Лаборатория химии ферментов

Заведующий лабораторией

доктор биологических наук, профессор

Ахунов Али Ахунович

Контакты: тел.: +998 (90) 351 12 06, e-mail: ali.akhunov@gmail.com

Лаборатория химии ферментов создана в 1987 г. на базе группы биохимического анализа Отдела зоо-фитотоксинов Института. Основным научным направлением лаборатории является исследование биологически активных веществ, животного и растительного происхождения. В ядах пауков были впервые выявлены компоненты калликреин – кининовой системы, что дало возможность объяснить некоторые закономерности токсикологического действия ядов на живой организм. Из яда паука каракурта был выделен гомогенный фермент кининаза, по своей специфичности и активности не имеющий аналогов среди ферментов животного и растительного происхождения.

С учетом важности и перспективности исследований в области хлопководства по предложению Академии наук Республики Узбекистан работа лаборатории химии ферментов была переориентирована на структурно-функциональные исследования биологически активных компонентов хлопчатника. Перед лабораторией была поставлена задача исследовать белки и ферменты, участвующие в росте и развитии хлопчатник.

Научное направление:

- изучение молекулярных механизмов фитоиммунитета хлопчатника при действии биотических и абиотических факторов, сигнальных систем, определяющих индукцию иммунных ответов; изучение роли ферментов про-/антиоксидантной системы хлопчатника и стрессовых фитогормонов в проявлении ответных реакций при засолении почв и фитопатогенов; изучение механизма действия физиологически активных природных соединений, как регуляторов роста и развития хлопчатника, на основе ферментных маркеров для дальнейшего их использования в системе новых биотехнологий; изучение роли фитогормонов в адаптивных реакциях хлопчатника, связанных с воздействием неблагоприятных факторов среды.

- изучение механизма прооксидантной и антиоксидантной системы и стрессовых фитогормонов хлопчатника при действии фитопатогенов и засолении;

- исследование механизма индуцированной устойчивости хлопчатника и пшеницы при действии препаратов глицирризиновой кислоты выделенных из корней солодки и супрамолекулярного комплекса, выяснить закономерность пролонгирующей активности низкомолекулярных компонентов и ферментов антиоксидантной системы хлопчатника при стрессах;



- изучение роли ферментов антиоксидантной системы и фитогормонов как биохимических маркеров оценки хозяйственно ценных признаков у элитных сортов, видов, разновидностей и линий хлопчатника с целью ускорения процесса выведения новых сортов хлопчатника, устойчивых к стрессам и высоким хозяйственно ценным признакам.
- разработка персональных рекомендаций по применению препаратов нового поколения (ДАГ-1, ДАГ-2) и химических средств с учетом антиоксидантного статуса каждого генотипа хлопчатника и определенных почвенно-климатических условий.
- участие в разработке комплексного персонализированного подхода при выращивании отдельных генотипов хлопчатника, на основании молекулярно-биохимической оценки про/-антиоксидантного статуса хлопчатника при применении современных экологически безопасных природных биостимуляторов;
- изучение биологической активности и механизма действия новых композиций полученных на основе фунгицидов и стимуляторов природного происхождения.

Наиболее важные результаты:

Исследован биохимический механизм устойчивости хлопчатника к вилту вызываемому фитопатогенами *Verticillium dahliae* и *Fusarium oxysporum.* Впервые была разработана тест-система по ускоренному методу определения вилтоустойчивости элитных сортов, видов, разновидностей и линий хлопчатника, технология была апробирована и внедрена в НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка при выведении новых сортов хлопчатника.

Впервые в институте получены препараты нового поколения супромолекулярного комплекса глицирризиновой кислоты и ее солей (ДАГ-1 и ДАГ-2), выявлена их стимулирующая и пролонгирующая активность на ферменты антиоксидантные системы устойчивости хлопчатника к фитопатогенам и засолению почв.

На основе разработанной технологии индицирования системной пролонгированной устойчивости хлопчатника при действии препаратов нового поколения, возникла возможность повысить иммунный потенциал хлопчатника, что приводит к повышению урожая, и качества хлопкового волокна. Препараты ДАГ-1 и ДАГ-2 рекомендуются к широкому применению в хлопководстве с целью их защиты от фитопатогенов, при засолении почв, а также улучшения хозяйственно-ценных признаков хлопчатника (качества хлопкового волокна, увеличения массы хлопка-сырца одной коробочки, выход волокна). На засоленных почвах урожайность хлопчатника повышается на 5 – 8 ц/га.

Получены 3 патента Агенства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан: № IAP 04619 (2012 г) «Способ получения гомогенной хитин-специфичной пероксидазы из проростков хлопчатника для применения в тетст системе на устойчивость к вилту»; № IAP 05005 (2015 г) «Способ определения устойчивости сортов хлопчатника к вилту»; № IAP 05090 (2015 г) «Способ борьбы с вертициллезным увяданием хлопчатника».
Получено токсиколого-гигиеническое заключение на препараты ДАГ-1, ДАГ-2 от НИИ Санитарии, гигиены и профзаболеваний Минздрава РУз (2014 г).
На препараты ДАГ-1 и ДАГ-2 имеются «Свидетельство» Государственной комиссии по средствам химизации и защиты растений Республики Узбекистан (23.01.2015., №1А 946 и 09.02.2016., №1А 1156) и внесены в «Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для широкого применения в Республике Узбекистан».
Изучены ответные реакции хлопчатника к засолению и дефициту влаги с участием абсцизовой кислоты, ауксина и основных защитных белков на начальных этапах роста и развития хлопчатника. Выявлена ведущая роль участия антиоксидантных ферментов и осмопротекторов в защитной функции различных сортов хлопчатника на ранней стадии действия абиотических факторов.

Результаты проведенных исследований являются основой для дальнейшего изучения механизмов взаимодействия различных систем передачи сигналов в растительную клетку, биохимических процессов в растении, связанных с регуляцией иммунитета, роста и развития, с целью создания экологически безопасных методов повышения устойчивости сельскохозяйственных культур.

Практическая значимость результатов

На сегодняшний день испытание селекционных материалов требует значительных экономических затрат, времени и площадей, искусственно созданных инфекционных фонов. Проводимые инновационные исследования дали возможность внедрить в практики метод оценки селекционного материала на основе использования моноспецифических антител. По заключению специалистов за счет круглогодичного, независимо от полевого сезона, использования ускоренной тест-системы для отбора родительских форм и линий время выведения нового сорта хлопчатника сокращается до 5-6 лет, вместо 10. Использование тест-системы позволит создать совместно с селекционерами коллекционную базу растительного материала, обладающего различными технологическими характеристиками, и высокую резистентность к поражению вертициллезным вилтом. В настоящее время разработанный метод применяется НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка, что дает возможность значительно ускорить процесс выведения скороспелых, высокопродуктивных, отличающихся высоким качеством и количеством волокна сортов хлопчатника.

На основе изученного биохимического механизма препаратов глицирризиновой кислоты из корней солодки (ДАГ-1 и ДАГ-2) было впервые доказано, что они являются индукторами повышения устойчивости хлопчатника к фитопатогенам и засолению. Установлено, что одним из механизмов действия препарата ДАГ-1 при заражении хлопчатника патогенами является активация различных изоформ пероксидазы, присоединяясь к молекулам этого фермента, салициловая кислота в составе препарата ДАГ-1 увеличивает синтез активных форм кислорода, что приводит к увеличению защитных реакций в хлопчатнике. Очевидно, этим эффектом салициловой кислоты следует связать и пролонгирующую активность ферментов фитоиммунитета, и действия ДАГ-1, что активируют

внеклеточную пероксидазу, ответственную за устойчивость хлопчатника. Эти препараты в 10^{-7}М существенно повышали активность ферментов про- /антиоксидантной системы, ответственных за устойчивость хлопчатника к стрессам.

Согласно письмам Хокимията Сырдарьинской области, Управления сельского и водного хозяйства, Центра защиты растений Сырдарьинской области институт получил разрешения на проведение производственных испытаний в 2017 г созданных препаратов природного происхождения ДАГ-1 и ДАГ-2 на 500 гектарах засоленных почвах 55 фермерских хозяйств Сырдарьинской области. Отмечалось повышение урожайности хлопка – сырца в фермерских хозяйств от 5 ц/га до 8 ц/га, на что имеются соответствующие документы.

В 2018 году проводились широкомасштабные испытания препарата ДАГ-1 на засоленных почвах Сырдарьинской области: были заключены договора с Узбекско-Британским предприятием ООО «Bek cluster» на 200 га и 11 фермерскими хозяйствами области для обработки хлопчатника на 305 га засоленных земель.

На фермерских хозяйствах «Bek cluster» в 2018 году по сравнению с контролем собранный урожай повысился на 5,7 центнера с гектара, при увеличении всхожести семян на 7%. В остальных фермерских хозяйствах урожайность повысилась на 5,6 центнера с гектара. В хозяйствах Ташкентской области Юкори - Чирчикского района на 4,0 центнера с гектара. На эти результаты согласно договорам получены соответствующие документы от всех хозяйств.

Полученные результаты по изучению молекулярных механизмов антиоксидантных ферментов хлопчатника могут быть использованы при проведении экологической экспертизы для оценки состояния хлопчатника и долгосрочных прогнозов ее адаптации к действию различных стресс-факторов.

Планы на будущее:

- выявить влияние препарата ДАГ-1 (на основе глицирризиновой и салициловой кислоты) на различные изоформы пероксидазы хлопчатника с целью изучения их молекулярного механизма при индуцированной устойчивости хлопчатника к стрессам;
- изучить механизм индуцированного накопления пролина, маллонового диальдегида, представителей прооксидантной системы, их взаимосвязи с салициловой кислотой и ферментами антиоксидантной системы хлопчатника при засолении и влиянии новых исследуемых препаратов природного происхождения и химических соединений;
- продолжить совместно с НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка (лаб. стимуляторов) изучение эффекта индукторов устойчивости ДАГ-1 и ДАГ-2 на урожайность и адаптационные характеристики различных сортов хлопчатника на основе маркеров антиоксидантной системы в полевых условиях с целью снижения кратности расходных норм применяемых химических препаратов и импортных препаратов (“Байкал ЭМ-1”, “Гуммимакс”, “Вымпел”, “Альбит”);
- на основании проведенных испытаний препаратов ДАГ-1, ДАГ-2 включающих в себя биохимический контроль проростков хлопчатника, семена которых были обработаны препаратами на 500 га в Сырдарьинской области (200 га засоленных почв в хозяйстве “Бек кластер” и 300 га в фермерских хозяйствах. Внедрить препараты с оформлением соответствующих документов (бизнес план, лицензионные договора и т.д.)).
- на основания распоряжения Кабинета Министров Республики Узбекистан от 14 октября 2018 № 850-Ф будут проведены исследования по персональному применению препаратов ДАГ-1, ДАГ-2 и других биостимуляторов в проявлении устойчивости новых сортов хлопчатника при различных почвенной климатических условиях в хлопкосеющих областях республики;

- создание композиций препаратов повышающих иммунную систему хлопчатника совместно с фунгицидами с целью повышения устойчивости семян хлопчатника от засоления и неблагоприятных факторов окружающей среды;

Научные связи:

НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка АН РУз, Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Гулистанский государственный университет Министерства высшего образования.

Авторские свидетельства и патенты:

1. ДСП. Авторское свидетельство по прикладным наукам №137257. 1979. А.С.Садыков, Х.А. Асланов, А.А. Ахунов.

2. Способ получения сыворотки против яда пауков *Latrodectus*. Авторское свидетельство № 1027866. 1980. В.С.Сафарова, А.С.Садыков, У.А.Арипов, А.А. Ахунов.

3. Способ получения фермента кининазы. Авторское свидетельство №971340. 1982. А.С.Садыков, А.А. Ахунов, З.Голубенко.

4. Способ определения активности ацетилхолинэстеразы. Авторское свидетельство №3812534. 1982. А.А.Таканаев, О.Н.Вешкурова, А.В.Карась, А.С.Садыков, А.А. Ахунов.

5. Способ получения меченого ^{125}I-индикатора кининов. Авторское свидетельство №4269465/31-04. 1988. А.А. Ахунов, В.М.Львов, А.А.Колмакова.

6. Способ очистки ферментных препаратов. Авторское свидетельство №4847376. 1991. А.А. Ахунов, М.М.Рахимов, Н.А.Абдурашидова, Ш.К.Наврузов.

7. Способ выделения ингибитора ангиотензин-1-превращающего фермента из яда животного происхождения. Авторское свидетельство № 1730088. 1992. А.А. Ахунов, З.Голубенко, Соснина Н.А.

8. Способ прогнозирования качества волокна хлопчатника. Патент № 04370, 2000. А.А. Ахунов, З. Голубенко, Э.Мустакимова, Н.А.Абдурашидова, Ф.А.Ибрагимов, Ю.В.Береснева.

9. Способ получения пероксидазы из листьев хлопчатника. Патент № АР 02862, 2005 г.; А.А. Ахунов, З.Голубенко, Н.А.Абдурашидова, Ф.А.Ибрагимов, Г.О.Акбарова, Э.Ч.Мустакимова.

10. Способ испытания Пикса и Морфонола на хлопчатнике. Патент № 03224 31.10.2006. А.А. Ахунов, Э.Ч.Мустакимова, Ф.А.Ибрагимов.

11. Способ выделения гомогенной хитин-специфичной пероксидазы из проростков хлопчатника для использования в тест-системе на устойчивость к вилту. Патент № IAP 04619 30.11.2012 г. А.А. Ахунов, Н.Хашимова, З. Голубенко, Е.Пшеничнов, С.Вшивков.

12. Способ выделения белка-ингибитора глюкансинтазы из голосеменной линии хлопчатника. Патент № IAP 70100602, 17.12.2010 г. А.А. Ахунов, З.Голубенко, Н.А.Абдурашидова, Э.Ч.Мустакимова, Е.А.Пшеничнов, С.О.Вшивков.

13. Способ определения устойчивости сортов хлопчатника к вилту. Патент № IAP 05005 2015 г. А.А. Ахунов, Н.Р. Хашимова, Е.А.Пшеничнов, В.А. Автономов, Ш.Б.Амантурдиев.

14. Способ борьбы с вилтом хлопчатника. Патент № IAP 05090 16.09.2015 г. А.А. Ахунов, Н.Р. Хашимова, Е.А.Пшеничнов, В.А. Автономов, Д.Н. Далимов, О.Д. Матчанов, М.Б. Гафуров.

Публикации:

1. Some Aspects of Interaction between Cotton Anionic Peroxidase and *Verticillium dahliae* Kleb. The Asian and Australian Journal of Plant Science and Biotechnology. 2013. 7 (2), A.A.Axunov, N.R. Khashimova, E.Pshenichnov, S Vshivkov, E Mustakimova, Z Golubenko, R. Stipanovic.

2. The Effect of Phytohormones on the Dynamis of Protein Biosynthesis and Enzyme Activity in Linted and Naked Cotton Seed. The Asian and Australian Journal of Plant Science and Biotechnology. 2013. 7 (2). A.A.Axunov, Z. Golubenko, E Mustakimova, N.Abdurashidova, E Pshenichnov, S Vshivkov, R Stipanovic.

3. Изменения содержания эндогенных фитогормонов и белков при воздействии абиотических стрессов на хлопчатник. Химия природных соединений. 2013, №2. 274-276. А.А.Ахунов, З.Голубенко, Н.А.Абдурашидова, Э.Ч.Мустакимова, А.А.Ахунов, С.О.Вшивков, Е.А.Пшеничнов. ХПС. 1913.

4. Влияние солей глицирризиновой кислоты на активность ферментов каллусных культур хлопчатника при воздействии *Verticillium dahliae.* Вавиловские чтения. Самара, Росия, ноябрь 2014 г. С.156-160. А.А.Ахунов, Н.Р.Хашимова, В.А. Автономов, Л.А. Ларина.

5. Применение протеомной технологии при оценке устойчивости вертициллезному вилту линейного материала хлопчатника вида *G.hirsutum* L. Вавиловские чтения. Самара, Росия, ноябрь 2014 г.С. 161-164. А.А.Ахунов, Н.Р. Хашимова, В.А.

6. Влияние лазерного излучения на некоторые физиолого-биохимические процессы хлопчатника. Вавиловские чтения. Самара, Росия, ноябрь 2014 г.С. 165-169. А.А.Ахунов, Н.Р.Хашимова, М.А.Мамасолиева, Ф.Асадов, В.А. Автономов, А.М..

7. Анализ функционирования защитных систем хлопчатника в условиях засоления и дефицита влаги. «Узбекский биологический журнал» 2014 №6 3-7 стр. А.А.Ахунов, З.Голубенко, Н.А.Абдурашидова, Э.Ч.Мустакимова.

8. Влияние комплекса глицирризиновой и салициловой кислот на активность фенилаланин аммоний-лиазы и содержание свободной салициловой кислоты в листьях хлопчатника при инфицировании грибом *F. oxysporum.* Вавиловские чтения, 2015, Самара, Россия С. 171-174. Н.Р.Хашимова, М.А. Мамасолиева, С.Б. Наврузов, А.А. Ахунов, В.В. Узбеков, В.А. Автономов.

9. Диглицирризинаты –Журнал Доклады Академии Наук РУз, 2015, № 5, С.52-56. препараты нового поколения, повышающие устойчивость хлопчатника к *Verticillium dahliae*. А.А.Ахунов, Н.Р.Хашимова, Далимов Д.Н., Автономов Вик. А., Мамасолиева М.А.

10. Биохимические признаки качества волокна и устойчивости к вилту при выведении новых сортов хлопчатника. Узбекистан аграр фани хабарномаси. 2016, №1. А.А.Ахунов, Н.А.Абдурашидова, З.Голубенко, Э.Ч.Мустакимова, Н.Р.Хашимова, В.А. Автономов

11. Супрамолекулярный комплекс глицирризиновой кислоты с салицилдовой кислотой – экологически безопасный индуктор устойчивости хлопчатника. Узбекиский химический журнал. -2016. №4.-С.92-96. Н.Р.Хашимова, М.А.Мамасолиева, М.Б.Гафуров.

12. Влияние салициловой кислоты на цитофизиологические реакции хлопчатника, инфицированной *Verticillium dahliae.* Узбекистон Миллий университети хабарлари – 2016. №2. С.130-133.

13. Биохимический анализ устойчивости линий хлопчатника *G .hirsutum* L. к вертициллезному вилту // Ўзбекистон Миллий университети хабарлари - 2016. - №2/3. – С.146-149. .Хашимова Н.Р., Мамасолиева М.А., Бабаева Д.Т.

14. Влияние салициловой кислоты на цитофизиологические реакции хлопчатника, инфицированной *Verticillium dahliae //* Ўзбекистон Миллий университети хабарлари. Ташкент, 2016. - №2/3. – С.153-157. Хашимова Н.Р., Ахунов А.А., Мамасолиева М.А., Бабаева Д.Т.

15. Использование биохимических показателей признаков качества волокна при выведении новых сортов хлопчатника устойчивых к вилту. Узбекский биологический журнал 2017, №1 С 3-7. А.А.Ахунов, Н.А.Абдурашидова, Н.Р.Хашимова, С.Б.Наврузов, К.М.Кулдошова.

16. Some biochemical parameters of cotton fiber quality and vilt resistance used in selection of novel cotton cultivars. 76th Plenary Meeting of the ICAC. Digest of scientific and technical achievements. 2017, P. 28-30. Akhunov A.A., Avtonomov V.A., Golubenko Z., Hashimova N.R., Navruzov S.B., Kuldasheva K.M.

17. Оценка антиоксидантного статуса как модель при исследовании устойчивости хлопчатника к хлоридному засолению. II международный симпозиум. Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений, Уфа, 26-30 июня 2017 г., С.95-98. З.Голубенко, А.А.Ахунов, С.Б.Наврузов, Г.А.Акбарова, К.М.Кулдошова.

18. Оценка гибридного материала на устойчивость к *VERTICILLIUM DAHLIAE KLEBHAN* с применением маркерных ферментов фитоиммунитета. Аграрная наука. 2019; (7-8): С. 54-56. Ахунов А.А., Курбонов А.Е., Хашимова Н.Р., Автономов В.А.

19. Study and Identification of highly Resistant Hybrides to *VERTICILLIUM DAHLIAE*, by the enzyme peroxidase. International journal of Bio-Science and Bio-technoligy. ISSN: 2233-7849, V.11-Issue-8-August-2019. A.A.Akhunov, A.Y.Kurbonov, N.R.Hashimova, V.A. Avtonomov.