к корневой гнили и к гаммозу. Результаты по содержанию масла в семенах, ингибиторная активность и степень вилтоустойчивости родительских форм и гибридов F₂ при инокуляции растения-хозяина новыми вирулентными изолятами (штаммами) гриба вертициллиум. Из данных таблицы видно, что масличность семян в шести гибридных комбинациях наследуется промежуточно, в двух комбинациях наблюдается доминирование в сторону сорта С-8297.

Это в комбинациях Л-1435 x С-8297 и Л-2027 x С-8297, а в остальных случаях получена сверхдоминирование в сторону худшего родителя за исключением гибридных комбинаций Л-888 x Бухара-10 и Л-717 x Бухара-10, где наблюдается сверхдоминирование в сторону лучшего родителя у которых масличность семян равняется 19,6% и 20,7%, соответственно, а у гибридов она варьирует от 13,7% до 20,7%.

Ингибиторная активность у изучаемых гибридов F₂ равняется от 68% до 91%. Наибольшую ингибиторную активность имеют гибридные комбинации Л-526 x Бухара-10, Л-717 x Бухара-10 (85%), Л-888 x Бухара-10 (83%) и F₂(F₄Гулистан x Омад) x С-8296 (75%), а в остальных гибридных комбинациях она варьировала от 40% до 45%. Следует отметить, что наблюдается некоторая

Таблица 2. Физиолого-биохимические показатели и степень вилтоустойчивости родительских форм и гибридов F₂ при инокуляции растения-хозяина новыми вирулентными изолятами (штаммами) гриба вертициллиум

№	Сорта и гибридная комбинация	Масличность семян, %		Ингибиторная активность, %	Степень вилтоустойчивость растений при инокуляции, по срезу стебля, %			
		Всего в %	hp		в слаб. ст.	в сред. ст.	в сил. ст.	Всего
1.	С-8296	20,4		81,0	-	33,3	13,3	46,6
2.	Л-2014 x С-8296	13,7	-2,5	84,0	13,3	40,0	20,0	73,3
3.	Л-2017 x С-8296	17,9	-11,5	85,0	-	36,7	30,0	66,7
4.	С-8297	16,7		68,0	13,3	40,0	33,3	86,6
5.	Л-2014	20,0		91,0	3,3	26,6	10,0	39,9
6.	Л-2017	18,4		88,0	13,3	20,0	16,7	50,0
7.	Л-1435 x С-8297	16,7	-0,8	70,0	30,0	26,7	23,3	80,0
8.	Л-1435	19,1	-0,1	74,0	-	33,3	43,3	76,6
9.	Л-717	17,9		83,0	30,0	10,0	6,7	46,7
10	Л-526	18,2	1,5	72,0	40,0	30,0	10,0	80,0

1 1	Л-526 x Бухара-10	19,3	0,3	85,0	33,3	23,3	-	56,6
1 2	Л-2027	19,7		88,0	13,3	20,0	16,7	50,0
1 3	Л-2027 x С-8297	16,7	1,0	80,0	23,3	40,0	-	63,3
1 4	Бухара-10	19,7	-0,5	78,0	30,0	40,0	-	70,0
1 5	Л-888	20,3		88,0	16,7	26,7	10,0	53,4
1 6	Л-888 x Бухара-10	19,6	0,6	83,0	33,3	30,0	-	63,3
1 7	Л-717 x Бухара-10	20,7	3,0	85,0	36,7	23,3	3,3	63,3
1 8	Л-2021	18,9		84,0	20,0	23,3	10,0	53,3
1 9	Л-2021 x С-8296	18,5	0,6	71,0	30,0	46,7	3,3	80,0
2 0	F ₂ (F ₄ Гулистан x Омад) x С-8296	17,9	-2,5	75,0	23,3	33,3	13,3	70,0
2 1	F ₂ (F ₄ F ₃ (С-8292 x Гулистан x Гулистан x С-8296	20,4		86,0	20,0	26,7	-	46,7
2 2	F ₂ (F ₄ F ₃ (С-8290 x Гулистан) x Гулистан x С-8296	18,2	-0,1	84,0	16,7	43,3	3,3	63,3

ОБСУЖДЕНИЕ

Тенденция между количественными содержанием масла в семенах и ингибиторной активностью, а также со степенью вилтоустойчивости родительских и изучаемых гибридов при инокуляции растений-хозяина новыми вирулентными изолятами (штаммами) гриба вертициллиум, т.е. чем больше

содержание масла в семенах, тем выше ингибиторная активность и выше степень вилтоустойчивости родительских форм и гибридов.

Следовательно ингибиторная активность является хорошим тестом для определения вилтоустойчивости гибридных растений, семей, линий и сортов хлопчатника. Аналогичные результаты получены и по другим изучаемым гибридным комбинациям. Поэтому этот метод позволит ускорить селекционный процесс в деле создания новых вилтоустойчивых, скороспелых и высокоурожайных сортов хлопчатника.

Таким образом на основе полученных результатов можно сказать;

- масличность семян у гибридов наследуется промежуточно, а также по типу доминирования и сверхдоминирования в сторону лучшего или худшего родителя;

- ингибиторная активность у изучаемых гибридов F₂ ниже, чем у родительских форм, но по росту и развитию изучаемые гибриды, в основном, превосходили родительские формы независимо от их ингибиторной активности;

- получена закономерная связь между количественным содержанием масла в семенах и ингибиторной активностью, т.е. чем больше содержание масла в семенах, тем выше ингибиторная активность.

Аналогичная закономерность получена и со степенью устойчивости к вилту при инокуляции растения-хозяина новыми вирулентными изолятами (штаммами) гриба вертициллиум.

Результаты иммунохимического анализа семян рудеральных и исконно-диких форм хлопчатника показывает, что эти формы имеют относительно высокую ингибиторную активность и высокую вилтоустойчивость.

Это говорит о том, что ингибиторная активность имеет прямую взаимосвязь с иммунитетом, с устойчивостью к вилту и сельхоз болезням.

ВЫВОДЫ

Следует отметить, что этот метод позволит ускорить селекционный процесс в деле создания новых скороспелых, вилтоустойчивых, высокопродуктивных сортов хлопчатника. Таким образом, результаты исследований дают возможность использования нового подхода в селекционных исследованиях, при котором в качестве маркеров по устойчивости растений могут служить ингибиторы протеиназ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ким Р.Г. «Определение идентичности сортов и линий хлопчатника методом биохимического теста». Материалы международной научно-практической конференции «Состояние селекции и семеноводства хлопчатника и перспективы ее развития». - Ташкент. 2006. - С. 88.
2. Ким Р.Г., Межлумян А., Марупов А., Бабаев Я.А., Оразбайева Г.Э., Ким М.Р. Иммунохимический метод создания скороспелых вилтоустойчивых сортов хлопчатника. Материалы III-го республиканского научно-практического семинара «Достижения и перспективы развития в области биоразнообразий и биотехнологий в Узбекистане. Тезисы докладов. - Ташкент, 2009. - С. 61-62.
3. Ким Р.Г., Амантурдиев А.Б., Марупов А., Бабаев Я.А., Ким М.Р. Вилтоустойчивость сортов и линий хлопчатника вида *G.Hirsutum* L. При инокуляции растения-хозяина различными вирулентными популяциями *V.Dahliae* kleb. Ғўзанинг дунёвий хилма-хиллиги генофонди-фундаментал ва амалий тадқиқотлар асоси халқаро илмий анжуман. - Тошкент. 2010. - Б.250-253.
4. Хашимова Н.Р. Механизм формирования устойчивости хлопчатника к фитопатогенам и пути ее регуляции на основе соединений природного происхождения. Автореф. дис.док. - Ташкент. 2016. - С.56.
5. 5. Мавлонов Г.Т., Шерматов Ш.Э. Перспективы применения масла из семян хлопчатника в качестве биологически совместимого растворителя. Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии. Республиканская научная конференция 18 мая 2016. - Ташкент. – С.162-164.
6. 6. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Махкамова М.П., Гулямова Т.Г. Влияние состава питательных сред на ингибиторную активность экстрактов эндофитных грибов против α -амилазы. Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии. Республиканская научная конференция 18 мая 2016. - Ташкент. – С.181-182.