

ОЦЕНКА ГИБРИДНОГО МАТЕРИАЛА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEBHAN С ПРИМЕНЕНИЕМ МАРКЕРНЫХ ФЕРМЕНТОВ ФИТОИММУНИТЕТА

ASSESSMENT OF HYBRID MATERIAL FOR RESISTANCE TO *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEBHAN WITH THE APPLICATION OF PHYTOIMMUNITY MARKER ENZYMES

Ахунув А.А.¹, Курбонов А.Ё.², Хашимова Н.¹, Автономов В.А.²

¹ Институт биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова АН РУз (ИБОХ)
Узбекистан, г. Ташкент

² Научно-исследовательский институт селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка (НИИССАВХ)
Узбекистан, Ташкентская обл.

Akhunov A.A.¹, Kurbonov A.E.², Khashimova N.¹, Avtonomov V.A.²

¹ Institute of Bioorganic Chemistry named after Academician A.S. Sadykov
Uzbekistan, Tashkent

² Scientific Research Institute of Breeding, Seed Production and Agricultural Technology of Cotton Growing
Uzbekistan, Tashkent region

Целью работы является проведение оценки устойчивости селекционно значимых межлинейных гибридов F_6 к *V. dahliae*, созданных в НИИССАВХ в качестве исходного материала для селекции. 21 образец подобран сотрудниками НИИССАВХ и передан для проведения соответствующего биохимического анализа в Институт биоорганической химии АНРУз. В эксперименте определили активность пероксидазы, выявили активность её в проростках семян хлопчатника, а также установили отзывчивость на поражение *V. dahliae*. В результате проведенных исследований протестированы семена 21 различного гибрида хлопчатника с целью изучения активности фермента хитин-специфичной пероксидазы. Для этого использованы проростки семей гибридных комбинаций хлопчатника с целью отбора селекционного материала, обладающего высокой устойчивостью к *Verticillium*. В работе при оценке на устойчивость к *V. dahliae* использовали биохимические тесты с применением маркерных ферментов фитоиммунитета — хитин специфичной пероксидазы. В результате проведенного биохимического исследования в лабораторных условиях установлено, что к устойчивым к поражению патогеном *V. dahliae* среди изученных образцов следует отнести сложную межлинейную комбинацию $F_6[F_4\text{-Л-}105 \times \text{Л-}108] \times \text{Л-}104$. Семья, выделенная из гибрида $F_6[F_4\text{-Л-}105 \times \text{Л-}106] \times \text{Л-}106$, использована в качестве родоначальной семьи при выведении нового сорта хлопчатника С-6577, который передан для изучения на Государственное испытание с 2018 года.

Ключевые слова: сорт, фермент, пероксидаза, хлопчатник, гибрид, устойчивость, вертициллиозный вилт.

Для цитирования: Ахунув А.А., Курбонов А.Ё., Хашимова Н., Автономов В.А. ОЦЕНКА ГИБРИДНОГО МАТЕРИАЛА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEBHAN С ПРИМЕНЕНИЕМ МАРКЕРНЫХ ФЕРМЕНТОВ ФИТОИММУНИТЕТА. Аграрная наука. 2019; (7–8): 54–56.
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-330-7-54-56>

The aim of the work is to assess the sustainability of breeding significant interline hybrids F_6 to *V. dahliae*, created in NISSVAH as a starting material for breeding. 21 samples were selected by the NISSVAH staff and the Institute of Bioorganic Chemistry ANRUZ and transferred for the relevant biochemical analysis. In the experiment, they determined the activity of peroxidase, then they revealed its activity in seedlings of cotton seeds, and also established responsiveness to the defeat of *V. dahliae*. As a result of the research, the seeds of 21 different cotton hybrids were tested to study the activity of the chitin-specific peroxidase enzyme. For this purpose, seedlings of families of hybrid combinations of cotton were used in order to select a breeding material with high resistance to *Verticillium*. In the work on the assessment of resistance to *V. dahliae*, biochemical tests were used using phytoimmunity marker enzymes — chitin specific peroxidase. As a result of a biochemical study in the laboratory, it was established that the complex interline combination $F_6[F_4\text{-L-}105 \times \text{L-}108] \times \text{L-}104$ should be attributed to the pathogen-resistant *V. dahliae* among the studied samples. The family isolated from the F_6 hybrid $[F_4\text{-L-}105 \times \text{L-}106] \times \text{L-}106$ was used as a parental family when breeding a new variety of cotton C-6577, which was transferred for study to the State test from 2018.

Key words: variety, enzyme, peroxidase, cotton, hybrid, resistance, verticilliosis wilt.

For citation: Akhunov A.A., Kurbonov A.E., Khashimova N., Avtonomov V.A. ASSESSMENT OF HYBRID MATERIAL FOR RESISTANCE TO *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEBHAN WITH THE APPLICATION OF PHYTOIMMUNITY MARKER ENZYMES. 2019; (7–8): 54–56. (In Russ.)
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-330-7-54-56>

Введение

Выведение сортов хлопчатника, устойчивых к *V. dahliae*, или повышение устойчивости к этому заболеванию существующих сортов — весьма сложная задача. В природе идет постоянная эволюция хозяина и паразита, что способствует появлению более вирулентных рас гриба, способных поражать ранее устойчивые к *V. dahliae* сорта и формы. В связи с этим проблема выведения вилтоустойчивых сортов, устойчивых к *V. dahliae* хлопчатника, осложняется поиском новых методов и доноров устойчивости к возбудителю болезни. Разработка и усовершенствование методики подбора родительских пар при гибридизации и качественной оценке межвидовых гибридов на ранних стадиях селекционного процесса позволили бы рационализировать и увеличить эф-

фективность селекции, ускорить процесс выведения, а значит и внедрения в производство новых сортов хлопчатника.

Селекция хлопчатника ведется в основном на фенотипические показатели, и чаще всего такие сорта либо недостаточно устойчивы к различным заболеваниям, либо не имеют высокого технического качества волокна и т.д. Заболевание хлопчатника при поражении *Verticillium dahliae* Klebhan выражается главным образом в глубоком изменении у растений физиолого-биохимических процессов. Согласно этому отбор должен проводиться на основе знаний физиологии и биохимии признаков устойчивости исходного селекционного материала, т.е. начальный этап селекции должен базироваться на тест-признаках резистентности, которые свя-

заны с каталитической активностью некоторых ферментов, участвующих в формировании фитоиммунитета против грибных поражений (пероксидазы).

Пероксидаза является ферментом группы оксидоредуктаз. Она принимает активное участие в окислении фенолов, суберенизации и лигнификации клеточных стенок растений в ответ на заражение фитопатогенами [1, 3]. Такой механизм устойчивости связан с индукцией активности пероксидазы [10, 11]. Большинство исследований, связанных с изучением взаимодействия растения и патогена, показывают, что накопление лигнина и фенольных соединений коррелирует с устойчивостью растений к заболеванию [2, 8].

Материалы и методы

Исследования проводили в институте биорганической химии АН РУз.

Из НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопчатника МСВХ был представлен 21 образец для изучения активности основного фермента — маркера устойчивости хитин-специфичной пероксидазы у гибридного и селекционного материала к *V. dahliae*.

Определение хитин-специфичной пероксидазы (ИФА) проводили по методике Н.Р. Хашимовой. ИФА на 96-луночных планшетах.

Статистическая обработка материала — в соответствии с методикой Ребровой О.Ю., включала в себя проверку гипотезы о соответствии табличных данных закону нормального распределения средствами программы анализа данных AtteStat, v.10.9.6, работающей как надстройка программы «Microsoft Excel-2007», с использованием модулей «Проверка нормальности» и «Обработка выбросов». Далее производили расчет среднего значения и среднеквадратичного отклонения σ с помощью модуля «Описательная статистика». При расчете этих показателей применяли параметрические критерии.

Результаты

В нашей работе при оценке на устойчивость к *V. dahliae* проводили исследования по изучению наследования устойчивости на основе использования фермента — маркера устойчивости (пероксидазы), отвечающей за фитоиммунитет хлопчатника, при заражении семидневных проростков штаммами гриба *V. dahliae*, выделенных из почвы провокационного фона НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии

Таблица 1.

Активность пероксидазы в проростках исследуемых образцов хлопчатника ($n = 3$; $M \pm m$)

Table 1. Peroxidase activity in seedlings of cotton samples under study ($n=3$; $M \pm m$)

№	Гибридные комбинации	Активность ферментов	
		пероксидаза	
		контроль	опыт
1	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-105	427,8±1.2	350,3±3.0
2	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-105	428,9±1.8	380,1±2.5
3	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-105	435,6±2.1	375,5±1.2
4	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-105	429,5±3.4	301,7±1.0
5	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-105	423,9±1.9	398,6±1.7
6	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-105	425,2±1.4	369,2±1.4
7	F ₆ [F ₄ -Л-101 x Л-108] x Л-102	311,5±2.4	362,9±1.7
8	F ₆ [F ₄ -Л-101 x Л-108] x Л-102	332,6±1.9	347,5±1.8
9	F ₆ [F ₄ -Л-101 x Л-108] x Л-102	361,6±1.1	369,2±2.8
10	F ₆ [F ₄ -Л-101 x Л-108] x Л-102	338,1±2.0	359,8±2.7
11	F ₆ [F ₄ -Л-101 x Л-108] x Л-102	369,8±1.3	395,9±2.6
12	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-106	223,8±1.6	270,9±2.4
13	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-106	217,4±1.5	272,4±1.4
14	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-106	238,6±1.0	268,9±1.6
15	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-106] x Л-106	230,9±1.9	275,4±1.8
16	F ₆ [F ₄ -Л-105 x Л-108] x Л-104	216,8±2.0	567,3±1.0
17	F ₆ [F ₄ -Л-103 x Л-106] x Л-102	225,4±2.3	276,3±1.2
18	F ₆ [F ₄ -Л-103 x Л-106] x Л-102	224,8±2.5	280,1±1.8
19	F ₆ [F ₄ -Л-103 x Л-106] x Л-102	221,2±1.5	270,9±1.4
20	F ₆ [F ₄ -Л-103 x Л-106] x Л-102	227,3±1.5	285,4±2.8
21	F ₆ [F ₄ -Л-103 x Л-106] x Л-102	219,9±1.3	269,9±2.0



при выращивании хлопчатника МСВХ РУз. В результате проведенного биохимического исследования установлено, что наиболее перспективной и устойчивой к *V. dahliae* стала гибридная комбинация F₆ [F₄-Л-105 x Л-108] x Л-104 (табл.).

Как видно из таблицы, у гибрида $F_6[F_4\text{-Л-105} \times \text{Л-108}] \times \text{Л-104}$ уровень активности фермента пероксидазы в опытных вариантах в присутствии гриба *V. dahliae* многократно повышается. Повышение активности пероксидазы свидетельствует о формировании системной устойчивости хлопчатника и синтезе лигнина, который препятствует проникновению и распространению гриба в сосудистой системе растения.

При диагностике устойчивости к стрессовым факторам большого числа сортов целесообразно применять принцип поэтапной оценки [7]. Согласно этому принципу на первом этапе работы с помощью одного из наиболее производительных методов (обычно основанного на механизме отбора в популяции) всему набору изучаемых образцов дается первичная оценка устойчивости. В результате выделяется группа устойчивых образцов, составляющая чаще всего около 7–10% от общего числа оцениваемых.

На втором этапе оценке подвергаются только сорта этой группы, причем в работе используется уже комплекс из нескольких методов. Таким образом, выде-

лившиеся гибриды, обладающие повышенной устойчивостью к *V. dahliae*, получают углубленную оценку, уточняющую результаты первичной диагностики. Наиболее перспективные высокоустойчивые гибриды этой группы проходят третий этап оценки с помощью вегетационного метода и с учетом депрессии урожая от стресса, что дает возможность сравнительно быстро и достаточно точно выявить наиболее устойчивые к *V. dahliae* гибриды из большого числа оцениваемых образцов.

Выводы

В результате анализа проведенных исследований следует сказать, что:

- на основе определения активности хитин-специфичной пероксидазы из 21 семмб сложных межлинейных гибридов F_6 выявлена одна межлинейного происхождения $F_6[F_4(\text{Л-105} \times \text{Л-108}) \times \text{Л-104}]$;

- семья, выделенная из гибрида $F_6[F_4(\text{Л-105} \times \text{Л-106}) \times \text{Л-106}]$, использована в качестве родоначальной семьи при выведении нового сорта хлопчатника С-6577, который передан для изучения на конкурсное испытание с 2018 года.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akbarova G.O. "Investigation of proteins responsible for the pubescence of seeds of cotton plant genetic lines". kand.diss., Tashkent, 2006.
2. Breusegem F.V., Vranova E., Dat J.F., Inze D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science. — 2001. — V. 161. — P. 405–414.
3. Blee K.A., Anderson A.J. Defense-related transcript accumulation in Phaseolus vulgaris L. colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices. Plant Physiology. — 2006. — V. 110. — P. 675–688.
4. Cochrane F.C., Davin L.B., Lewis N.G. The Arabidopsis phenylalanine ammonia lyase gene family: kinetic characterization of the four PAL isoforms. Phytochemistry. — 2004. — № 65. — P. 1557–1564. 165
5. Ivachenko L.E. Influence of weather conditions of cultivation on morphological parameters and biochemical composition of wild soybean // Bulletin of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences. 2011. — No. 4. — P. 62–72.
6. Gambarova N.G. Comparison of the features of the action of high temperature and exogenous hydrogen peroxide on the activity of the antioxidant system of wheat chloroplasts // Vestnik MGOU. Series "Natural Sciences". 2011. — No. 2. — P. 28–33.
7. Гончарова Э.А. Стратегия диагностики и прогноза устойчивости сельскохозяйственных растений к погоднo-климатическим аномалиям // Сельскохозяйственная биология. — 2011. — № 1. — P. 24–31
8. Lin C.C., Kao C.H. Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings. Plant and Soil. 2001. — V. 230. — P. 135–143.
9. Mandre M. Relationships between lignin and nutrients in Picea abies L. under alkaline air pollution. Water Air Soil Poll. — 2002. — V. 133. — P. 361–377.

ОБ АВТОРАХ:

Ахунув Али А., доктор биологических наук, профессор
Курбонов Абдоржон Ёркинович, кандидат с.-х. наук, старший научный сотрудник
Хашимова Нигора, доктор биологических наук, старший научный сотрудник
Автономов Виктор Александрович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор

REFERENCES

1. Akbarova G.O. Investigation of proteins responsible for the pubescence of seeds of cotton plant genetic lines: kand. dis. Tashkent, 2006.
2. Breusegem F.V., Vranova E., Dat J.F., Inze D. The role of active oxygen species in plant signal transduction // Plant Science. 2001. V. 161. P. 405–414.
3. Blee K.A., Anderson A.J. Defense-related transcript accumulation in Phaseolus vulgaris L. colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices. Plant Physiology. 2006. V. 110. P. 675–688.
4. Cochrane F.C., Davin L.B., Lewis N.G. The Arabidopsis phenylalanine ammonia lyase gene family: kinetic characterization of the four PAL isoforms // Phytochemistry. 2004. № 65. P. 1557–1564. 165.
5. Ivachenko L.E. Influence of weather conditions of cultivation on morphological parameters and biochemical composition of wild soybean // Bulletin of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences. 2011. No. 4. P. 62–72.
6. Gambarova N.G. Comparison of the features of the action of high temperature and exogenous hydrogen peroxide on the activity of the antioxidant system of wheat chloroplasts // Vestnik MGOU. Series "Natural Sciences". 2011. No. 2. P. 28–33.
7. Goncharova E.A. Strategy of diagnostics and prediction of the stability of agricultural plants to weather and climate anomalies // Agricultural biology. 2011. № 1. P. 24–31. (In Russ.)
8. Lin C.C., Kao C.H. Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings // Plant and Soil. 2001. V. 230. P. 135–143.
9. Mandre M. Relationships between lignin and nutrients in Picea abies L. under alkaline air pollution // Water Air Soil Poll. 2002. V. 133. P. 361–377.

ABOUT THE AUTHORS:

Ali A. Akhunov, Doctor of Biological Sciences, Professor
Abdorjon E. Kurbonov, Candidate Agricultural Sciences, Senior Researcher
Nigora Khashimova, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher
Viktor A. Avtonomov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor