

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ФАНЛАР АКАДЕМИЯСИ
АКАДЕМИК О.С.СОДИҚОВ НОМИДАГИ БИООРГАНИК КИМЁ
ИНСТИТУТИ**

Кўлёзма ҳуқуқида

УДК 577.15.632.7

ХОЛМУРАДОВ БАХТИЁР ҚАРШИБОВЕВИЧ

**ОЛМА ҚУРТИ (*LASPEYRESIA POMONELLA L.*) ВА МАККАЖЎХОРИ
ПАРВОНАСИ (*PYRAUSTA NUBILALIS Hb.*)НИНГ ЭСТЕРАЗА
ФЕРМЕНТЛАРИ ИНГИБИТОРЛАРИ ВА УЛАРНИНГ СИНЕРГЕТИК
ХУСУСИЯТЛАРИ**

02.00.10 –Биоорганик кимё

Биология фанлари номзоди илмий даражасини
олиш учун диссертация

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т И

Тошкент - 2011

Диссертация иши Ўзбекистон Республикаси Олий ва Ўрта Махсус таълим Вазирлиги Гулистон давлат университети ва Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академиясининг академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Илмий раҳбар: биология фанлари номзоди, доцент
Қўшиев Ҳабибжон Ҳожибобоевич

Расмий оппонентлар: биология фанлари доктори, профессор
Хамраев Алауддин Шамсиддинович
биология фанлари номзоди
Содиқов Эркин Саодатович

Етакчи ташкилот: Ўсимликларни ҳимоя қилиш илмий
текшириш институти

Диссертация ҳимояси 2011 йил “___” _____ куни соат___да
ЎзР ФА академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институти
қошидаги Д 015.21.01 рақамли Ихтисослашган Кенгаш мажлисида бўлиб
ўтади. Институт манзили: 100125, Тошкент шаҳри, Мирзо Улуғбек кўчаси,
83- уй. Тел.: (99871) 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63.

Диссертация иши билан ЎзР ФА академик О.С.Содиқов номидаги
Биоорганик кимё институти кутубхонасида танишиш мумкин.

Автореферат 2011 йил “___” _____да тарқатилди.

Ихтисослашган кенгаш илмий котиби
кимё фанлари номзоди

М.Б.Гафуров

ИШНИНГ УМУМИЙ ТАВСИФИ

Мавзунинг долзарблиги. Ҳашаротлар табиатда ҳайвонот дунёсининг энг кўп тарқалган вакилларидир. Уларнинг 1500 дан ортиқ турлари фанга маълум. Дунё бўйича қишлоқ хўжалиги ўсимликлари ҳосилдорлигининг 33%дан кўпроқ қисми зараркунанда ҳашаротларга кимёвий тарзда қарши кураш асосида сақланиб қолинади. Лекин зараркунанда ҳашаротларнинг уларга қарши қўлланиладиган препаратларга нисбатан мослашиб қолиши кимёвий препаратларнинг қўлланиш миқдорини оширилишига сабаб бўлмоқда. Бунинг оқибатида атроф муҳитнинг ифлосланиши ва иссиққонли ҳайвонларнинг заҳарланиши, фойдали турларнинг йўқолиш ҳолатлари кузатилмоқда.

Бугунги кунда буни олдини олиш билан боғлиқ ҳолда аниқ илмий ечимлар қабул қилиш Жаҳон молиявий инқирози оқибатларининг олдини олишга муҳим бир туртки бўла олади. Жаҳон молиявий инқирозининг олдини олишнинг асосий йўлларида бири ишлаб чиқаришнинг барқарорлигини таъминлаш ва уни ривожлантиришдан иборатдир. Бу республикаимиз Президенти И.А.Каримовнинг “Жаҳон молиявий инқирози. Ўзбекистон шароитида уни бартараф этиш йўллари ва чоралари” китобида кенг ёритиб берилгандир. Айниқса, қишлоқ хўжалиги маҳсулотларини ишлаб чиқаришда етиштири-лаётган ҳосилни зараркунанда ҳашаротлардан сақлаб қолиш, ушбу соҳа билан боғлиқ ҳолда юзага келиши мумкин бўлган молиявий инқирознинг олдини олишда муҳим бир асос бўла олади.

Бу билан боғлиқ ҳолда ҳашаротларнинг холинэстераза (ХЭ) ва карбоксилэстераза (КБЭ) ферментларининг субстрат-ингибитор хоссаларини ўрганиш ҳам назарий, ҳам амалий жиҳатдан муҳим аҳамиятга эга. Чунки ХЭ фосфорорганик бирикмалар (ФОБ) ва карбаматларнинг инсектицидлик таъсир нишони бўлса, КБЭ ва шу каби метаболитик ферментлар инсектицидларни парчалаб, таъсир этиш миқдорини камайтиради. Эстераза ферментларининг бундай хусусиятлари зараркунанда ҳашаротларга қарши танлаб таъсир этувчи инсектицидларни яратишга асос бўлиши мумкин.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ҳашаротларнинг эстераза ферментларини субстрат-ингибитор усуллари асосида ўрганиш турли даврларда амалга оширилган кўпгина тадқиқот ишлари натижаларида ўз ифодасини топган (J.E.Casida, F.Matsumura, R.L. Metcalf, M.Habibulla, A.П.Бресткин, E.В.Розенгарт, A.A.Абдувахобов, И.Л.Брик, C.A.Рославцева, Д.Н.Далимов, З.Тиябаев ва бошқалар). Охириги 20-25 йилда тавсия этилган препаратларга 16 хил қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг 46 тур зараркунанда ҳашаротларидан 41 тури фосфорорганик препаратларга, 20 тури пиретроидларга мослашиб қолиш ҳолатлари аниқланилган. Ҳашаротларнинг мослашиш механизмини ўрганиш Miyazawa Mitsuo, C.A.Рославцева, E.В.Розенгарт, C.Н.Моралёв, Г.Ф.Махаева, З.Тиябаев, Д.Н.Далимов ва шу каби бошқа тадқиқотчиларнинг изланишларида ўз ифодасини топган. Лекин зараркунанда ҳашаротларга қарши танлаб таъсир этувчи

препарат яратиш билан боғлиқ муаммолар ҳали тўла ўз ечимини топганича йўқ. Бу эса зараркунадаларнинг эстераза ферментлари ҳамда улар фаоллигига таъсир этувчи ингибиторларнинг синергетик хусусиятларини чуқурроқ ўрганишни тақозо этади.

Диссертация ишининг ИТИ режалари билан боғлиқлиги.

Мазкур диссертация иши Ўзбекистон Республикаси Фан ва Техника Давлат қўмитасининг 2000/07 рақамли “Ҳашаротларнинг мослашиш механизмини ўрганиш” мавзуси доирасидаги Давлат буюртмаси (2000-2002) ҳамда Гулистон давлат университетининг “Умумий биология” кафедраси қошидаги Экспериментал биология лабораториясининг “Ўсимликларнинг ўсиш ривожланишида биотик ва абиотик омиллар таъсирини физиологик фаол моддалар ёрдамида идора этиш” ҳамда ЎЗР ФА Биоорганик кимё институти физиологик фаол моддаларнинг нозик органик синтези (ФФМНОС) лабораториясининг “Синтез новых инсектоакарицидов на основе природных соединений и их использование для выяснения механизма резистентности членистоногих” (2001-2004) мавзулари асосида бажарилди.

Тадқиқотнинг мақсади. Ҳашаротларнинг уларга қарши ишлатиладиган инсектицидларга мослашиш механизмини ўрганиш билан боғлиқ ҳолда олма қурти ва маккажўхори парвонасининг ХЭ ва КБЭ хоссаларини ўрганиш ва ингибиторларнинг синергетик хусусиятларини аниқлаш.

Тадқиқотнинг вазифалари:

-тадқиқотлар учун танланган ҳашаротлар организми тўқималарида мавжуд эстераза ферментлари фаоллигини субстрат-ингибитор усули ёрдамида аниқлаш;

-кимёвий препаратлар таъсирига кўниккан ва сезувчан ҳашаротлар организмида мавжуд метаболитик ферментлар фаоллиги ҳамда улар орасидаги фарқларни ўрганиш;

-ҳашаротларнинг онтогенетик ривожланиши босқичларида улар организмида мавжуд ХЭ ва КБЭларнинг фаоллик динамикасини ўрганиш;

-турли кимёвий тузилишга эга бўлган ингибиторларнинг ҳашаротлар ХЭ ва КБЭ фаоллигига таъсир этиш даражаларини ўрганиш ҳамда таҳлил этиш;

-ҳашаротларнинг КБЭларига қарши юқори даражада таъсир этувчи ингибиторларнинг токсикологик ва синергетик хусусиятларини аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти ва предмети. Ушбу ишда маккажўхори парвонаси (*Pyrausta nubilalis* Hb.) ва олма қурти (*Laspeyresia pomonella* L.) ҳашаротлари ҳамда уларнинг ХЭ ва КБЭ ферментлари тадқиқот объекти бўлиб хизмат қилди.

Тадқиқотлар учун танланган ҳашаротларнинг эстераза ферментлари фаоллигини субстрат-ингибитор усули ёрдамида ўрганиш диссертация ишининг асосий предмети бўлиб хизмат қилди.

Тадқиқот усуллари. Тадқиқот жараёнида ҳашаротлар тўқималаридан гомогенатлар тайёрлаш, ферментлар фаоллиги ва хоссаларини ўрганишда

субстрат-ингибитор, электрофоретик, колориметрик ва Карновский усулларида фойдаланилди. Шунингдек, ингибиторлар фаоллигини ўрганишда токсикология ва синергетик хоссаларини ўрганиш усуллари қўлланилди.

Химояга олиб чиқилаётган асосий ҳолатлар:

- ҳашаротларнинг онтогенетик ривожланиши билан боғлиқ ҳолда улар организмда мавжуд ХЭ ва КБЭларнинг фаоллик динамикаси;
- кимёвий препаратлар таъсирига қўниккан ва сезувчан ҳашаротлар организмда мавжуд КБЭ фаоллиги ва улар орасидаги фарқлар;
- турли кимёвий тузилишга эга бўлган ингибиторларнинг ҳашаротлар ХЭ ва КБЭ фаоллигига таъсири даражалари;
- ҳашаротларнинг КБЭ ферментларига қарши юқори даражада таъсир этувчи ингибиторларнинг токсикологик ва синергетик хусусиятлари.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги. Тадқиқотлар учун танланган маккажўхори парвонаси (*Pyrausta nubilalis* Hb.) ва олма қурти (*Laspeyresia pomonella* L.) зараркунанда ҳашаротларининг кимёвий препаратлар таъсирига қўниккан ва сезувчан популяцияси вакиллариининг бутун онтогенетик ривожланиш босқичларида тўқималаридаги ХЭ ва КБЭ хусусиятлари ҳамда уларнинг фаоллик динамикаси илк маротаба ўрганилди. Ҳашаротларнинг қўниккан популяцияларида КБЭ фаоллиги улар организми учун ёт модда ҳисобланган инсектицидлар фаоллигига қарама-қарши тарзда ўзгариши аниқланди. Ҳашаротлар танасидаги ХЭ ва КБЭ фаоллиги ва уларнинг хусусиятлари ҳашаротларнинг тури, тўқимаси ва органлари ҳамда уларнинг қандай шароитда учрашига кўра фарқ қилиши аниқланди. О,О-диэтил-S-пиперидинобутин-2-илтиофосфатнинг малатион билан 0,0004:0,005% нисбатда юқори синергетик хусусиятини намаён қилганлиги аниқланди ва улар асосида синергетик аралашма яратилди (Патент олиш учун талабнома қайд этиш рақами: № IAP 20110374)

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Ўтказилган тадқиқотлар натижалари зараркунанда ҳашаротларга қарши танлаб таъсир этувчи физиологик фаол моддаларни яратиш ва метаболитик ферментлар фаоллигини бошқариш учун илмий асосланган ишланмалар яратишда асос бўлиб хизмат қилиши мумкин. Яратилган синергетик аралашмадан зараркунанда ҳашаротларга қарши курашда фойдаланиш асосида кимёвий препаратларнинг қўлланиш миқдорини камайтириш мумкин.

Тадқиқот натижаларини татбиқ этиш. Малатионнинг 0,005% ли, БД-54 нинг 0,0004% ли эритмаларидан 1:1 нисбатда тайёрланган аралашмалари олма қурти ҳашаротига қарши қўлланилганда зараркунанданинг 100% нобуд бўлиши кузатилдики, бундан ишлаб чиқаришда фойдаланиш юқори иқтисодий самара беради.

Мазкур диссертация иш натижаларидан Гулистон давлат университетида биокимё, биоорганик кимё, ўсимликларни химоя қилиш, энтомология ва энзимология фанлари махсус курсларини ўқитишда фойдаланилмоқда.

Ишнинг муҳокамаси. Ушбу диссертация иши бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижалари “4th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (SCNC-2001)” (6-8 June 2001, Turkey), “Биологик фаол полимерлар синтези, хусусиятлари ва қўлланиши” мавзусида ёш олимларнинг Республика миқёсида ўтказилган илмий анжуманида (Тошкент 22 май 2003 йил), “5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds” (May 20-23, 2003, Tashkent, Uzbekistan), Гулистон давлат университетининг анъанавий анжуманларида (Гулистон, 2002-2011), “Перспективы развития биологических технологий и безопасность” Международная конференция (14-17 октября, 2003 г. Ташкент, Узбекистан), “Кимёнинг долзарб муаммолари” мавзусидаги анжуманда (Гулистон 2005 йил 12-13 май) маъруза қилиниб, анжуманлар материалларида чоп этилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация иши бўйича олинган асосий натижалар жами илмий журналларда 8 та мақола, Республика ва халқаро миқёсда ўтказилган илмий анжуман ҳамда симпозиумлар материалларида 6 та маъруза матни тарзда чоп этилган ҳамда ЎзР Фан ва техника маркази қўмитасининг “Ҳашаротларнинг мослашиш механизмини ўрганиш” мавзуси доирасидаги Давлат буюртмаси (2000-2002) фундаментал тадқиқотлар бўйича 2000/07 рақамли грант ҳисоботларида келтирилган.

Диссертация ишининг тузилиши ва ҳажми. Диссертация жами 118 бетдан иборат бўлиб, 14 та расм, 20 та жадвалларни ўз ичига олган кириш, адабиётлар шарҳи, тажриба қисм, олинган натижаларнинг муҳокама қисми, хулоса ва 155 та фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат.

Миннатдорчилик. Муаллиф диссертация ишнинг бажарилишида ўз маслаҳатлари билан яқиндан ёрдам берган к.ф.д., профессор Д.Н.Далимовга, б.ф.д. З.Тилибаевга ҳамда к.ф.д. Б.Н.Бобоевга ўзининг самимий миннатдорчилигини билдиради.

ИШНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Диссертациянинг кириш қисмида ишнинг мақсади, вазифалари ва олинган натижаларнинг илмий янгилиги ҳамда амалий аҳамияти ҳақида қисқа маълумот; 1-бобда мавзу бўйича адабиётларда келтирилган маълумотларнинг таҳлили; 2-бобда тажриба қисмида тадқиқот объекти ва усуллари; 3-бобда тадқиқот асосида олинган натижалар ва уларнинг таҳлили; хулоса қисмида олинган натижалар асосида чиқарилган хулоса ва таклифлар, сўнгра фойдаланилган адабиётлар рўйхати келтирилган.

Тадқиқотлар давомида маккажўхори парвонаси ва олма қуртининг лаборатория ва табиий популяцияларининг эстераза ферментлари тухум, курт (ҳар хил ривожланиш босқичларида), ғумбак олди ва ғумбак ҳамда капалак фазаларида ўрганилди. Ҳашаротлар тўқималаридан тайёрланган гомогенатлардаги мавжуд оксилнинг миқдори Лоури усули асосида аниқланди.

Ҳашаротлар тўқималаридаги ХЭ ферменти хоссаларини Перм Вакцина ва зардоб ИТИДа ишлаб чиқарилган БуХЭ (от қони зардоби ферменти, фаоллик кўрсаткичи 6,1 Е/мг га) ва АХЭ (одам қони эритроцити ферменти фаоллик кўрсаткичи 2,1 Е/мг га) билан таққосланди. АХЭ ва БуХЭнинг дистилланган сувда 1 мг препарат, 1 мл сув миқдоридаги концентрацияда эритмалари тайёрланиб, керакли кўрсаткичдаги концентрациягача суюлтирилди.

Ҳашаротларнинг КБЭ фаоллиги чўчка жигари карбоксилэстеразаси фаоллиги (260 Е/мг) билан солиштирилди.

ХЭларнинг каталитик фаоллиги гомогенатларнинг карбон кислота-лари тиохолинли (ацетилтиохолин-АТХ, бутирилтиохолин-БТХ, пропионил-тиохолин-ПТХ) эфирларини гидролизлаш хусусиятига кўра аниқланди.

Карбон кислоталарнинг тиохолинли эфирлари “Chemapol” (Чехия) фирмаси препаратларидир.

ХЭ фаоллигини тиохолинли субстратлар ёрдамида аниқлашда Буюк Британиянинг «Kochlight lab» фирмасининг препарати бўлган 5,5-дитиобис-2-нитробензой кислотадан хромоген сифатида фойдаланилди.

КБЭнинг субстрати сифатида Биоорганик кимё институтининг ФФМНОС лабораториясида к.ф.д. Б.Н.Бобоев томонидан синтез қилинган мой кислотасининг этилтиоэфири (KS-14) ҳамда паранитрофенилацетатдан (п-НФА) фойдаланилди.

Ферментларнинг ингибитори сифатида эзерин, прозерин, диизопропил-фторфосфат ҳамда ЎЗР ФАнинг Биоорганик кимё институтида синтез қилинган О,О-диалкил-S(пиперидинобутин-2-ил)тиофосфат, О-пентил-S- [N-β-этилгетрил]фенилтиофосфонат, О-циклогексил-S-[N-β-этилгетрил]фенилтиофосфонат, О,О-диалкил-S-лупинантиофосфат, О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфат, О-алкил-S-пропилфенилтиофосфонат, О-алкил-S-аллилфенилтиофосфонат, О,О-диалкил-S-пропаргилтиофосфат каби қатор фосфор-органик бирикмалардан фойдаланилди. Бунда ферментларнинг қайтмас бимолекуляр ингибирланиш кўрсаткич даражаси (k_2)

$$k_2 = \frac{2,3}{t[I]} \cdot \lg \frac{V_o}{V_t}$$

формула асосида аниқланди. Тадқиқотлар давомида ҳашаротларнинг эстераза ферментлари фаоллиги Элман колориметрик усули асосида ўрганилди.

Ҳашаротларнинг эстераза ферментларини ўрганишда пластинкали электрофорездан фойдаланилди (Диксон М.Э. Уэбб, 1982, Laemmli U.K., 1970). Бунда ферментлар Карновский усули билан аниқланди.

Моддалар токсикологияси ҳашаротлар куртининг қорин қисмига микрошприцлар орқали юбориш ва устки қисмига пуркаш асосида аниқланди.

Ферментлар ингибиторларининг синергетик самараси О.Ю.Ерменова ва С.А.Рословцеваларнинг услубий кўрсатмаси бўйича аниқланди. Олинган натижалар Р.Х.Мюллер усули асосида статистик таҳлил қилинди.

Ҳашаротларнинг онтогенетик ривожланиши босқичида эстераза ферментлари фаоллиги динамикаси

Маккажўхори парвонасининг лаборатория шароитида изоляцияланган ва табиий муҳитда мослашиб ривожланган популяцияларида ХЭ ва КБЭ бутун онтогенетик ривожланиш цикли давомида ўрганилди. Ҳашаротларнинг 2-3, 4-5 ўсиш фазаларидаги қуртлари бош ва кўкрак қисми гомогенатида субстратларнинг (тиохолинли ва KS-14) гидролизланиши кузатилди. Бу ҳашарот организмида КБЭ мавжуд эканлигидан далолат беради. Ҳашаротнинг лаборатория шароитида ўстирилган популяциясини онтогенетик ривожланишининг барча босқичларида КБЭ фаоллиги жуда суғуст бўлгани сабабли уни аниқлаш имкони бўлмади. Субстратларнинг турли тезликда гидролизланиши асосида ҳашаротларнинг ўсиши ва ривожланиши билан ферментлар фаоллиги ҳам динамик ҳолда ўсиб бориши кузатилди.

Олма қурти капалагининг бош ва кўкрак қисмидан тайёрланган гомогенатларида қурт фазасидан фарқ қилиб, АТХнинг гидролизланиши бош ва кўкрак қисмида бир хил кўрсаткични намоён қилди. АТХнинг гидролизланиши ҳар икки ҳолатда БТХнинг гидролизланишидан юқори, яъни бош қисмида БТХнинг гидролизланишидан 3,5 баробар, кўкрак қисмида эса 1,3 баробар юқори кўрсаткични намоён қилди. БТХнинг гидролизланишини эса бош қисмида жуда суғуст, кўкрак қисмида эса АТХга нисбатан 1,3 марта суғуст гидролизланишидан шундай хулосага келиш мумкинки, ҳашарот капалагининг барча тўқималарида АХЭ мавжуд бўлиб, БуХЭ бош қисмида жуда кам миқдорда ва асосан, бу фермент ҳашаротнинг кўкрак қисмида мавжуд экан. Ҳашаротларнинг бутун онтогенетик ривожланиш циклида КБЭнинг мавжудлиги п-НФА ва KS-14 асосида аниқланди. Ҳар иккала субстратнинг гидролизланиш кўрсаткичи ҳашарот қуртининг ривожланиш фазасига боғлиқ тарзда ортиб боради, лекин капалак фазасида кескин пасайиши кузатилди. Бу ҳолат шундай хулосага сабаб бўлдики, КБЭ асосан ҳашаротнинг қурт фазасида юқори фаолликни намоён қилар экан. Яна шуни қайд этиш керакки, КБЭ капалакнинг бош қисмида кўкрак қисмига нисбатан 4-5 марта кам миқдорда мавжуд экан.

Маккажўхори парвонасининг лабораторияда ўстирилган популяцияси қурт ва капалак фазасида КБЭнинг фаоллиги кузатилмади.

Олма қуртида КБЭ фаоллиги унинг бутун онтогенетик ривожланиш цикли давомида ўрганилди. Бу фермент ҳашаротнинг бош қисмида ХЭларга нисбатан 4-5 марта кам, кўкрак қисмида эса АХЭга нисбатан 1-1,5 марта юқори фаолликка эга бўлиши аниқланди.

Ҳашаротларнинг онтогенетик ривожланиши босқичларида эстераза ферментлари фаоллигининг кинетик параметрлари

Ҳашаротлар онтогенетик ривожланиши жараёнида бир фазадан иккинчи фазага ўтганда ферментларнинг фаоллик даражаси ҳам ортиб (1-жадвал), бунда ҳашаротнинг сезгирлик даражаси ҳам ортиб боради.

Ҳашаротларнинг ХЭ ва КБЭ таъсирида субстратларнинг гидролизланиши
кинетик параметрлари ($K_m \times 10^{-3} \text{М.}$; $V_{\max} \times 10^{-6} \text{М.мг.мин}$)

Субстрат	Ҳашаротлар ўсиш фазалари	Кинетик Параметрлар	Маккажўхори парвонаси ҳашароти		Олма қурти ҳашароти	
			Бош қисми	Кўкрак қисми	Бош қисми	Кўкрак қисми
АТХ	2-3 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	2,5±0,13 0,7±0,2	1,0±0,2 0,3±0,02	13,9±0,4 4,2±0,23	4,2±0,22 2,0±0,11
	4-5 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	2,5±0,03 1,2±0,05	1,6±0,02 0,5±0,02	14,0±0,4 10,2±0,2	5,6±0,2 4,0±0,52
	Капалаги	K_m $V_{\max}$	5,6±0,2 3,2±0,1	4,3±0,3 2,2±0,1	6,0±0,21 18,1±0,43	6,3±0,1 10,8±0,3
ПТХ	2-3 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	2,3±0,3 0,6±0,01	1,0±0,2 0,3±0,1	4,6±0,04 3,8±0,06	3,8±0,05 1,8±0,06
	4-5 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	2,9±0,2 0,9±0,013	1,4±0,04 0,4±0,01	12,7±0,03 9,8±0,2	5,0±0,1 3,6±0,07
	Капалаги	K_m $V_{\max}$	3,6±0,22 2,9±0,1	3,6±0,2 2,0±0,04	6,0±0,04 18,1±0,5	5,9±0,2 9,8±0,3
БТХ	2-3 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	1,1±0,021 0,3±0,01	2,9±0,02 0,9±0,01	3,9±0,3 1,8±0,1	2,7±0,04 4,4±0,02
	4-5 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	1,5±0,012 0,4±0,011	5,3±0,1 1,6±0,03	2,7±0,05 3,8±0,04	7,2±0,3 10,6±0,5
	Капалаги	K_m $V_{\max}$	3,6±0,03 1,2±0,011	4,0±0,1 2,4±0,02	1,7±0,1 5,1±0,2	5,2±0,3 8,1±0,2
KS 14	2-3 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	0,5±0,012 0,1±0,02	1,2±0,02 0,3±0,01	0,4±0,02 0,1±0,02	3,0±0,08 3,1±0,07
	4-5 ўсиш фазаларидаги қурти	K_m $V_{\max}$	0,8±0,02 0,2±0,01	2,9±0,03 0,9±0,01	1,4±0,3 0,7±0,2	4,3±0,2 7,8±0,1
	Капалаги	K_m $V_{\max}$	0,2±0,01 0,1±0,01	0,5±0,01 0,2±0,02	0 0	0 0

АТХ ва ПТХнинг гидролизланиш тезлиги ($V_{\max}$) даражаси кўрсаткичлари орасида фарқ бу субстратларни битта фермент таъсирида гидролизланган бўлиши мумкинлигидан далолат беради.

Ҳашаротларнинг бош қисмида АТХ юқори тезликда гидролизлангани учун АХЭ, кўкрак қисмида БТХ юқори кўрсаткичда гидролизлангани учун БУХЭ мавжуд, деган хулосага келинди.

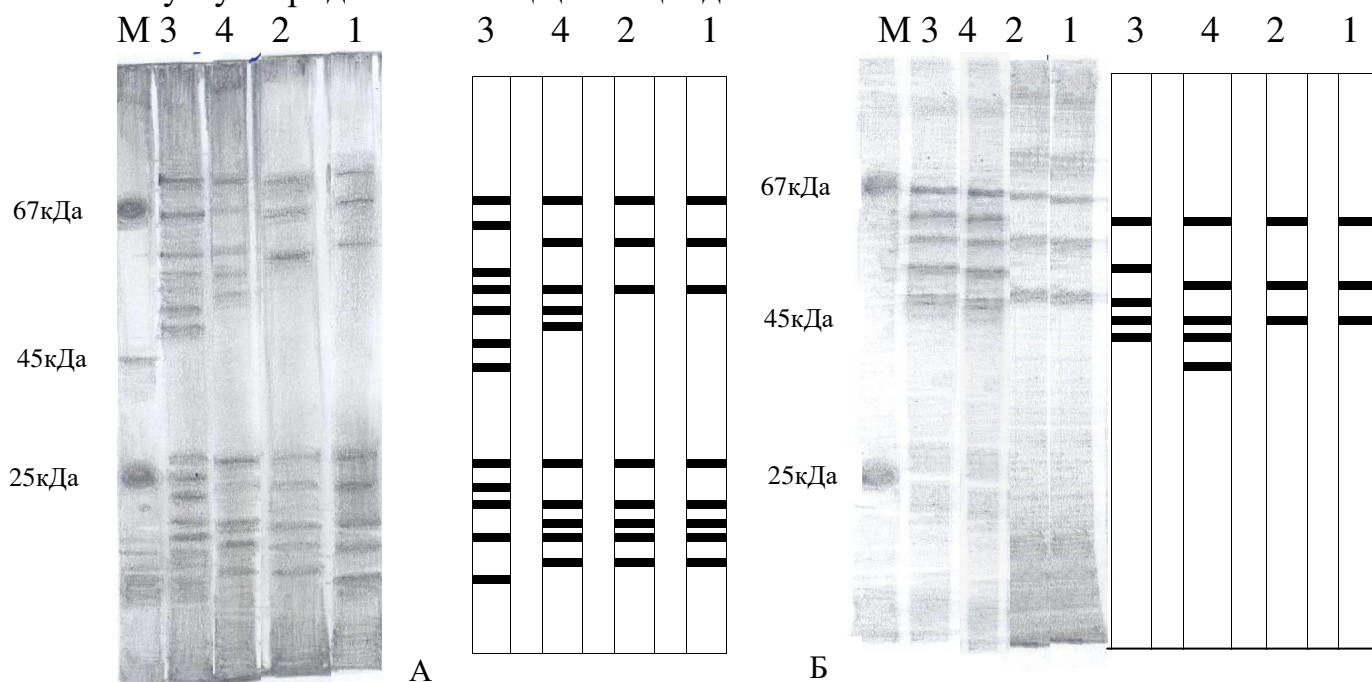
Субстратнинг гидролизланиш даражаси ва кинетик параметрларига кўра ҳашарот тўқималарида КБЭ мавжуд бўлиб, бош қисмига нисбатан кўкрак қисмида юқорироқ экан. Ушбу ферментнинг фаоллиги ХЭлар каби ҳашарот қуртининг ривожланиши билан бирга ортиб бориши аниқланди. Лекин ҳашаротларнинг капалак фазасида тескари ҳолатнинг гувоҳи бўлди. Маккажўхори зараркунандасининг капалак фазасида КБЭнинг фаоллик дара-

жаси кескин пасайиши кузатилган бўлса, олма курти зараркунандасининг капалак фазасида эса КБЭнинг фаоллиги аниқланмади.

Ҳашаротлар тўқималаридаги эстераза ферментларининг электрофоретик таҳлили

Ҳашаротлар тўқималарида эстеразалар мавжудлиги ҳақида тўлиқроқ хулоса чиқариш учун гомогенатлар электрофоретик таҳлил қилинди. Бунда эстеразаларнинг субстрати сифатида α -нафтилацетатдан фойдаланилди.

Электрофорез пластинкалари α -нафтилацетат ва диазон тузи эритмасига солинганда пластинка устунларида чизиклар ҳосил бўлди, яъни маккажўхори капалагининг изоляцияланган муҳитда ўстирилган намуналарининг курти (1) ва капалаги (2) тўқималари гомогенатлари электрофарез пластинкаси устунларида 8 та чизик ҳосил қилди.

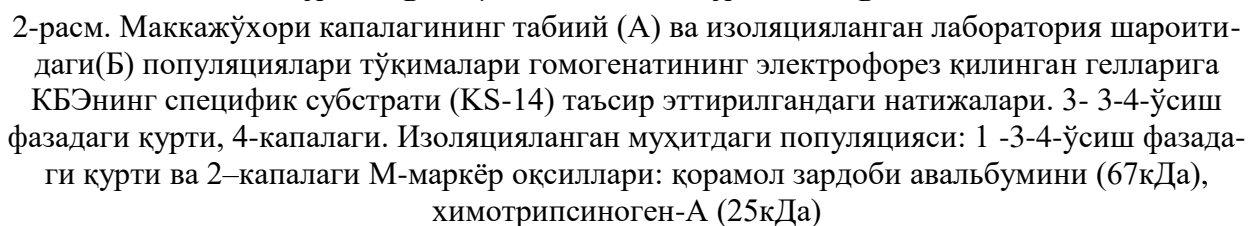


1-расм. Маккажўхори капалагининг лаборатория шароитида изоляцияланган муҳитда ўстирилган 4-5-ўсиш фазадаги курти (1) ва капалаги (2), табиий муҳитдан олинган 4-5-ўсиш фазадаги курти (3) ва капалаги (4) тўқималари гомогенатларининг электрофоретик анализлари. Электрофорез геллари А – фақат α -НФА, Б- α -НФА ва прозерин ($1 \cdot 10^{-6}$ М) таъсир эттирилган ҳолатда М-маркёр оксиллари: қорамол зардоб авальбумини (67кДа), овальбумин (45кДа), химотрипсиноген-А (25кДа)

Табиий шароитда ингибиторларга мослашган популяцияси намуналари курти тўқималари гомогенатларида (3) 12 та, капалаги тўқималарида (4) 10 та жигарранг чизик ҳосил бўлди (1-расм). Бу жигарранг чизиклар α -нафтил-ацетатни ферментлар таъсирида гидролизланишидан ажралган α -нафтолнинг диазон тузи бирикмасидир.

Кейинги электрофорез пластинкалари солинган муҳитда ХЭнинг субстратлари α -нафтилацетат ўрнига АТХ, БТХ, ПТХ эритмалари қўшилганда пластинкалар устунларида 5-6 тадан чизиклар йўқолиб, 1 ва 2 да 3 та, 3 да 5 та, 4 да 5 та чизиклар қолди холос. Электрофоретик жараён ўтказилган гел пластинкалари солинган муҳитга ХЭнинг субстратлари АТХ, БТХ, ПТХ

Электрофарез пластинкалари солинган муҳитга КБЭнинг специфик субстрати KS-14 ни таъсир эттирилганда 1 ва 2 да 6-чи чизик, 3 да 6-10-чизиклар, 4 да 7,9,10-чизиклар ҳосил бўлди(2-расм). Демак, бу чизикларда КБЭ мавжуд бўлиб, бу фермент изоляцияланган муҳитда ўстирилган макка-жўхори парвонасида 1 та изошакл, табиий муҳитда ингибиторларга мослашган популяциясининг қурт фазасида 5 хил изошакл, капалагида 3 хил изошакл ҳосил бўлиб, капалак фазасида КБЭнинг изошакллари ҳосил бўлмаган.



О-пентил-S-алкилфенилтиофосфонатларнинг ҳашаротлар холинэстераза ферментлари фаоллигига таъсири

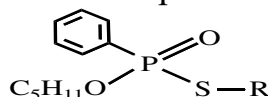
11

функционал гуруҳлар мос тушишига боғлиқ. Шунинг учун ушбу тадқиқотлар давомида биз ФОБлар орасидан хашаротларнинг ХЭ ферментлари фаол марказига комплементар тарзда мос тушувчи бирикмаларини танлаб олиш мақсадида О-пентил-S-пропилфенилтиофосфонат, О-пентил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонат, О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонат ва О-пентил-S-лупинилфенилтиофосфонат қатор бирикмаларининг таъсири ўрганилди (2-жадвал).

О-пентил-S-алкилфенилтиофосфонатларнинг олма курти ва маккажўхори парвонаси ҳамда иссиқ қонли ҳайвонлар ХЭларига таъсиридан маълум бўлдики, 2, 3, 4 бирикмалар 1-бирикмага нисбатан хашаротларнинг ХЭлар фаоллигини юқори кўрсатгичда ингибирлайди. О-пентил-S-пропилфенилтиофосфонатнинг О-пентил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонат, О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонат ва О-пентил-S-лупинанфенилтиофосфонатларга алмашиниши билан ферментлар фаоллигини кескин сусайишини кўриш мумкин (2-жадвал).

2-жадвал

Хашаротлар ХЭ ферментларининг О-пентилфенилтиофосфон кислотаси ҳосилаларига нисбатан таъсирчанлиги($k_2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$)



№	R	Олма курти		Маккажўхори парвонаси		Сут эмизувчилар	
		А ХЭ	БуХЭ	АХЭ	БуХЭ	АХЭ	БуХЭ
1	-C ₃ H ₇	0,23±0,01	0,19±0,03	0,31±0,01	0,21±0,01	0,32	0,75
2		3,12±0,02	7,8±0,2	8,1±0,2	17,0±0,1	0,44	3,6
3		9,8±0,01	13,5±0,3	8,8±0,4	23,3±0,5	0,49	58,5
4		11,1±0,2	17,2±0,3	18,2±0,2	20,0±0,3	4,71	492,0

Юқоридаги барча ҳолларда АХЭга нисбатан БуХЭнинг ингибирланиши даражаси ўсиб боради. Лекин олма курти хашаротида О-пентил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонатни О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонатга алмашиниши билан АХЭнинг ингибирланиши О-пентил-S-β-этилпиперидилфенилтиофосфонатдагига нисбатан деярли 2 баробар камаяди. БуХЭда эса аксинча деярли 2 баробар ортиши кузатилади. О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонатни О-пентил-S-β-лупинилфенилтиофосфонатга алмашиниши билан эса АХЭнинг ингибирланиши даражаси О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонатга нисбатан 6 баробар, О-пентил-S-β-этилпиперидилфенилтиофосфонатга нисбатан эса 3,5 баробар ортиши кузатилса, БуХЭда О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонатга нисбатан 1,3 баробарга О-пентил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонатга нисбатан эса 2,4 баробарга яқин ортишини кўриш мум-

кин. Худди шунга яқин ҳолатни маккажўхори парвонаси ҳашароти ва иссиқ-конлиларнинг АХЭ ва БуХЭларида кўриш мумкин. Фақат бу ферментларни О-пентил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонат ва О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонатларда ингибирланиши деярли ўзгармайди.

Хулоса сифатида шуни қайд этиш мумкинки, О-пентил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонат, О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонат ва О-пентил-S-[N-β-этиланабазил]фенилтиофосфонат қаторида АХЭга нисбатан БуХЭнинг ингибирланиш даражаси ортиб боради, яъни, олма куртининг АХЭнинг k_2 ингибирланиш кўрсаткичи $3,12, 9,8, 11,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$ бўлса, БуХЭда $7,8, 13,5, 17,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$ ни, маккажўхори парвонаси АХЭнинг ингибирланишида $8,1, 8,8, 18,2$ БуХЭда $17,0, 23,3, 20,0 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$ кўрсаткични ташкил этди.

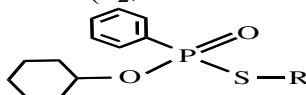
О-циклогексил-S-аминоалкилфенилтиофосфонат қатор

бирикмаларнинг ҳашаротлар ХЭ ферментлари фаоллигига таъсири

О-циклогексил-S-[N-β-этилморфолинил]фенилтиофосфонат, О-циклогексил-S-[N-β-этилпиперидил]фенилтиофосфонат ва О-циклогексил-S-эпилупинилфенилтиофосфонатларга ўзгариб бориши билан юқоридагига ўхшаш ҳолатни кўриш мумкин (3-жадвал). Лекин бунда О-циклогексил-S-[N-β-этилморфолинил]фенилтиофосфонат АХЭга нисбатан комплементарликни юзага келтирмайди. Морфолин молекуласида кислород атомининг бўлиши бу модданинг комплементарлигини камайишига олиб келади.

3- жадвал

Олма курти ва маккажўхори парвонаси ҳашаротлари ХЭ ферментлари-нинг О-циклогексил-S-аминоалкилфенилтиофосфонатларга нисбатан таъсирчанлиги ($k_2, \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$)

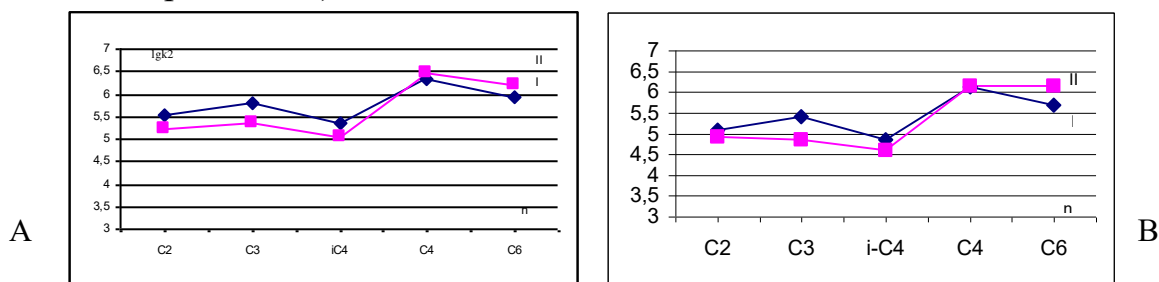


№	R	Олма курти		Маккажўхори парвонаси		Сут эмизувчилар	
		АХЭ	БуХЭ	АХЭ	БуХЭ	АХЭ	БуХЭ
1		0	0,5±0,02	0	0,82±0,02	0	1,4
2		0,77±0,1	1,47±0,1	0,2±0,02	1,15±0,01	5,01	17,4
3		5,7±0,4	13,57±0,5	28,5±0,3	34,4±0,43	17,0	127,0

О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатларнинг ҳашаротлар холинэстераза ферментлари фаоллигига таъсири

О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатларнинг таъсир этиш кўрсаткичларидаги ҳолат олма курти ҳашаротининг бутун онтогенетик ривожланиш фазаларида кузатилди (3-расм). Бунда О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатнинг R радикалидаги углерод атомлар сони (n) иккитадан тўрттагача ортиб бориши билан ҳашарот куртининг 2-3 ва 4-5 ўсиш фазасида ортиб бориб, n=6 да 4 углеродга эга бўлган радикалли бирикмага нисбатан

ривожланиш фазаларида АХЭда 2,3; 2,5; 2,8 БуХЭда 1,9; 1,5; 1,2 марта камайган (3-расм А; В).



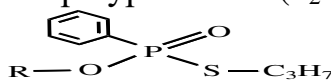
3-расм. О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатларнинг олма курти ҳашаротининг АХЭ(I) ва БуХЭ(II) ферментлари фаоллигини ингибирлаш кўрсаткичлари. А-ҳашаротнинг курти, В-ҳашаротнинг капалаги. (n-R радикалидаги углерод атомлар сони, $\lg k_2$ -антихолинэстераза фаоллиги кўрсаткичлари)

Ҳашаротларнинг КБЭ ферменти фаоллигига О-алкил-S-пропилфенилтиофосфонатларнинг таъсири

Тадқиқотлар давомида О-алкил-S-пропилфенилтиофосфонатлар қатори таркибида тиопропил функционал гуруҳи доимий бўлиб, алкил радикалининг ўзгариб бориши асосида бирикмаларни ҳашаротларнинг КБЭ фаоллигига таъсири ўрганилди. Олинган натижалар эса ҳашаротлар ва иссиқ қонли ҳайвонлар КБЭсига қийсий тавсиф беришга муҳим асос бўлди

4 -жадвал

О-Алкил-S-пропилфенилтиофосфонатларнинг карбоксилэстераза ферменти фаоллигига қарши таъсир кўрсаткичи ($k_2 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{мин}^{-1}$)



№	R	Карбоксилэстераза				
		Олма курти	Маккажўхори парвонаси	Кузги тунлам	Кичик куруқлик тунлами	Чўчка жигари
1	-C ₅ H ₁₁	1,02±0,3	3,22±0,22	3,79	57,3	3,36
2	i-C ₅ H ₁₁	0,7±0,2	1,8±0,32	2,06	5,7	0,31
3	-C ₆ H ₁₃	0,82±0,2	7,85±0,31	5,75	69,2	1,22

О-пентил-S-пропилфенилтиофосфонат О-гексил-S-пропилфенилтиофосфонатга алмаштирилиши билан маккажўхори парвонаси кузги ва кичик куруқлик тунлами КБЭнинг ингибирланиш кўрсаткичи ортиб боради (4-жадвал). Олма курти ва чўчка жигари ферментини ингибирланиш кўрсаткичининг эса камайиши, яъни олма куртида 1,25 марта, чўчка жигарида эса 2,75 марта пасайиш ҳолати кузатилди. О-пентил-S-пропилфенилтиофосфонатда k_2 нинг кўрсаткичи маккажўхори парвонаси, кузги тунлам ва чўчка жигари КБЭларида бир-бирига деярли яқин, лекин О-гексил-S-пропилфенилтиофосфонатда эса улар орасидаги кескин фарқларни кузатиш мумкин. Бу кўрсаткич О-пентил-S-пропилфенилтиофосфонат учун олма курти ферментини маккажўхори ферментига нисбатан камроқ, кузги тунламга нисбатан 3,6 мартага яқин, кичик куруқлик тўпламида 5,6 марта, чўчка жигари ферментига нисбатан эса 3,3 мартагача паст эканлигини кўриш мумкин. Ҳар тўртала

хашарот ва чўчка жигари КБЭни О-изопентил-S-пропилфенилтиофосфонатда О-пентил-S-пропилфенилтиофосфонат ва О-гексил-S-пропилфенилтиофосфонатларга нисбатан паст ингибирланиши кузатилди.

Хашаротларнинг КБЭ ферменти тўйинган ва тўйинмаган гуруҳга эга бўлган О-алкилфенилтиофосфонатлар билан ўзаро таъсири

Таркибида тўйинган ва тўйинмаган боғлар бўлган О-алкилфенилтиофосфонатларни хашаротларнинг КБЭ билан ўзаро таъсири қиёсий таҳлил қилинганда, қўшбоғ тутган ФОБ КБЭни ўзига хос тарзда ингибирлаш хусусиятларини намоён этди (5-жадвал). Жадвалда келтирилган барча хашаротларда КБЭнинг қайтмас ингибирланиш кўрсаткичи чўчка жигари ферментининг ингибирланишидан паст эканлиги кузатилди, яъни биринчи бирикманинг кичик қуруқлик тунлам КБЭсига қарши фаоллиги чўчка жигари КБЭдагидан 3,8 марта, кузги тунлам КБЭси учун 8,33 марта, маккажўхори парвонаси КБЭ учун 4,7 марта, олма қурти КБЭси учун эса 17 марта кам эканлиги кузатилди.

Жадвалда ифода этилган 1, 3, 5 ва 6 бирикмаларда R радикал (C_5H_{11}) ўзгармаган ҳолда такрорланиб, R^I радикал ўзгариб боради ва бунда функционал гуруҳ ўзгариб бориши билан антикарбоксилэстераза кўрсаткичлари ўзгариши кузатилади. Яъни, биринчи бирикмадаги $-CH_2-CH=CH_2$ учинчи бирикмада $-CH_2-C\equiv CH$ га алмашилиши билан антикарбоксилэстераза фаоллиги кўрсаткичи олма қуртида 1,72 марта, маккажўхори парвонасида 1,33 марта, кузги тунламида 14,67 марта, кичик қуруқлик тунламида 2,1 марта, чўчка жигарида 21,12 марта ортади. R^I радикал ўрнида $-CH(CH_3)_2$ (5-бирикма), $-CH_2-CH(CH_3)_2$ (6-бирикма) киритилиши билан бирикмаларининг антикарбоксилэстераза фаоллиги кескин пасайди.

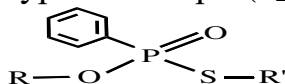
Худди шундай ҳолатни 2, 4, 6 ва 8 бирикмаларда ҳам кузатиш мумкин; яъни иккинчи бирикмада R^I радикалда $-CH_2-CH=CH_2$ тўртинчи бирикмада $-CH_2-C\equiv CH$ билан алмашилиши билан антикарбоксилэстераза фаоллиги кўрсаткичи олма қуртида 2,82 марта, маккажўхори парвонасида 1,72 марта, кузги тунламда 23 марта, кичик қуруқлик тунламида 4,17 марта, чўчка жигарида 2,47 марта ортади. R^I радикали тўйинмаган углеводород ўрнида юқорида қайд этилган бирикмалар қаторидаги сингари $-CH(CH_3)_2$ (6-бирикма) ва $-CH_2-CH(CH_3)_2$ (8-бирикма) ортиш билан бирикмаларнинг антикарбоксилэстераза фаоллиги кескин камайди. Яъни 6-бирикмада бу антикарбоксилэстераза фаоллиги тўртинчи бирикмадагидан олма қуртида 50,9 марта, маккажўхори парвонасида 11,73 марта, кузги тунламда 448,3 марта, кичик қуруқлик тунламида 11,72 марта, чўчка жигарида 2,95 марта камайдиган бўлса, 8-бирикмада яна ҳам камайиши кузатилди.

Бирикмаларни антикарбоксилэстераза фаоллиги таҳлили асосида яна шуни ҳам қайд этиш керакки, ФОБдаги R радикали $-C_5H_{11}$ дан (1, 3, 5 ва 7), C_6H_{13} (2, 4, 6 ва 8) га алмашилишида ҳам 1 ва 2 ҳолда 3 ва 4 бирикмалар ўртасида ҳам антикарбоксилэстераза фаоллигини ортишини кузатиш мумкин. Бу олинган натижалардан иссиққонли ва хашаротларнинг КБЭ фаол маркази

атрофи 6 углерод атомлари узунлиги ва 1 углерод атоми кенглигидаги гидрофоб майдонга эга деган хулосага келиш мумкин.

5-жадвал

О-алкил-S-R¹-фенилтиофосфонатларнинг карбоксилэстераза ферменти фаоллигига таъсир кўрсаткичлари ($k_2 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{мин}^{-1}$)

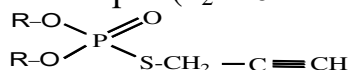


№	R	R ¹	Карбоксилэстераза				
			Олма курти	Макка-жўхори парвонаси	Кузги тўнлам	Кичик курук тўнлам	Чўчка жигари
1	-C ₅ H ₁₁	-CH ₂ -CH=CH ₂	7,32±0,3	26,65±0,5	15,0	33,0	125,0
2	-C ₆ H ₁₃	-CH ₂ -CH=CH ₂	10,11±0,4	30,63±0,5	16,9	18,0	158,0
3	-C ₅ H ₁₁	-CH ₂ -C≡CH	12,6±0,2	35,5±0,6	220,0	68,00	2640,0
4	-C ₆ H ₁₃	-CH ₂ -C≡CH	28,5±0,4	52,78±0,2	390,0	75,0	390,0
5	-C ₅ H ₁₁	-CH(CH ₃) ₂	0,68±0,02	4,44±0,1	1,80	6,8	137,0
6	-C ₆ H ₁₃	-CH(CH ₃) ₂	0,56±0,021	4,5±0,1	0,87	6,4	132,0
7	-C ₅ H ₁₁	-CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	0,56±0,011	4,2±0,02	3,1	7,3	277,0
8	-C ₆ H ₁₃	-CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	0,3±0,01	2,4±0,04	0,61	10,9	201,0

О,О-диалкил-S-пропаргилтиофосфат қатори бирикмаларида R радикал -C₂H₅ дан -C₆H₁₃ гача ортиб бориши билан бирикмаларнинг ҳашаротлар КБЭси ингибирлаш фаоллиги ортиб боради, лекин чўчка жигарида бирикмаларнинг таъсири -C₂H₅ дан то -C₅H₁₁ гача ортиб бориб, -C₆H₁₃ га ўтиши билан бу фаоллик сусаяди (6-жадвал). Бу олинган натижалар иссиққонли ҳайвонларнинг КБЭ фаол маркази атрофи ҳашаротларникига нисбатан тор эканлигини кўрсатади.

6-жадвал

О,О-диалкил S-пропаргилтиофосфатларнинг КБЭни ингибирланиш кўрсаткичлари ($k_2 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{мин}^{-1}$)



№	R	Карбоксилэстераза				
		Олма курти	Маккажўхори парвонаси	Кузги тўнлам	Кичик куруклик тунлами	Чўчка жигари
1	-C ₂ H ₅	2,72±0,1	12,1±0,4	17,0	11,0	0,65
2	-C ₃ H ₇	4,45±0,2	17,21±0,3	28,0	14,0	3,9
3	-C ₄ H ₉	5,3±0,1	37,8±0,8	40,0	18,0	40
4	-C ₅ H ₁₁	8,2±0,2	71,2±0,7	88,0	69,0	100,0
5	-C ₆ H ₁₃	10,33±0,1	80,88±0,5	101,3	98,5	73,0

О,О-диалкил-S-лупинантиофосфат ва О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатларни ҳашаротлар КБЭ фаоллигига таъсири

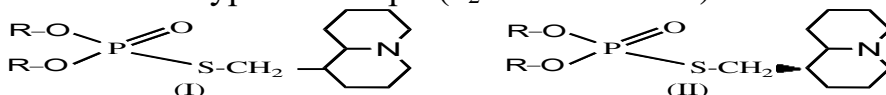
О,О-диалкил-S-лупинантиофосфатларнинг (I) ва О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфат (II) хосилалари ҳар иккала ҳашаротнинг КБЭ фаоллигининг қайтмас тарзда ингибирловчи бирикмалар эканлиги аниқлан-

ди. 7-жадвалда келтирилган маълумотлардан кўринадик, О,О-диалкил-S-лупинантиофосфатлар (I) каторида бирикмаларнинг ҳар иккала ҳашарот КБЭлари фаоллигига қарши таъсири алкил радикали -C₂H₅дан -C₅H₁₁гача ортганда 100 мартадан юқори кўрсаткичгача ортиб боради. О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатларда ҳам алкил радикалнинг -C₂H₅дан -C₄H₉гача ўзгарганда сезиларли даражада ортиб (10 мартадан юқорироқ кўрсаткич), алкил радикалнинг дигексилга ўзгариши билан k₂ биомолекуляр кўрсаткичнинг пасайиши кузатилди. Ушбу маълумотлар асосида шундай хулосага келиш мумкинки, олма қурти ва маккажўхори парвонаси ҳашарот-ларининг КБЭлари билан О,О-диалкилтиофосфатларининг ўзаро таъсири улардаги гидрофоб тузилишнинг мавжудлиги билан тавсифланади. О,О-диалкилтиофосфатларнинг самарадорлик даражаси бирикмалар таркибидаги лупинин ва эпилупин қолдиқларини конформацион тузилишига боғлиқ бўлиши мумкин.

О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатлар ҳашаротларнинг КБЭ фаоллигини юқори кўрсаткичда ингибирлаш даражасини намоён қила олди. Уларнинг бу кўрсаткичлари радикалдаги углерод атомларининг сони ортиб бориши билан ортиб борди.

7-жадвал

О,О-диалкил-S-лупинантиофосфат(I) ва О,О-диалкил-S-эпилупинантиофосфатларни(II) ҳашаротларнинг КБЭ фаоллигини қайтмас ингибирлаши кўрсаткичлари ($k_2 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{мин}^{-1}$)



R	I		II	
	Олма қурти	Маккажўхори парвонаси	4-5 ёшли олма қурти	4-5 ёшли Маккажўхори павонаси қурти
-C ₂ H ₅	0,023 ± 0,4	0,08±0,15	0,012±0,28	0,066±0,18
-C ₃ H ₇	0,07,8±0,22	1,2±0,36	0,02±0,4	0,18±0,2
-C ₄ H ₉	1,8±0,42	6,9±0,4	0,8±0,2	0,7±0,23
-C ₅ H ₁₁	7,3±0,33	8,9±0,21	-	-
-C ₆ H ₁₃	-	-	0,05±0,33	0,2±0,11

Инсектицидларнинг токсикологик хусусиятларини ўрганиш

Инсектицидлар метаболизмида кимёвий тузилишига кўра ҳар хил ферментлар системаси иштирок этиши мумкин. Бундай инсектицидлар кўп ҳолларда мураккаб эфир тузилишига эга бўлиши туфайли уларнинг метаболитик парчаланишида КБЭ, арилэстераза ва шу каби бошқа специфик ферментлар иштирок этади. Бундай мураккаб эфир тузилишига эга бўлган инсектицидларга қишлоқ хўжалигида кенг ишлатиладиган карбофос, малаоксон, фосдрин ва бир қатор пиретроидларни киритиш мумкин. Шунинг учун ҳашаротларни улар организмидаги метаболитик ферментлар фаоллиги асосида мослашиб қолишини олдини олиш учун бу ферментларнинг специфик ингибиторларини аниқлаш ва улардан фойдаланиш мақсадга мувофиқ.

Шунга асосан бундан олдинги ишларда мураккаб эфир тузилишига эга бўлган пиретероидни парчаловчи КБЭнинг ингибиторидан фойдаланиб, инсектицидлик фаоллигини тиклашга ва оширишга эришилган. Олиб борилган кузатишлар асосида БД-54нинг 0,0004 ва 0,0005%ли эритмалари ва малатионнинг 0,005%ли эритмаларидан тайёрланган синергетик аралашмалари таъсирида ҳашарот қуртларининг нобуд бўлиши энг юқори

8-жадвал

Малатион, БД-54 ҳамда улар аралашмаларининг олма қурти ҳашаротига таъсир кўрсаткичлари

Малатион, БД-54 ва уларнинг аралашмаси	Моддаларнинг концентрацияси %	Ҳашаротларнинг нобуд бўлиши, % (5 кун давомида)
Малатион	0,001	10
	0,005	25
	0,02	50
	0,05	70
Малатион+БД-54	0,001+0,0001	40
	0,001+0,0002	50
	0,001+0,0004	70
	0,001+0,0005	90
Малатион+БД-54	0,005+0,0001	50
	0,005+0,0002	70
	0,005+0,0004	100
	0,005+0,0005	100

(100%) кўрсаткичда кузатилди. Бир неча марта ўтказилган тажрибалар натижасида ҳам анашундай кўрсаткичлар такрорланди. Демак, БД-54ни зараркунанда ҳашаротлар, жумладан, олма қуртининг қўлланиладиган инсектицидларга мослашишини олдини олишда синергист сифатида муҳим аҳамиятга эга бўлган препарат дейиш мумкин. БД-54нинг 0,0004 ва 0,0005%ли эритмасининг ушбу аниқланилган концентрациясидан қўлланиладиган инсектицидлар учун синергист сифатида ишлатилишни тавсия қилиш мумкин. Бу қўлланиладиган инсектицидлар миқдорини камай-тиришга ва ҳашаротларнинг мослашишини олдиғи олиш имконини беради.

Хулосалар

1. Маккажўхори парвонаси ва олма қурти ҳашаротларининг лабораторияда ўстирилган ва табиий популяцияларининг бутун онтогенетик ривожланиш босқичларида эстераза ферментлари хоссалари ўрганилди. Бунда ҳашаротларнинг тўқималарида ХЭлар мавжудлиги аниқланди. КБЭ ҳашаротларнинг фақат табиий популяцияларида мавжудлиги, лаборатория популяциялари тўқималарида эса бу ферментнинг фаоллиги йўқ эканлиги аниқлади.

2. Маккажўхори ва олма қурти ҳашаротларининг бош ва кўкрак қисмларида АХЭ ва БуХЭ мавжудлиги аниқланилиб: АХЭ маккажўхори парвонасининг бош қисмида АТХни ўртача $1,7 \times 10^{-6}$, кўкрак қисмида 1×10^{-6} , олма қуртида $10,8 \times 10^{-6}$ ва $5,6 \times 10^{-6}$ М.мг.мин кўрсаткичда; БуХЭ БТХни маккажўхори парвонасида $0,6 \times 10^{-6}$ ва $1,5 \times 10^{-6}$ М.мг.мин, олма қуртида

$3,6 \times 10^{-6}$ ва $7,7 \times 10^{-6}$ М.мг.мин кўрсаткичда гидролизлаш фаоллигига эга бўлган микдорий кўрсаткичда мавжуд эканлиги аниқланди.

3. КБЭ KS-14ни маккажўхори парвонаси ва олма куртининг кўкрак қисмида асосан кurt фазаларида ўртача $0,6 \times 10^{-6}$ ва $5,4 \times 10^{-6}$ М.мг.мин кўрсаткичда гидролизлаш фаоллигига эга бўлган кўрсаткичда эканлиги ҳамда ҳашаротларнинг бош қисмида ўртача $0,1 \times 10^{-6}$ ва $0,4 \times 10^{-6}$ М.мг.мин кўрсаткичда гидролизлаш фаоллигидаги микдорда мавжудлиги, олма куртининг капалак фазасида эса КБЭнинг умуман фаоллиги йўқлиги аниқланди.

4. Ҳашаротлар тўқималарида мавжуд эстераза ферментларини субстрат-ингибитор ва электрофоретик усуллар асосида таҳлил қилиш натижасида КБЭнинг 50, 53 ва 55 кДа молекуляр оғирликдаги 3 хил изошакллари аниқланди.

5. Ҳашаротлар ва иссиққонли ҳайвонлар КБЭ фаоллигига таркибида C_nH_{2n+1} , C_nH_{2n-1} ва C_nH_{2n-3} ҳамда азотли гетрохалқали радикаллар тутган ФОБ таъсирини таҳлил қилиш асосида ҳашаротларнинг КБЭ фаол маркази атрофида 6 углерод атомлари узунлиги ва 1 углерод атоми кенглигидаги гидрофоб майдонга эга деган хулосага келинди.

6. Ҳашаротларнинг холинэстераза ва карбоксилэстераза ферментларининг самарали ингибиторларидан О,О-диэтил-S-пиперидинобутин-2-илтиофосфатнинг олма курти ҳашаротида ўтказилган тажрибаларда малатион билан 0,0004:0,005% нисбатда юқори синергетик хусусиятини намоён қилганлиги аниқланди.

Диссертация ишининг мазмуни қуйидаги нашрларда ёритилган:

1. Б.К.Холмурадов, Х.Х.Кушиев Изучение свойств ферментов метаболизма насекомых и регуляции их активности //ГулДУ Ахборотномаси. -2001.-№2.-С. 77-78.

2. Н.Н.Kushiev, B.Kholmuradov, Z.Abdukulov, B.Ummatov, A.Eshkuvvatov, R.Kashkarov Comparative study on the properties and regulation of the activity of cholinesterases and carboxylesterases of the some vermin insects / 4th International symposium on the chemistry of natural compounds (scnc-2001). -Egirdir (Isparta), Turkey.6-8 june 2001. -P.21.

3. Х.Х.Кушиев, Б.К.Холмурадов, Б.Т.Умματος, Р.А.Кашкаров Идентификация и изучение субстратной специфичности эстераз яблонной плодовой плодохорки *Laspersia pomonella* //Ўзбекистон аграр фани хабарномаси. -2001.-№3(5). -С.33-35.

4. Б.К.Холмурадов, Х.Х.Кушиев Сравнительная характеристика холинэстераз и карбоксилэстераз кукурузной совки (*Pyrausta nubilalis* Hb.) //ГулДУ Ахборотномаси. -2002. -№ 3. -С.33-37.

5. Н.Н.Kushiev, B. Kholmuradov, Sh. Kholjigitov, O. Abduganiev Investigation properties of cholinesterases and carboxyesterases of laspersia pomonella L. //5th International symposium on the chemistry of natural compounds. -Tashkent.May 20-23, 2003. -P.258

6. Б.Холмурадов, Х.Х.Кушиев Изучение активных центров ферментов метаболизма насекомых //Биологик фаол полимерлар синтези, хусусиятлари ва қўлланиши. 22 май 2003 йил. Тошкент, -С.58.

7. B.Kholmuradov, Kh.Kh.Kushiev, L.Allaeva Comparative study and regulation of the activity of cholinesterases and carboxylesterases of the pest insects //5th International symposium on the chemistry of natural compounds. Toshkent.May 20-23, 2003. -P.257

8. B.Kholmuradov, Kh.Kh.Kushiev A Study of The Resistance Mechanisms of Pests to Insecticides //Международная конференция “Перспективы развития биологических технологий и безопасность” Ташкент -2003. 14-17 октябрь. - С.108.

9. Б.Холмурадов., А.Абдурахимов, Х.Х.Қўшиев Айрим зараркунанда хашаротларнинг метаболитик ферментлари хоссаларини ўрганиш //ГулДУ ахборотномаси. –2003. -№ 4. –Б.115-116.

10. Б.Холмурадов Изучение резистентности кукурузной совки *Pyrausta nubilalis* Hb. //Кимёнинг долзарб муаммолари ва уни ўқитиш услибиёти. 2005 Республика илмий амалий анжумани. Гулистон, -С.48-49.

11. B.Kholmuradov, Kh.Kh.Kushiev, Z.Tilyabaev, D.N.Dolimov Specifics of cholinesterases and carboxyesterases of *Laspesia pomonella* L. //O'zbekiston biologiya jurnali. 2008. -№ 3.-P.6-10.

12. Б.Холмурадов, Х.Х.Кушиев, З.Тилябаев, Д.Н.Далимов Изучение холинэстераз и карбоксилэстераз кукурузной совки *Pyrausta nubilalis* Hb. //ДАН РУз. 2009. -№2. -С.67-70

13. Б.Қ.Холмурадов, Д.А.Мураткулова Маккажўхори парвонаси (*Pyrausta nubilalis* Hb.) ва олма курти (*Laspeyresia pomonella*) хашаротларининг эстераза ферментлари хоссаларини ўрганиш //ГулДУ ахборотномаси. –2011. -№ 1. –Б.27-34.

14. Б.Қ.Холмурадов, Х.Х.Қўшиев, Д.А.Мураткулова Фосфорорганик ингибиторларнинг токсикологик хусусиятларини ўрганиш. //ГулДУ ахборотномаси. –2011. -№ 2. –Б.24-27.

15. Х.Х.Кушиев, Д.Н.Далимов, З.Тилябаев, Б.Н.Бабаев, Б.Холмурадов. О,О-диэтил–S(пиперидинобутин-2-илтиофосфат, обладающий способностью потенцировать токсичность малатиона. Патент № IAP 20110374. 24.08.2011.

Биология фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Холмурадов Бахтиёр Қаршибоевичнинг 02.00.10 – Биоорганик кимё ихтисослиги бўйича “Олма қурти (*Laspeyresia pomonella* L.) ва маккажўхори парвонаси (*Pyrausta Nubilalis* Hb.)нинг эстераза ферментлари ингибиторлари ва уларнинг синергетик хусусиятлари” мавзусидаги диссертациясининг РЕЗЮМЕСИ

Таянч сўзлар: холинэстераза, карбоксилэстераза, *Laspeyresia pomonella*, *Pyrausta Nubilalis* Hb., фосфорорганик бирикмалар, синергист.

Тадқиқот объекти: олма қурти (*Laspeyresia pomonella* L.) ва маккажўхори парвонаси (*Pyrausta Nubilalis* Hb.) зараркунанда ҳашаротлари.

Ишнинг мақсади: олма қурти ва маккажўхори парвонаси ҳашаротларининг холинэстераза ва карбоксилэстераза ферментлари хоссаларини субстрат-ингибитор усули асосида ўрганиш, улар фаоллигига таъсир этувчи фосфорорганик ингибиторларнинг синергетик хусусиятларини аниқлаш.

Тадқиқот усуллари: тадқиқот жараёнда ҳашаротлар тўқималаридан гомогенатлар тайёрлаш, ферментларни субстрат-ингибитор, электрофаретик, колориметрик ва Карновский ҳамда ингибиторларни токсикологик ва синергетик тадқиқ қилиш усулларида фойдаланилди.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: тадқиқотлар учун танланган маккажўхори парвонаси (*Pyrausta nubilalis* Hb.) ва олма қурти (*Laspeyresia pomonella* L.) зараркунанда ҳашаротларининг кимёвий препаратлар таъсирига кўниккан ва сезувчан популяцияси вакиллари организмлари тўқималарида ҳосил бўладиган ХЭ ва КБЭ ҳамда уларни ҳашаротларнинг бутун онтогенетик ривожланиш босқичларидаги фаоллик динамикаси илк маротаба ўрганилди. КБЭ ферменти фаоллиги асосан ҳашаротларнинг уларга қарши қўлланувчи препаратларга нисбатан мослашган популяцияларида аниқландики, бунда КБЭ ҳашаротлар организми учун ёт модда ҳисобланган инсектицидлар фаоллигига қарама-қарши тарзда ҳосил бўлар экан. Шунингдек, тадқиқотлар учун танланган ҳашаротлар танасидаги ХЭ ва КБЭ ферментлари фаоллиги ва уларнинг фарқланиш даражаси аниқланди.

Амалий аҳамияти: ўтказилган тадқиқотлар зараркунанда ҳашаротларга қарши танлаб таъсир этувчи физиологик фаол моддаларни яратиш ва метаболитик ферментлар фаоллигини бошқариш учун илмий асосланган ишланмалар яратишда асос бўлиб хизмат қилади.

Татбиқ этиш даражаси: тадқиқотлар учун танланган ҳашаротларнинг КБЭ фаоллигига қарши юқори даражада таъсир этиш хусусияти аниқланилган ингибиторлардан уларга қарши ишлатилаётган инсектицидлар синергисти сифатида фойдаланиш мумкин. Шунингдек, диссертация иш натижаларидан олий ўқув юртларида биокимё, ўсимликларни химоя қилиш ва энтомология фанлари ҳамда энзимология махсус курсларини ўқитишда фойдаланиш мумкин.

Қўлланиш соҳаси: биоорганик кимё, экология, энтомология ва кишлок хўжалиги.

РЕЗЮМЕ

диссертации Холмурадова Бахтиёра Каршибоевича на тему:
“Ингибиторы эстераз яблонной плодовой (Laspeyresia Pomonella L.) и кукурузной совки (Pyrausta Nubilalis Hb.) и изучение их синергетических свойств” на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 02.00.10 - Биоорганическая химия

Ключевые слова: холинэстераза, карбоксилэстераза, Laspeyresia pomonella L., Pyrausta Nubilalis Hb., фосфорорганические соединения, синергист.

Объект исследования: яблонная плодовая, кукурузная совка.

Цели исследования: изучение свойств ферментов холинэстеразы и карбоксилэстеразы насекомых яблонной плодовой и кукурузной совки на основе субстрат-ингибиторных методов, а также изучение синергетических особенностей влияющих на активность фосфорорганических ингибиторов.

Методы исследования: в процессе исследования были использованы методы изготовления гомогенатов из ячеек насекомых, субстратно-ингибиторные, электрофоретические, колориметрические методы, метод Корновского при изучении активности ферментов и их свойств, а также методы синергетического и токсикологического исследования ингибиторов.

Полученные результаты и их новизна: впервые изучены ферменты холинэстеразы и карбоксилэстеразы образуемые в клетках организмов представителей популяций, приспособленных к естественным условиям и инсектицидам выбранных для исследования насекомых вредителей яблонной плодовой и кукурузной совки и динамика их активности на КБЭ выявлена на онтогенетических этапах развития насекомых относительно приспособленных к применяемым против них препаратам, из чего выяснено, что КБЭ продуцируется в организме в процессе противодействия активности инсектицидов. Кроме этого, в организме насекомых изучены особенности и активность ферментов ХЭ и КБЭ. На основе анализа сведений литературы и изучения активности ферментов выявлено наличие этих ферментов в клетках насекомых и их активности.

Практическая значимость: выполненные исследования служат основанием для создания физиологически активных веществ и при регуляции активности метаболических ферментов насекомых-вредителей.

Степень внедрения и экономическая эффективность: ингибиторы, у которых выявлены особенности высокого влияния в противодействии активности ферментов КБЭ у выбранных для исследования насекомых, могут быть использованы в качестве синергиста для пестицидов, применяемых в сельском хозяйстве. Кроме того, полученные результаты могут использоваться на занятиях по биохимии, энтомологии и энзимологии, а также для защиты растений.

Область применения: биоорганическая химия, экология, энтомология и сельское хозяйство.

RESUME

Thesis of. Kholmurodov Bahtiyar Karshibaevich on the scientific degree of completion of the doctor of philosophy on biology science, specialty 02.00.10 – Bioorganic chemistry, on the subject: “Study the synergetic properties and influence of inhibitors of esterase of insects of *Laspeyresia pomonella* L. and *Pyrausta Nubilalis* Hb.”

Key words: cholinesterase, carboxylesterase, *Laspeyresia pomonella* L., *Pyrausta Nubilalis* Hb., phosphororganic combinations, synergist.

Object of the research: pest insects of *Laspeyresia pomonella* L. and *Pyrausta Nubilalis* Hb.

The purpose of work: study of cholinesterase and carboxylesterase ferments of the pest insects of *Laspeyresia pomonella* L. and *Pyrausta Nubilalis* Hb. on the basis of subtract – inhibitors methods as well as synergist properties influencing on their phosphororganic inhibitors.

Methods of research: in the process of research, preparation of homogenates from cells of insects, substrate-inhibitors in studying of the activeness and properties of ferments, electrophoreses, calorimetric and Karnovsky methods as well as toxicological and synergetic methods in studying of inhibitors were used.

The obtained results and their novelty: for the first time it has been researched cholinesterase and carboxylesterase ferments of the pest insects of *Laspeyresia pomonella* L. and *Pyrausta Nubilalis* Hb. adapted to natural and pesticides and the activeness dynamics in their ontogeny development. It was established that the activeness of the best adapted populations of carboxylesterase ferments to the pesticides, carboxylesterase is produced against the activeness of the used pesticides in the organisms of insects. Moreover, on the basis of studying their properties and analyzing information of the used literature, it was established that the activeness of cholinesterase and carboxylesterase ferments in the organisms of the selected insects, these ferments exist in the cells of their bodies and their activeness degree variables according to the types of insects and plants, and the conditions where their organs meet.

The practical value: the carried out researches serve as a basis for working out scientifically proved aids on creation physiological active matters against selected insects and ruling metabolic activeness of ferments.

Degree of embed and economic efficiency: the given pesticides can be used as synergist against established inhibitors influencing highly on the activeness of carboxylesterase ferments of selected insects. Moreover, the achieved results of the dissertation can be used as a teaching material on biochemistry, nature defense and entomology as well as on special courses of enzymology in higher education institutions.

Field of application: bioorganic chemistry, ecology, entomology and agriculture.

Босишга рухсат этилди 22.09. 2011. Ҳажми 1,43 босма табоқ.
Бичими 60x84 1/16. Адади 100 нусха.
Буюртма 84. Гулистон давлат университети
босмахонасида чоп этилган.