
**ТОШКЕНТ ВИЛОЯТИ ЧИРЧИҚ ДАВЛАТ ПЕДАГОГИКА
ИНСТИТУТИ**

В.Б. ФАЙЗИЕВ

**КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИНГ ЗАМОНАВИЙ ДИАГНОСТИКАСИ
ВА ИЛМИЙ АСОСЛАНГАН КУРАШ ЧОРАЛАРИ**



“Lesson press”

Тошкент – 2021

КБК: 42.151
УЎК: 633.491(575.1)

Файзиев В.Б. Картошка вирусларининг замонавий диагностикаси ва илмий асосланган кураш чораралари//Монография. -Тошкент: “Lesson press” нашриёти, 2021. 125 бет.

Ушбу монографияда картошка ўсимлигининг вирусли касалликлари ва уларнинг табиий резерватор ўсимликлари, вирусларнинг тоза перапаратини олиш, специфик зардоб олиш ва унинг қўлланилиши ҳамда вирусларни аниқлашнинг иммунофермент анализи каби замонавий усуллари қўллаб олинган натижалар тажрибалар асосида ёритилган.

Ушбу монография фитовирусология, биология ва қишлоқ хўжалиги соҳаларидаги бакалавр, магистрлар, илмий-тадқиқотчилар ва ўсимликларни ҳимоя қилиш ҳамда карантин соҳасида фаолият юритаётган мутахассислар учун мўлжалланган.

Масъул муҳаррир: б.ф.д., проф. А.Ҳ. Ваҳобов

Тақризчилар: б.ф.ф.д. Т.С. Хусанов
б.ф.н., доц. Л.Н. Эгамбердиева

Монография Тошкент вилояти Чирчиқ давлат педагогика институтининг 2021 йил «03» «сентябрдаги» 4-сонли баёни қарорига мувофиқ нашрга тавсия этилган.

ISBN: 978-9943-7712-3-9

© “Lesson Press” нашриёти, 2021 й.

КИРИШ

Охирги йилларда ўсимлик, ҳайвон, микроб биотехнологияси билан бир қаторда, вируслар биотехнологияси ҳам ривожланмоқда. Ген муҳандислигида бактериофагларни (λ , бир занжирли бактериофаглар) вектор сифатида ишлатиш, вакциналар, вирусга қарши вакциналар, ген инженерия йўлида тайёрланган вакциналар, интерферонлар, моноклонал антителалар олиш, улар асосида иммунодиагностика усуллари ишлаб чиқиш, ҳужайра культураларини ва вируссиз ўсимлик олиш кабилар биотехнологиянинг долзарб масалаларидан бўлиб, уларнинг ҳал қилиниши аналитик ва препаратив биотехнологиянинг ривожланишига бевосита боғлиқдир. Айниқса, аналитик биотехнологиянинг ривожланиши натижасида ИФА, НЦМ сингари иммунодиагностиканинг энг тезкор ва сезгир усуллари яратилган бўлиб, улар жуда кўплаб биологиянинг, жумладан, вирусологиянинг фундаментал ва амалий муаммоларини ечишда қўлланилмоқда. Бу усуллар ёрдамида илгари сезгирлиги анча паст бўлган усуллари қўллаб ечилган муаммолар ва амалий ишларни қайтадан кўриб чиқиш, олинган маълумотларнинг кўплаб нуқсонлардан холи эмаслигини кўрсатди. Шунинг учун бундай замонавий ва сезгир иммунодиагностика усуллари вирусологиянинг турли жабҳаларида қўллаб фитопатоген вирусларни аниқлаш бугунги куннинг муҳим масалаларидан биридир.

Сўнги йилларда картошка ўсимлигини 50 дан ортиқ вируслар касаллантириши ҳақида маълумотлар қатор манбаларда келтирилган. Бундай вирусларни лотин алифбоси ҳарфлари билан -A, Y, S, M, T, X каби номлар билан номланади. Ана шундай вируслардан бири бўлган картошканинг X вируси (кейинги ўринларда КХВ) биринчи марта Англияда 1938 йилда Саламон томонидан аниқланган бўлиб, кейинчалик эса Германияда (1964) кенгроқ ўрганилган. Москва Давлат университетининг «Ўсимлик вируслари биохимияси» илмий лабораториясида академик И.Г. Атабеков бошчилигида КХВ ни молекуляр даражада ўрганишга муваффақ бўлишган. Бундан

ташқари Р.В. Гнутова картошкани касаллантирувчи S, Y, M, A, L каби вирусларни тоза ҳолда ажратиб олиб, уларга антизардоб тайёрлаган. Мамлакатимизда эса фитовирусология соҳасидаги илмий тадқиқотлар дастлаб академик Ю.И. Власов томонидан (1964) бошлаб берилган бўлса, кейинчалик проф. А.Х. Ваҳобов ва унинг шогирдлари томонидан илмий-тадқиқотлар олиб борилган. Картошка вирусларни ўрганиш дастлаб В.Мирзаахмедов X ва S вируслари тарқалган фонда вируссиз картошка етиштириш бўйича (1964), И.Т. Эргашев L-вирусиغا чидамли (2007) навларни яратиш, кейинчалик эса В.Б. Файзиев томонидан картошка вирусларини ажратиш, хусусиятларини аниқлаш ва диагностика қилиш устида қатор илмий тадқиқотлар олиб борилган.

Шунингдек, ушбу монографияда:

ИФА усули бошқа иммунологик усуллар билан солиштирилиб афзаллик томонлари аниқланди ва картошка вирусларини микдорий аниқлашда қўлланилди;

Тошкент ва Самарқанд вилоятларида картошканинг X, S, Y, M, A ва L-вирусларининг тарқалиш даражаси ва резерватор ўсимликлари ИФА усули ёрдамида аниқлаб чиқилди;

картошка X-вирусининг гомоген, тоза ва юқори концентрацияли препаратини олишнинг оптимал усули ишлаб чиқилди;

КХВ нинг биологик ва баъзи физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди; вируснинг тоза препарати асосида специфик антизардоб тайёрланди;

Ўзбекистонда экилаётган картошканинг турли нав ва клонлари ИФА ёрдамида текширилди ва КХВ га чидамли нав ва клонлари аниқланди.

Бугунги кунгача мамлакатимизда картошка вирусларининг фақат тўрттаси, яъни X, Y, S ва L-вируслари тарқалганлиги аниқланган эди, аммо кейинги олиб борилган тадқиқотларимиз натижасида бу вируслардан ташқари картошканинг A ва M-вируслари ҳам тарқалганлиги ҳамда уларнинг табиий-резерватор ўсимликлари ва тарқалиш даражаси ИФА ёрдамида биринчи марта аниқланди. Аниқланган ўсимликлар ичида биринчи бор

ўрганилаётган ҳамда резерватор ўсимликлар каторига киритилаётган турлари ҳам мавжуд.

Ўрганилган вируслардан КХВ нинг мамлакатимиз ҳудудида тарқалган изоляти (КХВ-Ўз) илк бор ажратилиб баъзи биологик ва физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди ҳамда вируснинг тоза препарати олинди. Тоза вирус препарати 3% ли агар-агар (Difco) ва сефадексдан (G-200) иборат бўлган хроматографик калонкада гелъфилтрация қилиш орқали ажратиб олинди. Бу тоза препарат асосида вирусга специфик АЗ тайёрланди.

Олиб борилган тадқиқотлар асосида Тошкент ва Самарқанд вилоятларида картошка Х, S, Y, M, A ва L-вирусларининг тарқалиш даражаси аниқланди. Бу вируслардан бири бўлган КХВ ни ажратиш, тозалаш ва антизардоб тайёрлашнинг лаборатория регламенти ишлаб чиқилди ҳамда шу асосда вирусга специфик АЗ тайёрланди. Тайёрланган АЗ ИФА ва ИИД усулларида қўлланилди ва бу усуллар ёрдамида вирусга чидамли клонлар ҳамда вируснинг мамлакатимиз иқлим шароитида тарқалган табиий-резерватор ўсимликлари аниқланди. Шулар асосида вируснинг табиатда айланиш циркуляцияси ҳамда «табиий ўчоқ» типи аниқланди. Бу ўз навбатида вирусга қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда муҳим ҳисобланади.

I БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ТАРҚАЛИШИГА ТАЪСИР ЭТУВЧИ БИОЭКОЛОГИК ОМИЛЛАР

1.1-§. Картошка ўсимлиги вирусларининг умумий характеристикаси

Бутун дунёда картошка ўсимлигини 50 дан ортиқ вируслар касаллантириши аниқланган бўлиб [2, 30, 34, 75], уларнинг номланиши турли лотин ҳарфлари билан белгиланган: X, S, M (K), A, Y, F (G), L ва бошқалар [2, 74, 101]. Бу вирусларнинг ҳар бири ёки бир нечтаси биргаликда картошка ўсимлигини касаллантириб, унда турли характерли касаллик аломатларининг келиб чиқишига сабаб бўлади. Уларга хол-хол (крапчатость) мозаика (X ва S-вируслари), чизиқли (полосчатая) мозаика (Y-вируси), мозаикали буришиш (морщинистая) (Y, X ва A-вируслари), баргнинг жингалакланиши (курчавость) (A-вируси), мозаикали буралиш (мозаичное закручивание) (M-вируси), баргнинг буралиши (скручивание) (L-вируси), аукуба-мозаика (F (G)-вируси) кабилар киради. Айрим ҳолларда ўсимликда касаллик аломатлари намоён бўлмасдан яширин ҳолатда ҳам ўтиши мумкин [2, 13, 27].

Ўзбекистонда картошка вируслари бир қатор муаллифлар [1, 6, 54] томонидан ўрганилган бўлиб, ўсимликда картошканинг X, S, Y, L каби вируслари кенг тарқалганлиги аниқланган. Қуйида картошка ҳосилдорлигига катта зарар келтирадиган бир қатор вируслар ҳақида тўхталиб ўтамыз:

Картошканинг X-вируси (KXВ) [R/1:2,2/6:E/E:S/O] картошка етиштириладиган барча мамлакатларда кенг тарқалган бўлиб, биринчи марта Англияда (1938) Саламон томонидан аниқланган, кейинчалик эса Германияда (1964) кенгрок ўрганилган [35, 36, 57, 107]. Бу вирус ўсимлик баргида хол-хол мозаика (крапчатость) ва оддий мозаика каби касаллик аломатларини келтириб чиқаради [2, 7, 39, 76, 111, 112, 120].

KXВ потексвируслар оиласига мансуб бўлиб, вириони ипсимон кўринишда [8, 56, 109, 108, 110, 131], ўлчами 515×13 нм ни ташкил этади. Вирионнинг 6% РНК, 94% эса оксилдан иборатдир. РНК нинг м.м. $2,1 \times 10^6$ Д,

оксилининг м.м. 30×10^3 Д, седиментация коэффициенти эса 118S, $E_{260}^{0,1\%,1\text{см}} \approx 2,97$ ни ташкил этади. Вируснинг м.м. 35×10^6 Д эканлиги бир қатор муаллифлар томонидан қайд этилган [58, 71, 75, 100, 117]. Вирус хона ҳароратида қуруқ баргда 250 кундан 1 йилгача, музлатилган баргда эса 4 йилгача сақланиши мумкин [75, 105]. КХВ нинг ОСД 10^{-5} - 10^{-9} гача, ХТФЙ даражаси эса вирус штамmlарига боғлиқ ҳолда 66 – 76°C гача бўлади [81, 83].

Вирус табиий шароитда контакт усулда юқишини Смит биринчи (1933) бўлиб исботлаб берган [2, 69, 75, 93, 130], аммо охирги йиллардаги адабиётларда вируснинг тупроқ ва ўсимлик шираси (тля) ёрдамида тарқалиши ҳақида маълумотлар бор [1, 22, 24, 118].

Вирус механик усулда юктирилганда *Gomphrena globosa* ўсимлиги баргида 5-6 кун ўтгандан сўнг қизил ҳалқали некроз [2, 29, 40, 44, 66, 67, 96, 109], *Datura stramonium* L., *D. tatula* L. ўсимликларида 20-22 кундан сўнг баргда системали мозаика, *D. metel* L. ўсимлигида эса яшил мозаика белгилари келтириб чиқаради [2, 6, 75, 106].

КХВ нинг «Х суровий» (X_c), «Х киевский» (X_k), «Х польский» (X_n) [19, 21, 76, 88, 106, 108, 123], «Х херсонский» (X_x), «Х разметий» (X_p) каби бир қатор штамmlари ажратилган бўлиб, уларнинг ичида энг юқумлилари X_c ва X_n штамmlари ҳисобланади ва бангидевона (*Datura stramonium* L.) ўсимлигида жуда тез системали касаллик аломатларини келтириб чиқаради. КХВ нинг X_k ва X_n штамmlари бангидевона ўсимлигида аниқ мозаика белгиларини намоён қилади [2, 20, 66, 67, 91, 95, 121]. Ген инженерия йўли билан КХВ геномининг биринчи 80 та нуклеотидларининг кетма-кетлиги аниқланган бўлиб, у қуйидагича:

(m⁷ GpppG) AAAACTAAACCATAGAGGAGGAAGAGAAGGAAAGG..
GAGGACCACGCCCAATTGTTACACCCGCTTGAGAAAGCAAGTCT....[36].

КХВ картошка ҳосилдорлигини Боуденнинг фикрича 10% [2, 7, 32, 34, 54, 128], Амбросов ва бир қатор муаллифлар олиб борган тажрибалари асосида бу вирус ҳосилдорликни 29,7-59% гача, туганак таркибидаги крахмални 2,1% пасайтириши аниқланган [2, 40, 62, 93].

Картошканинг А-вируси (КАВ) [R/1:3,5/6:E/E:S/O] барча картошка етиштириладиган минтақаларда тарқалган бўлиб, биринчи марта Мёрфи ва Мак-Кэй томонидан симптомсиз «Айриш Чифтэйн» навидан ажратиб олинган [2, 75, 87, 131]. Вирус картошка ўсимлигида мозаика ҳамда барг пластинкасининг тўлқинсимон жингалакланиши ва кичрайиши каби касаллик аломатларини келтириб чиқаради [2, 41, 62, 92, 90, 93, 133].

КАВ потивируслар оиласига мансуб бўлиб, вириони ипсимон кўринишда, ўлчами 730×15 нм [18, 39, 75, 87, 94], вирионнинг 6% ни РНК, 94% ни эса оқсил ташкил этади. Вируснинг седиментация коэффициенти 114S ни, ХТФЙ кучли штаммларида 52°C, кучсиз штаммларида 40°C, ОСД эса 10^{-1} - 10^{-2} ни ташкил этади [2, 41, 63, 98, 120], вирус хона ҳароратида 18-24 соатгача сақланади [75, 53, 101, 130].

КАВ табиий ҳолда бир қатор ўсимлик битлари, жумладан *Aphis rhamni* Fonse., *Aulacorthum circumfletus* Buckt., *Macrosiphum cuphorbiae* Thomas., *Myzus persicae* Sulz каби турлари ёрдамида тарқалади [1, 37, 44], аммо механик усулда юкмайди [55].

Вирус *Solanum demissum* Lindl., *Solanum demissum* A-6, *Lycopersicum perpinellifolium* Mill. ўсимликлари баргида 6-8 кунда [2, 56, 75], *Petunia hybrida* ўсимлигида эса 20-23 кунда ўсимликнинг барча қисмида қорамтир доғларни келтириб чиқаради [75, 111]. Бу вируснинг «кучсиз», «ўртача кучли» ва «ўта кучли» каби бир қатор штаммлари ажратилган [75].

А.В. Крылов маълумотига қараганда КАВ итузумдошлар оиласи вакилларида картошка, тамаки, дўрмон, физалис каби ўсимликларни, дуккакдошлар оиласи вакилларида айримларини, жумладан, *Cassipourea* L., *Melilotus italicus* Lam. каби ўсимликларни касаллантиради ва уларнинг танасида сақланади [32, 75, 111].

Вируснинг алоҳида ўзи ҳосилдорликни қанча пасайтириши ҳақида аниқ маълумотлар учрамайди, аммо КХВ билан биргаликда келганда ҳосилдорликни 60-80% гача пасайтириши келтирилган [2, 91, 93, 106].

Картошканинг S-вируси (KSB) [R/*:/6:E/E:S/Ar] картошка етиштириладиган барча мамлакатларда тарқалган бўлиб, илк бор вирусни Голландияда 1948 йили КАВ га антизардоб тайёрлаш вақтида Ван Слогтерен томонидан аниқланган [2, 48, 56, 75]. Кейинчалик вирусни шу мамлакатда Маре де Браун Оуботер (1951) ва А. Розендал ҳамда Д. Брустом лар (1954) тоза ҳолда ажратиб олган ва голланд олими Слогтерен (Slogteren) номига S ҳарфи билан белгиланган [6, 7, 12, 18, 35, 112]. Вирус кўпгина картошка навларида кучсиз касаллик аломатларини намоён қилади, айрим ҳолларда баргнинг рангсизланиши ва мозаика, кучсиз буришиш, баргнинг кичрайиши каби аломатларини намоён қилади [2]. Кўпгина ҳолларда бошқа вируслар билан аралшиб келиб касалликни кучайтиради ва картошкачиликка катта зарар келтиради [75].

KSB карлавируслар оиласига мансуб бўлиб [19, 59, 105], ипсимон кўринишда, ўлчами 650×12 нм ни [44, 75, 108], вирионнинг 6% ни РНК, 94% ни эса оқсил ташкил этади. ХТФЙ даражаси $50-60^{\circ}\text{C}$ [96, 98], ОСД 10^{-3} [59], хона ҳароратида ўсимликдан ажратилган ширада 2-6 кунгача сақланади [89].

Бу вирус картошка туганагида сақланади [18, 66, 91]. Табiiй шароитда ўсимлик аъзоларининг бир-бирига тегиши ва ишқаланиши ҳамда бир қатор ўсимлик ширалари ёрдамида тарқалади [1, 23, 117, 119]. Механик усулда юктирилганда *Chenopodium album*, *Nicotiana debney* каби ўсимликларда 20 кундан сўнг барг юзасида сариқ доғларни [2, 32], *Caymopsis tetragonoloba* да 5-6 кунда, *Solanum demissum* ва *Gomphrena globosa* ўсимлигида эса сариқ нуқтали мозаика каби касалликларни келтириб чиқаради [75].

Бу вирус картошкадан ташқари бир қатор ўсимликларни, жумладан қора курмак (*Echinochloa crus*), ялпиз (*Mentha austriaca*), шовул (*Rumex acetosa*), қоқиўт (*Taraxacum officinalis*), ўртача зубтурум (*Plantago media*), ғозпанжа (*Polygonum nodosum*) каби ўсимликларни касаллантиради [2, 55]. Адабиётларда бу вирус ҳосилдорликни 10-20% пасайтириши ҳақида маълумотлар келтирилган [2, 75, 77, 111].

Картошканинг М-вируси (КМВ) [R/1:*/6:E/E:S/Ar] ҳам карловируслар оиласига мансуб бўлиб, бутун дунёда тарқалган. Вирусни биринчи марта Б.Х. Нурмисте (1956) аниқлаган [2, 62, 66, 90, 93, 99]. Бу вирус ўсимликда баргнинг мозаикали буралиши каби касаллик белгиларини келтириб чиқаради ва учки ёш баргларда вегетациянинг биринчи ярмида яхши намоён бўлади [2, 18, 75]. КМВ картошканинг L-вирусидан фарқи, ўсимликда умумий хлороз аломатларини келтириб чиқармайди ҳамда барг эластиклиги йўқолмайди [75].

Вирус ипсимон кўринишда бўлиб, ўлчами 660×13 нм ни ташкил этади [77, 102]. Вирионини 6% РНК, қолган 94% ни эса оқсил ташкил этади. Унинг ХТФЙ даражаси «paraktinkl» штаммида 60°C [11, 19, 75, 111], томирлар ораси мозаикаси $65-70^{\circ}\text{C}$ ва мозаикали буралиш штамми эса $70-75^{\circ}\text{C}$ да ўз активлигини йўқотади. Вируснинг ОСД 10^{-4} бўлиб, хона ҳароратида 2-4 кунгача сақланади [2, 12].

КМВ механик усулда осон юқади [2, 75], табиий шароитда эса ўсимлик шираларининг *Myzus persicae* Sulz. ва *Myzus persicae* (38%), *Macrosiphum solanifolii* Ashm. каби турлари ёрдамида тарқалади [24, 26, 119], аммо ўсимликнинг бир-бирига тегиши орқали юқмаслиги аниқланган [100, 106].

Вирус *D. metel* ўсимлигида 8-14 кунда, *D. tatula* ўсимлигида эса 3 кундан сўнг баргда хлоритик доғларни [55, 75], *Vigna siensis* ва *Nicotiana debneyi* Domin. каби ўсимликларда 10-14 кунда қорамтир доирасимон доғларни [2], *Gomphrena globosa* ўсимлигида эса қизил ҳалқали некрозларни келтириб чиқаради [6, 40, 62, 93, 89, 112].

Голландияда вируснинг учта штамми [11, 29, 108] аниқланган бўлиб, улар бир-биридан юқумлилиги билан фарқланади. Табиий шароитда КМВ ботқоқ қуддуси (*Stachys palustris* L.), гултожихўроз (*Amaranthus* sp.), печак (*Convolvulus arvensis*), бўзтикан (*Sonchus* sp.) каби ўсимликларни касаллантиради ва улар танасида сақланади [2]. Вирус ҳосилдорликни 19,5%, туганак таркибидаги крахмални эса 0,9% гача пасайтиради [29, 32, 55, 75].

Картошка баргининг буралиши вируси (KLB) [R/1:2/28:S/S:S/Ar]

биринчи марта 1967 йилда Д. Петерс шафтоли шираси гемолимфасида аниқлаган, 1968 йилда эса М. Кохиме *Physalis floridana* ўсимлигидан тоза ҳолда ажратиб олишга муваффақ бўлди [32, 39, 59, 75]. Вирус ўсимликда барг рангининг очлашиши ва дағаллашиши ҳамда барг пластинкасининг юқорига қайиқсимон буралиши каби касаллик аломатларини келтириб чиқаради [2, 11, 34, 59, 77].

Бу вирус лютеовируслар оиласига мансуб бўлиб, вириони шарсимон шаклда, ўлчами 23-25 нм ни ташкил этади [12, 62, 66]. Вируснинг м.м. $28,3 \times 10^6$ Д, вирионнинг 28% ни РНК, 72% ни оқсил ташкил этади. РНК нинг м.м. $2,0 \times 10^6$ Д [72, 73], оқсилнинг м.м. $26,3 \times 10^3$ Д [115], седиментация коэффиценти 127 S, $E_{260}^{0,1\%}$, $1\text{см} \approx 5$ эканлиги келтирилган. Вируснинг ХТФЙ даражаси 80°C ни ташкил этади, вирус $42-43^\circ\text{C}$ да 1-5 кун [85, 86, 96, 98, 104, 114], 20°C да эса бир ойдан ортиқ сақланади [75].

KLB механик усулда юқмайди [2, 12, 75], аммо пайвандлаш орқали жуда осон юқади [95]. Табiiй шароитда эса бир қатор ўсимлик битлари, яъни *Myzus persicae* Sulz., *Myzus ascalonium*, *Myzus circum flexus* Buckt., *Myzus ornofus*, *Myzus convolvuli* Kalt., *Macrosiphum solanifolii* Ashm. каби турлари ёрдамида тарқалади [1, 12, 22, 25, 53, 118]. Уларнинг ичида вируснинг энг яхши ташувчиси *Myzus persicae* Sulz. эканлиги бир қатор муаллифлар томонидан исботланган [53, 75].

Вирус *Datura stramonium* L. ўсимлигида 20-30 кун ўтгандан сўнг барг томирлари орасида хлоритик доғларни [2, 93], *Physalis angulata* L. ўсимлигида ҳам худди шунча муддатда ўсимлик ўсишининг секинлашиши, барг буралиши ва атрофида қизғиш доғларни [62, 66, 95, 127], *Ph. floridana* Rubd. ўсимлигида эса 8-15 кундан сўнг ўсимлик ўсишининг секинлашиши, баргнинг сарғайиши ва хлороз каби касаллик аломатларини келтириб чиқаради [75]. Бу вирус табiiй шароитда *Solanaceae* оиласи вакилларида помидор (*Lycopersicon esculentum*), бангидевона (*Datura stramonium*), тик ўсувчи бангидевона (*D. tatula*), итузум (*Solanum dulcamara*), булғор

қалампири (*Capsicum annuum*), бақлажон (*S. melongena*), *Physalis floridana*, *Ph. angulata* каби ўсимликларни касаллантиради [2, 29, 75]. Картошка ҳосилдорлигини 38-74% [66, 34, 75, 89], касаллик кучли тарқалган ҳолларда эса 80% гача пасайтиради [2].

Картошканинг Y-вируси (KYB) [R/1:3,1/6:E/E:S/Ar] картошка етиштириладиган кўпгина минтақаларда кенг тарқалган бўлиб [10, 61, 64, 99, 101, 113], ўсимликда чизикли (полосчатая) мозаика ва мозаикали буришиш (морщинистая) каби касаллик аломатларини келтириб чиқаради [2, 84, 103].

Бу вирус потивируслар оиласига мансуб бўлиб, ипсимон кўринишга эга, ўлчами 760×13 нм ни ташкил этади [2, 39, 66, 75, 94]. Вирионнинг 6% ни РНК, 94% ни эса оқсил ташкил этади. РНК нинг м.м. $3,1 \times 10^6$ Д [82], оқсилнинг м.м. эса 34×10^3 Д. Седиментация коэффиценти 0,1 М ли трис-НСl (рН 9,0) да 145 S, CsCl да Y^o штамминики $1,323 \text{ г/см}^3$, Y^N штамминики эса $1,326 \text{ г/см}^3$ ни ташкил этади [17, 78, 80, 84, 96, 98]. $E_{260}^{0,1\%, 1\text{см}} \approx 2,3$ дан 2,9 ни намоён қилади [2, 75]. Вируснинг ОСД $10^{-2} - 10^{-3}$, ХТФЙ $50-70^\circ\text{C}$ да ўз фаоллигини йўқотади [42, 64, 66, 91, 132]. Хона ҳароратида ўсимликдан ажратилган ширада 1-2 кун [75], айрим ҳолларда 20 кунгача [2, 82, 122], яшил баргда эса (эксикаторда, цезий хлорда, 4°C) вирус 6 ой, музлатилган ҳолатда 1 йилгача, қуритилган ҳолатда 11 ойгача сақланиши мумкин [75].

Бу вируснинг бир қатор штаммларининг оқсил қобиғи ва геномининг нуклеотидлар кетма-кетлиги ўрганилган [16, 42, 65, 107, 116, 119, 135]. Y^N штаммининг оқсил қобиғи полипептид занжирининг аминокислота таркиби ўрганилган бўлиб, унинг 198-208 қисми Тир-Ала-Фен-Асп-Фен-Тир-Глу-Вал-Тре-Сер-Арг каби аминокислоталардан иборат эканлиги аниқланган. Шу асосда бир қатор вируслар: жумладан, қалампир хол-холлиги вируси (ҚХХВ), шакарқамиш мозаика вируси (ШМВ) ва KYB нинг Y^o ҳамда Y^N штаммлари оқсил қобиғининг умумий ўхшаш қисми аниқланиб солиштирилган, улар қуйида келтирилган:

KYB^N G S L A R Y A F D F Y E V T S R T 209

KYB^o V G L A R Y A F D F Y E V T S R T 209

Умумий хусусиятлари аниқланган бу вирусларнинг барчаси потивируслар оиласига мансуб бўлиб, картошка Y-вируси KYB^N ва KYB^o штаммлари оксил қобиғи солиштирилган қисмининг дастлабки иккита, G, S ва V, G шаклида келган аминокислоталардан ташқари қолган аминокислоталар бир хиллиги аниқланган. Қолган иккала QXXB ва ШМВ ларда эса фақатгина биринчи аминокислота фарқланган, қолган аминокислоталар эса бир хил кетма-кетликда жойлашган [75, 79, 114, 115].

KYB механик усулда юқиб картошка туганагида сақланади [2, 75, 77], табиий шароитда эса ўсимлик органларининг бир-бирига тегиши натижасида ва бир қатор ўсимлик битлари, жумладан: *Aujacortume ciroumflexum* Buckt., *Macrosiphum cuphorbiae* Thomas., *Myzus persicae* Sulz., *Myzus ornafus* Laing., *Aulacorthum pseudosolani* Theob., *Macrosiphum solanifolii* Ashm., *Aphis nasturtii* ёрдамида тарқалади [2, 14, 25, 120, 122]. Уларнинг ичида KYB ни актив ташувчиси *Myzus persicae* Sulz. эканлиги бир қатор муаллифлар [24, 25, 75] томонидан таъкидлаб ўтилган.

Вирус *Nicotiana tabacum* L. ўсимлиги баргида системали мозаика, *Nicotiana glutinosa* L. ўсимлигида эса барг эти мозаикаси ва пластинка четларининг буралиши [6, 21, 56, 53], *Chenopodium amaranticolor* ўсимлиги баргида оч-яшил доғларни, *Nicandra physoloides* (L.) Gearth. баргида эса 7 кундан сўнг кичкина доирасимон некрозларни келтириб чиқаради [2, 75]. Вируснинг Y¹, Y², Y³, Y⁴, Y⁵, Y⁷ каби штаммлари ажратилган бўлиб [16, 42, 65, 107, 116, 119, 135], улар ҳар хил вирулентликга эга. Уларнинг ичида Y⁷ штамми кучсиз, Y³ ва Y⁵-штаммлари эса жуда кучли юқумлилик хусусиятига эга [26, 28, 89, 122]. Кейинги пайтларда кўпгина муаллифлар ишларида вируснинг жуда кучли юқумлиликка эга бўлган, картошкада некротик доғларни келтириб чиқарадиган Y^N-штамми ажратиб олинганлиги ҳақида маълумотлар мавжуд [84, 133, 135].

Бу вирус картошкadan ташқари тамаки ва помидор, *Nicotiana fragrans* Bernh., *N. glutinosa*, *Solanum vilosum*, *S. nodiflorum* Jack., *Hyoseyamus niger* L., *Dahlia* gp., *Petunia* sp., *Nicandra physaloides* Caerthn., *Physalis floridana* Rubd. каби ўсимликлар танасидан аниқланган, бу ўсимликлар мазкур вируснинг резерваторлари ҳисобланади [2, 75, 77].

КҮВ картошка ҳосилдорлигини 3,8-80% гача пасайтиради [62, 66, 92], А.Л. Амбросов эса ўз тажрибаларида бу вирус ҳосилдорликни 60,4%, картошка туганаги таркибидаги крахмални 1,8% пасайтиришини исботлаб берди [75].

1.2-§. Картошка вирусларининг табиий резерваторлари

Вируслар картошка ўсимлигини касаллантириб турли даражада зарар келтиради ва ҳосилдорликни пасайтиради [2, 66, 75, 137], уларга қарши кураш чораларини ишлаб чиқиш учун резерватор ўсимликларини ва ташувчи ҳашаротларини аниқлаш муҳим аҳамият касб этади [136].

Кўпгина муаллифларнинг фикрича картошка вируслари бангидевона, бўзтикан, қўйпечак, зубтурум, қизил ва қора итузум [49, 50, 51], оддий жағ-жағ (*Capsella bursa - pastoric* Medis.), қизғиш латтатикан (*Cirsium arvense* L.), жинғил (*Lucium halifolium* L.), бўритикан (*Vinca minor* L.) каби бир қатор ўсимликлар аъзолари ва уруғида сақланади [2, 52, 54]. И.Т. Эргашев бир қанча ёввойи ва маданий ўсимликларни текшириб чиқиб, шулардан 20,8 - 62,8% ўсимликларда картошка вируслари борлигини аниқлаган. Жумладан, дала печаги (*Convolvulus arvensis*) ва отқулоқда (*Rumex confertus*) асосан картошканинг Х, S, М ва камдан-кам ҳолларда Y-вируси, зубтурум (*Plantago lanceolata*) ва бангидевона (*D. stramonium*) ўсимликларида кўпинча М-вируси борлиги аниқланган [50]. Бундан ташқари қора итузум (*Solanum nigrum*), дала печаги (*Convolvulus arvensis*), бангидевона (*D. stramonium*), отқулоқ (*Rumex confertus*) каби ўсимликлар картошканинг Х, Y, М ва S-вируслари, турнефор шувоғи (*Artemisia tournefortiana* Rchb.) М ва Y-вируснинг, оддий тарвуз эса Х ва S-вирусларининг резерваторлари эканлиги аниқланган [49, 54].

Я.Я. Цилинский вируслар ичида қисқа ва кенг айланиш доирасига эга бўлган турлар ҳам мавжудлигини ва бу вируслар картошка етиштириладиган даланинг ўзида сақланишини таъкидлайди [51, 75, 53]. Бир қатор муаллифлар картошка етиштириладиган майдон ҳамда майдон четларидаги ёввойи ва маданий ўсимликларни текшириб улар картошканинг Х-вируси билан касалланганлигини аниқладилар. Бундай ўсимликларга *Solanaceae* оиласига мансуб тамаки, помидор, қалампир, бақлажон, бангидевона, қора ва қизил итузум, *Physalis floridana* Rubd., *Ph. angulota* L., *Nicandra physaloides* L., *Atropa beladona*; *Amarantaceae* оиласига мансуб *Gompherena globosa*, *Amarantus refolexus* L., *A. hybrida*, *A. tricolor*; *Compositae* оиласидан *Chrisantemum morifolium* Ram., *Senecio* sp. кабилар киради [2, 49, 51, 52]. Айрим адабиётларда лоларанг йўнғичқа ва қизғиш йўнғичқа ҳам картошка Х-вирусини сақлаши ҳақида маълумотлар учрайди [2].

А.Л. Амбросов дала қирқбўғини (*Equisetum arvense* L.), буғдойик (*Agropyron repens* L. P. B.), ялпиз (*Mentha austrica*), шовул (*Rumex acetosa* L.), бўзтикан (*Sonchus arvensis* L.), доривор қоқиўт (*Taraxacum officinale* Web.), торон (*Polygonum nodosum* L.), ўртача зуптурум (*Plantogo media* L.), ғозпанжа (*Potentilla anserina* L.), аччиқ шувоқ (*Artemisia absinthium* L.), бўйимодарон (*Achillea millefolium* L.), оқ шўра (*Chenopodium album*) каби ўсимликлар танасида картошканинг Х-вируси сақланишини аниқлаган. Бу ўсимликлар табиатда картошка вирусларининг резерватори бўлиб хизмат қилиши мумкин ҳамда вирусларнинг табиатда айланишида муҳим вазифани ўтайди [2, 49, 51].

Вируссиз картошка етиштиришда вирусларнинг бундай табиий резерваторларини ўрганиш, уларни йўқотиш муҳим масалалардан бири ҳисобланади. Турли хил касалланган ёввойи ва маданий ўсимликлар, касалланган картошка туганаклари ва тупроқда қолган ўсимлик қолдиқлари вирус, бактерия ва замбуруғ касалликларининг табиий ўчоғи бўлиб, уларнинг кенг тарқалишига хизмат қилиши мумкин [34, 38, 45].

1.3-§. Потексвируслар авлодига қисқача тавсиф

Бу авлодга [R/1:2,2/6:E/E:S/O] аспарагус 3 вируси, кактус Х-вируси, сачратқи Х-вируси, тулкиқуйруқ мозаика вируси, лилия Х-вируси каби 20 дан ортиқ вируслар мансуб бўлиб, хўжайин ўсимликда асосан сариқ мозаика каби касаллик аломатларини келтириб чиқаради [8, 124, 125] (1.1-жадвал).

1.1-жадвал

Потексвируслар авлоди вакиллари асосий хусусиятлари

Т.р.	Вирус тури ва номланиши		Вирион		Нуклеин кислота тури ва %	Оксил м.м., %	E ₂₆₀ /E ₂₈₀	ХТФЙ (°C)	Сақланиши (кун)
	инглизча	ўзбекча	шакли	ўлчами (нм)					
1	Asparagus 3 virus (AV-3)	Аспарагус 3 вируси	ипси-мон	580×13	5% РНК	95% 20×10 ³	1,18	60°C	23
2	Cactus X virus (CVX)	Кактус Х-вируси	--	480×11	4% РНК	96% 22×10 ³	-	82°C	28
3	Chicory X virus (ChVX)	Сачратқи Х вирус	--	553×12	5% РНК	95% 25×10 ³	1,19	55°C	15
4	Commelina X (ComVX)	Камелия Х-вирус	--	550×13	4% РНК	95% -	-	60°C	25
5	Foxtail mosaic virus (FoVM)	Тулкиқуйруқ мозаика вируси	--	500×12	7% РНК	93% -	1,2	70°C	105
6	Hydrangea ringspot virus (HRSV)	Гортензия мозаика вируси	--	490×11	5% РНК	95% 22×10 ³	-	70°C	14-21
7	Lily X virus (LVX)	Лилия Х-вируси	--	470×13	5% РНК	95% -	-	-	-
8	Narcissus mosaic virus (NVX)	Нарцисс мозаика вируси	--	540×11	5% РНК	95% 25×10 ³	1,18	95°C	365
9	Papaya mosaic virus (PopMV)	Папая мозаика вируси	--	530×11	7% РНК	93% 20×10 ³	1,4	73°C	180
10	White clover mosaic virus (WClMV)	Оқ йўнғичқа мозаика вируси	--	480×11	6% РНК	94% 22×10 ³	-	60°C	10-99
11	Plantago asiatica mosaic virus (PLAMV)	Осиё зубтуруми мозаикаси вируси	--	490×12	6% РНК	94% 22×10 ³	-	-	-
12	Plantain X virus (PIVX)	Зубтурум мозаика вируси	--	570×13	4-5% РНК	94-95% 20×10 ³	-	60°C	-
13	Potato aucuba mosaic virus (PAMV)	Картошка аукуба-мозаика вируси	--	-	5% РНК	95% 26×10 ³	-	65°C	30-60
14	Potato X virus (PVX)	Картошка Х-вируси	--	515×13	6% РНК	94% 30×10 ³	1,2	68-76°C	40-80
15	Tulip X virus (TXV)	Лола Х-вируси	--	495×13	8% РНК	92% 22×10 ³	-	65°C	30

Улар табиатда турли йўллар билан тарқалиш хусусиятига эга, жумладан: картошка аукуба-мозаика вируси, картошканинг Х-вируси каби вируслар ўсимлик битлари (Aphidoidea) ёрдамида, аспарагус 3, кактус Х-вируси, кассава Х-вируси, сачратқи Х-вируси каби вируслар контакт усулида, оқ йўнғичқа мозаика вируси ва тулкиқуйруқ мозаика вируслари эса ўсимлик уруғи ёрдамида тарқалади [132, 134]. Механик усулда бу оила вакиллариининг деярли барчаси юқиш хусусиятига эга [68, 106, 128, 129, 132]. Оила вакиллариининг ХТФЙ даражаси 55-60°C (AV-3, ChVX, WCIMV) дан 95-100°C (NVX, VMV) гача, хона ҳароратида 15 кундан (ChVX) 365 кунгача (NVX) сақланади [56, 134]. Деярли кўпчилик вакиллариининг вириони ипсимон шаклда, нуклеин кислота ва оксил қобиқдан ташкил топган бўлиб, ўлчами 445×11 нм дан 570×13 нм гача [60, 125, 126, 127, 128].

Седиментация коэффиценти 110-144S, CsCl да 1,28-1,33 g см³ ни, E₂₆₀/E₂₈₀ га нисбати 1,18-1,4 ни, ИЭН да чўкиши рН 4-5,3 ташкил қилади [4, 6, 130]. Вирионининг 4-8% ни бир занжирли рибонуклеин кислотадан (РНК) иборат [89], 92-95% ни эса оксил қобиқ ташкил этади ва м.м. 14×10³ Д дан 30×10³ Д гача [39, 48, 97, 98, 124]. Нуклеин кислотанинг 15,5-25% - Г, 26,4-33,8% -А, 23,4-30,3% - Ц, 20,5-25,7% - У дан иборат [43, 60, 125, 126].

Демак, потексвируслар оиласига мансуб вирусларнинг деярли барчаси механик усулда юқиш хусусиятига эга, вириони ипсимон шаклда бўлиб, хўжайин ўсимликда асосан мозаикали касаллик аломатларини келтириб чиқаради. Улар вирус турига, штаммига, вирулентлиги, экологик муҳитга қараб ўзгариши мумкин. Айниқса, иссиқ иқлим, кун узунлиги, намлик миқдори ва бошқа сабаблар баъзи вирусларнинг, жумладан КХВ ва унинг штаммлари вирулентлигига таъсир этиши, симптомлари ўта ёрқин кўриниши ёки кўринмай қолишига сабаб бўлиши мумкин.

II БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИНГ ТОЗА ПРЕПАРАТИНИ ОЛИШ ВА УНИНГ ИДЕНТИФИКАЦИЯСИ

2.1-§. Картошка Х-вирусининг тоза препарати

олиш усуллари

Ҳар қандай вирусни ўрганиш унинг тоза препарати олишдан бошланади, чунки ўсимлик хужайраси компонентлари вируснинг тўлиқ хусусиятларини ўрганишга ҳалақит қилади [4, 6]. КХВ ни тозалашнинг бир нечта усуллари муаллифлар [2, 4, 5, 36] томонидан ишлаб чиқилган бўлиб, бу усуллар тозалаш босқичларининг турли-туманлиги ва олинадиган вирус препаратининг миқдори ҳамда тозалик даражасига қараб бир-биридан фарқ қилади.

Вирус тозалашнинг дастлабки босқичи йиғилган вирусли намунани гомогенизация қилишдан бошланади. Бу жараёнда ишлатиладиган буфер тури ва унинг концентрацияси вирусни тозалашда муҳим аҳамият касб этади [5, 28, 46].

КХВ ни тозалашда тўпланган вирусли намунани гомогенизация қилишда рН 7,5 бўлган 0,1М ли [5, 44] ёки таркибида 0,01М ли натрий тиосульфат ва 0,01М ли ЭДТА бўлган 0,2М ли фосфат буферидан (рН 7,5) [75], айрим ҳолларда таркибида 0,01М ли натрий аскорбат бўлган 0,02М ли натрий борат (рН 8,2) буферидан фойдаланилади [2]. Кейинги босқич вирусни хужайрадан чиқариш ҳамда хужайра деворини тўлиқ майдалаш бўлиб, бунда кўпчилик ҳолларда хлороформ (1:8) [2, 5, 43], тритон Х-100 ёки бутанол [41] каби органик эритувчилардан фойдаланилади ва 20 дақиқадан 1 соатгача аралаштирилади. Айрим усулларда [6, 75] вирусли намунани гомогенизация қилиниб тўрт қават докадан ўтказилгандан сўнг, хлороформ аралаштиришдан олдин уни 10 минг айл./дақ.да 20 дақиқа центрифуга қилинади. Бу ўз навбатида хужайра компонентлари қолдиқларидан вирусли ширани тозалашга ёрдам беради [28].

Тозалашнинг кейинги босқичи вирусли ширани хужайра компонентларидан тозалаш бўлиб, бу турли айланиш тезлигида центрифуга

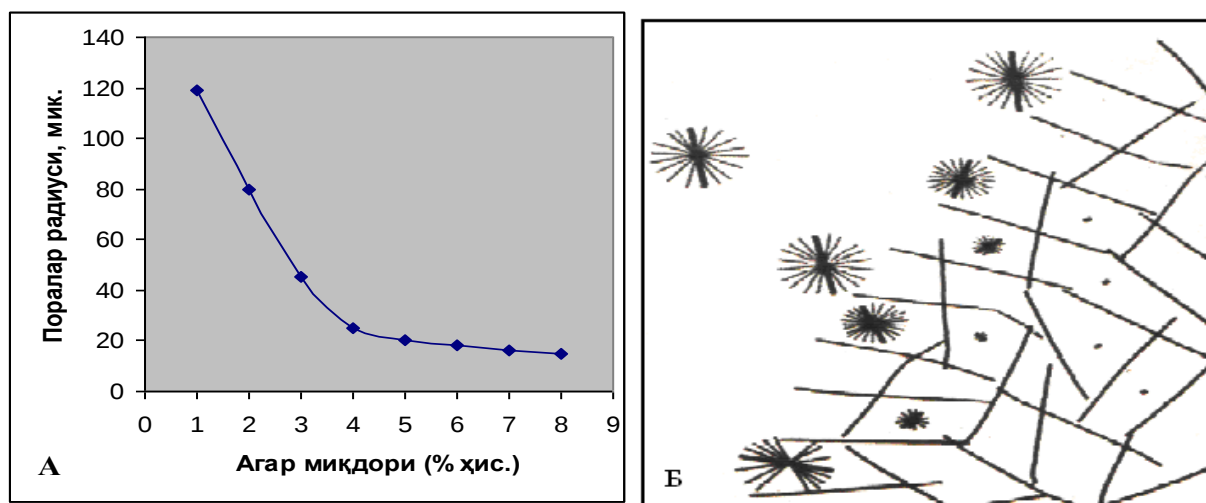
қилиш орқали амалга оширилади. Масалан, Пфанкухе [2] усулида вирусли шира 3000 айл./дақ.да, қолган усулларда [5, 44] эса 10 000 айл./дақ.да 20 дақиқа давомида центрифуга қилиниб, чўкма ташлаб юборилади ва вирус тутувчи чўкма усти суюқлиги олинади.

Ундан кейинги босқич вирус концентрациясини ошириш бўлиб, бу турли тузлар, 4% ли ПЭГ ва NaCl [5], 25% ли сульфат аммоний ёрдамида ёки ИЭН [2], яъни рН 4,0 да чўктириш орқали [5, 13], айрим ҳолларда 5 мл қалинликдаги 10мМ ли трис-HCl ва 1мМ ли ЭДТА (рН 8,0) да тайёрланган 30% ли сахароза қатламидан R30 (Beckman) роторининг пробиркасида 3 соат 27 000 айл./дақ.да центрифуга қилиш орқали амалга оширилади [75]. Кўпгина ҳолларда вирус концентрациясини оширишда ПЭГ ва NaCl (4%) ёки аммоний сульфат (25%) каби тузлар солиб эритилгандан сўнг 1 соат, ИЭН да чўктиришда эса, вирусли суюқликнинг рН 4,0 га тўғриланиб 5-10 дақиқа совутгичда сақланади ва 9-10 минг айл./дақ.да 20-30 дақиқа центрифуга қилиниб чўкма олинади [2, 89]. Вирусни ИЭН да чўктирилганда ёки сахароза ёстикчасидан ўтказилганда ҳам худди юқоридаги сингари чўкма олиниб, ЧУС ташлаб юборилади [46, 75].

Кейинги босқич вирусни экстракция қилиш бўлиб, бунда чўкма 0,05М ли (рН 7,5) (1:10), 0,3мМ ли [2, 5, 44] фосфат буфериди ёки 10мМ ли трис-HCl ва 1мМ ли ЭДТА ёрдамида (1:10) эритилади [12, 89], айрим ҳолларда кечасига совутгичда +4°C да қолдирилади. Совутгичдан олинган вирусли эритма 35 000 айл./дақ.да 1,5-2 соат центрифуга қилиниб, вирус тозаланади [75] ёки 10-15 минг айл./дақ.да 15-20 дақиқа центрифуга қилингандан сўнг 15 соат давомида диализ қилиниб тозаланади [2, 44]. Бошқа усулда эса ЧУС 3% ли гранулаланган агар гелида гельфилтрация қилиниб КХВ нинг тозаланган препарати олинади [5, 6].

Гельфилтрация усули бошқа усуллар ичида вирусларни тозалашнинг кам харажат кетадиган, ишончли ва юмшоқ усул эканлиги билан бир қатор афзалликларга эга. Бу усулда моддаларнинг ажралиши, уларнинг молекуляр оғирлиги ва ўлчамига асосланган бўлиб, усул оксиллар, вируслар, гормонлар,

антибиотиклар, липидлар ва бошқа биополимерларни ўрганишда кенг қўлланилади [6, 44]. Вирус тозалашда турли концентрациядаги агар-агар гели ишлатилган бўлиб, уларнинг ичида 1-3% ли эритмасидан тайёрланган геллар вирусларни тозалашда ва аралаш вирусларни ажратишда яхши самара беради [4, 6]. Гельда агар-агар миқдори ошган сайин поралар ўлчами кичраиб боради [4, 5, 90, 98] (1.1-рasm, А).



1.1-рasm. Гельдаги агар миқдорига боғлиқ ҳолда поралар ўлчами (А) ва вируснинг гель орқали ҳаракатланиш схемаси (Б) (Steere, 1964).

Бир қатор муаллифлар [4, 6] гelfильтрация усулидан фойдаланиб тоза вирус препаратини олишга эришган, аммо улар колонкани тўлдиришда грануланган агар гелидан ҳамда узунлиги 80 см дан кам бўлмаган колонкалардан фойдаланиб тозалаш ишлари олиб борган. Бу усулда колонкага жойланадиган модда яъни колонка матриксининг тури моддаларни ажратишда муҳим ҳисобланади. Бугунги кунгача гelfильтрация учун декстранли геллар (сефадекс), полиакриламид гели (биогел Р), агар ва агарозадан (сефароза, сегароза, биогель А), охирги пайтларда эса ҳар хил порали майда шиша доналари ва бошқалардан фойдаланилиб келинмоқда [34]. Бу моддалар бир-биридан моддаларнинг ажратиш чегараси билан фарқ қилиб, асосан ажратиладиган модда м.м.га қараб танлаб олинади. Масалан, сефадекснинг G-200 тури 200 кД м.м.гача бўлган, агар-агар эса 1000 кД гача бўлган макромолекулаларни ажратади [4, 90].

Муаллифларнинг [12, 34, 60] маълумотига қараганда органик эритувчилар билан ишлов берилиб бир неча марта центрифуга қилиниб, туз билан концентрланган вирус препаратида 50-60 кД м.м.гача бўлган макромолекулалар қилишини исботлаб берган. Бундан кўриниб турибдики сефадекс ва агар-агар гелларини бирга жойланиши калта ўлчамли колонкада ҳам тоза вирус препаратини олиш имкониятини беради. Бунда колонканинг юқоридаги яъни сефадексдан иборат бўлган қисми 200 кД м.м.гача бўлган моддаларни ушлаб қолиш ундан йирикларини ўтказиб юборади, колонканинг агар-агардан иборат бўлган қисми эса 1000 кД м.м.гача бўлган макромолекулаларни ушлаб қолиб ундан йирикларини ўтказиб юборади. Бизга маълумки КХВ нинг м.м.си 35 000 кД ни ташкил этиб, у ҳар иккала қаватдан ҳам ҳеч қандай тўсиқсиз ўтиб кетади ва дастлабки фракцияларда филтрланиб чиқади [6, 17, 37, 58].

Бу усулда моддаларнинг бўлиниши қуйидаги принципга асосланади: колонкадан моддалар ўтганда фақатгина филтрланмасдан, балки молекуляр оғирлиги, ўлчами ва шаклига қараб ажралади. Шунинг учун ювувчи суюқлик (элюент) миқдори ўрганилаётган модда ўлчами ва шаклига боғлиқ бўлади. Агар гел устига йирик ва кичик м.м.га эга бўлган моддалар аралаштириб солинса, турли ўлчамдаги молекулалар гелни элюент билан ювилиш жараёнида фракцияларга ажралади. Бир қатор йирик молекулалар олдинда, яъни колонканинг эркин ҳажми орқали ҳаракатланса, ундан сўнг эса кичик ўлчамдаги моддалар ҳаракатланади. Шунинг учун ҳар бир молекула гел поралари орасига кириб, ҳар хил тезликда ҳаракатланади ва бўлиниб, колонкани ювувчи элюентининг турли фракцияларида молекуляр массанинг камайиши тартибида ювилиб чиқади [4] (1.1-расм, Б).

Шу сабабдан, йирик молекулалар «қоидадан ташқари», яъни гел поралари ичига кирмайди ва уларнинг ёнидан, гранулаларни ўраб турган суюқлик орқали ҳаракатланади, суюқлик эгаллаган бу қисм, колонканинг эркин сифими (V_0) ҳисобланади. Жуда кичик молекулалар эса гел поралари

ичига киради ҳамда ички ва ташқи суюқликда эркин ҳаракатланади (1.4.1-расм, Б) [4, 44].

Сефадекс сувда эримайди, аммо маълум миқдорда сувни ўзига шимиб олади. Унинг гранулалари шарсимон шаклда бўлиб, сувда шимдирилган сефадекс турига қараб, гелъфилтрацияда 10-200 кД м.м.гача бўлган макромолекулаларни ажратишда яхши самара беради [20, 44]. Унинг бир қатор турлари (G-10, G-15, G-50, G-100, G-200) маълум бўлиб, улар бири-биридан сув шимиш миқдори ва моддаларни ажрата олиш чегараси билан фарқ қилади [5].

1961 йили Полсон (Polson) гелъфилтрация учун агар гелини таклиф қилди, бунда жуда катта м.м. эга бўлган макромолекулалар, жумладан вируслар ва ҳужайра қисмларини ҳам ажратиш мумкинлигини исботлади. Гелъфилтрация учун ишлатиладиган агар-агар моддаси ламинариядан олинган бўлиб, таркиби бир қатор полисахаридлар: Д-галактоза ва 6-6-ангидро – L –галактоза қолдиғидан иборат.

Агар-агар қайнаётган сувда тез суюқланади, совутилганда эритмадаги агар миқдорига қараб ҳар-хил қаттиқликдаги ва ҳар-хил порали гелъ ҳолатига келади ҳамда вирусларни тозалашда яхши самара беради.

2.2-§. Специфик зардоб ва унинг ўзига хос хусусиятлари

Кўпгина иммунологик тадқиқотлар олиб бориш учун махсус специфик зардоб зарур бўлади. Бундай зардоблар умуртқали ҳайвонлар, жумладан: қуён, каламуш, сичқон ва бир қатор ҳайвонлар организмига турли АГ лар кирганда, уларга қарши махсус ҳимоя, «иммун тизим» сифатида пайдо бўлади [9, 33]. Уларнинг иммунитети қуйидаги икки тизим орқали таъминланади, «ҳужайравий иммунитет» ва «гуморал иммунитет». Иммун тизимнинг бу иккилик характери организмдаги иккита бир-бирига ўхшаш лимфоцит ҳужайралар томонидан таъминланади.

1. Лимфоцитларнинг биринчи синфи, яъни Т-хужайра хужайравий иммун тизимни таъминлайди. Бу хужайра организмга ёт нарсалар тушганда биринчи бўлиб таниб олиб ўзига бириктириб олади ва организмдан йўқотади.

2. Лимфоцитнинг иккинчи синфи, В-хужайра организмда гумораль иммун жавобни шакллантиради. Бундан ташқари бу хужайра организмга тушган АГ ни таниш жараёнида у ўзидан антитана – деб номланувчи АГ билан бирикиб уни йўқота олишга қаратилган реакцияларни шакллантирувчи оксилларнинг пайдо бўлишига олиб келади [9, 12, 33, 67].

Таниб олинган бегона агентлар «антиген» деб юритилади. АГ нинг АТ га бирикадиган қисми антиген детерминантлари деб юритилади. АТ АГ ни молекуляр комплементарлик принципи асосида таниб олади ва бирикади, ҳамда бир нечта ноковалент ва ковалент боғлар ҳосил бўлишига сабаб бўлади [3, 9, 15, 46].

Ҳайвонларда иммун тизим шаклланишига олиб келувчи иммуногенлар турли макромолекулалар, жумладан, бегона оксиллар, нуклеин кислоталар ва углеводлар бўлиши мумкин. Молекуляр оғирлиги 5000 дан кичик бўлган молекулалар иммуноген бўла олмайди ва улар «гаптенлар» деб юритилади. Улар йирик молекулали оксил-ташувчилар билан ковалент боғ орқали боғлангандагина иммуноген бўла олади. Масалан, 2,4-динитрофенил группаси махсус зардоб альбумини сингари ташувчи-оксил билан бириккандагина иммуноген бўлиши мумкин [9, 33, 116].

Умуман ҳайвонларни сунъий иммунизация қилиш натижасида ҳосил бўлган АЗ таркибида пайдо бўлган, АГ ни таний оладиган специфик оксил, яъни АТ лар иммуноглобулинлар (IgG) синфига мансуб бўлиб [33], иммунология усулларида кенг қўлланилади. Уларнинг асосий структураси тўртта занжирдан иборат бўлган полипептид комплекси. Улар бир-бири билан дисульфид боғлар орқали бириккан иккита бир хил «енгил» (кичик молекуляр оғирликка эга бўлган) ва «оғир» (йирик молекуляр оғирликка эга бўлган) занжирлардан иборат. Занжирларнинг карбоксил группаси (С-учи) билан тугаган учи «константа» қисми деб юритилиб, битта синфга мансуб

АТ ларда ўхшаш бўлади. Оғир занжирнинг карбоксил группадан бошлаб ярмигача бўлган қисми F_c -участка деб юритилади. Оғир ва енгил занжирларининг аминогруппа (N-учи) билан тугаган участкасининг аминокислота кетма-кетлиги турли спецификликка эга бўлган АТ ларда фарқ қилиб, оғир ва енгил занжирларда бу группа билан тугаган участкалар бири бири билан боғланади ва антиген боғловчи марказларни ҳосил қилади [9, 52].

Сут эмизувчиларни иммунизация қилиш натижасида пайдо бўлган махсус зардоб таркибидаги иммуноглобулинлар оғир занжирли аминокислоталар кетма-кетлигига қараб бешта синфга, яъни IgM, IgG, IgA, IgD ва IgE ларга бўлинади [9, 33, 37]. Кўпгина стандарт антигенларга зарур бўлган антизардоблар, масалан, инсон IgG сотувда мавжуд, аммо бошқа АГ лар, жумладан, ўсимлик вирусларига зарур бўлган антизардобни лаборатория шароитида тайёрлаш зарур. Бундай антизардобларга қўйиладиган талаб – спецификлик ва таркибида етарлича АТ мавжуд бўлишидир. Бундай хусусиятга, яъни юқори титрли АТ га эга бўлган антизардоб олишда организм иммун системасининг гумораль бошқарувини ҳисобга олиш зарур. Масалан, АГ нинг катта дозада юборилиши АТ ишлаб чиқарувчи супрессор ҳужайралар пайдо бўлишини камайтириши ёки бу ҳолат организмдаги «иммун хотира» феномени вазифасини бажариб юқори титрли зардоб ажралишига сабаб бўлиши мумкин. АГ нинг организмга киритилиши АТ ҳосил бўлишидан ташқари организмда унга қарши пайдо бўладиган иммун реакцияни намоён қилувчи лимфоцитлар «хотира ҳужайраси» нинг пайдо бўлишига сабаб бўлади. Бу ҳужайралар бутун организм бўйлаб тарқалади ва лимфоцит ишлаб чиқарувчи органлар ишини кучайтиради. АГ нинг қайта юборилиши, яъни «реиммунизация» қилиниши биринчи иммун реакцияга нисбатан организмда сезиларли даражада АТ ишлаб чиқарилишини кучайтиради, пайдо бўлган АТ қон бўйлаб узоқ муддат айланиб юриб хизмат қилади [9, 33]. Бир қатор муаллифлар [10, 13, 16, 53] маълумотига қараганда лимфоцит «ҳужайра хотираси» нинг пайдо бўлиши узоқ муддатли жараён бўлиб, унда биринчи ва иккинчи АГ юборилиши орасидаги муддат қисқа

бўлмаслиги зарур. Бизга маълумки, сичқонларда биринчи ва иккинчи АГ юборилиши орасидаги оптимал муддат 90 кунни ташкил этади [9]. Организмда «иммунологик хотира» нинг пайдо бўлиши АГ табиатига ҳам боғлиқ. Бир қатор муаллифлар [37, 130] олиб борган тадқиқотлар асосида картошкани касаллантирувчи Х, Y ва L-вируслар юқори АГ хусусиятига, М, S-вируслар эса паст АГ хусусиятига эга. АГ юборилганда куёнларда ва денгиз чўчкасида 6 ҳафтада, сичқон ва каламушларда 4 ҳафтада, тубан умуртқалиларда эса 3 ҳафтадан сўнг организмда АГ га қарши иммунитет шаклланади. Организмдаги бундай «гумораль иммун» жавобни эса адъювантлар ёрдамида кучайтириш мумкин [14, 41, 47, 53]. Улардан энг кўп ишлатиладигани тўлиқ Фрейнд адъюванти ва алюминий гидроксиддир, аммо охириги вақтларда адъювант сифатида мурадилпептидлардан фойдалинилмоқда. Тўлиқ Фрейнд адъюванти (ТАФ) тайёр ҳолда сотувда мавжуд, унинг таркибига минерал мой, эмульгатор ва активлиги йўқотилган туберкулёз бактерияси киради. ТАФ АГ нинг суяк эритмасига токи стабил аралашма ҳосил бўлгунча яхшилаб аралаштирилади, чунки адъювантнинг эффекти бу аралашмага боғлиқ [5, 9].

Маълумки идеал АТ ни гибридома хужайраларидан ҳам фойдаланиб олиш мумкин. Бунда иммунизация қилинган ҳайвон лимфоцитлари ва рақ хужайраларидан *in vitro* усулида гибрид олинади, бу гибридома хужайраларидан керакли АТ синтезлай оладиган хужайралар клонланади. Бундай антитаналар моноклонал АТ бўлиб, бир хил спецификликка эга эканлиги билан поликлонал АТ лардан фарқланади. Аммо поликлонал АТ лар эса турли спецификликка эга бўлиб, ажойиб реакция бериши билан ажралиб туради [5, 9, 33, 47].

2.3-§. Иммунофермент анализи ва унинг турлари

Фитопатоген вирусларни диагностика қилишда қўлланиладиган усуллар ичида иммунологик усуллар бир вақтнинг ўзида бир қанча намунани текшириши, кам меҳнат ва вақт талаб қилиши билан алоҳида ўрин тутди [3,

5, 28, 37, 46]. Бу усуллар антиген (АГ) ва антитананинг (АТ) ўзаро таъсирига асосланган бўлиб, аглютинация, преципитация, иммунодиффузия ва нишонланган моддаларга асосланган усулларга бўлинади ва ўзининг сезгирлиги билан бир-биридан фарқ қилади [4, 9, 21, 33, 68, 119, 125]. Усулларнинг сезгирлик даражаси жадвалда келтирилган (1.2-жадвал).

Уларнинг ичида охириги йилларда нишонланган моддаларга асосланган усуллар вирусологияда кенг қўлланилмоқда. Бу усуллар АТ ёки АГ ни бирорта модда (фермент ёки радиоактив моддалар) билан нишонлашга асосланган бўлиб, вирус миқдори ўта кам бўлган ҳолларда (0,1-1 нг/мл) ҳам аниқлай олади [37, 110]. Бундай усулларга ИФА ни киритишимиз мумкин.

1.2-жадвал

Турли иммунологик усуллар сезгирлигини солиштириш

Усуллар номи	Аниқланган вирус	Усул сезгирлиги	Намунани текшириш вақти
ТУ	ТМВ	1-10 мкг/мл	30-60 мин
МПР	КХВ	0,5 мкг/мл	24 соат
ЛУ	КХВ, КСВ	0,1-0,5 мкг/мл	10-60 мин
ПАЛЛАС - тест	КУВ	0,01-0,5 мкг/мл	4-10 мин
Индикатор ўсим.	ТМВ	0,5 мкг/мл	Бир неча кун
РИД	КХВ	1 мкг/мл	24-48 соат
ИИД	КХВ	1-10 мкг/мл	24-48 соат
ИЭФ	ВТМ	0,1-4 мкг/мл	48 соат
ТГАР	ХВК	0,075 мкг/мл	-
БФУ	ТМВ	0,1-0,5 мкг/мл	10-20 мин
ВБА	ЖПМВ	0,2 мкг/мл	1-2 мин
РИА	ГКМВ	10-300 нг/мл	1-2 соат
ИФА	КХВ	0,1-1 нг/мл	2-3 соат

ИФА вирусларни, айниқса фитовирусларни аниқлайдиган энг сезгир иммунологик усул ҳисобланади. Усулни 70 йилларнинг бошларида

Швециялик олим Engvell ва Perlmann, Голландиялик Schuur ва van Weemen, АҚШ лик олимлар Rubenstein лар ҳамкорликда ишлаб чиқишган бўлиб, АГ ва АТ орасидаги муносабатга асосланган [33, 37, 118]. Кейинчалик (1976) Адамс ва Кларк ўсимлик вирусларини аниқлашда биринчи бўлиб қўллаган [4, 37]. Усулнинг сезгирлиги жуда юқори, яъни вирусларни жуда кам микдорда ҳам аниқлаш имкониятига эга. ИФА РИА усулига ўхшаш, лекин бунда радиоактив изотоп ўрнига фермент ишлатилади [75].

Ҳозир ИФА нинг гомоген ва гетероген турлари яратилган бўлиб, гомоген тури ёрдамида кичик молекулали моддаларни, яъни гаптенларни аниқлаш мумкин. Унда бу моддаларнинг ферментлар билан бирикиши натижасида бундай моддалар нейтралланади. Аммо эритма ичидан эркин ёки бириккан АГ ни ажратиб олиш қийин. Бундан фарқли равишда ИФА нинг гетероген турида АГ ёки АТ қаттиқ фазага фиксирланади, реакцияга тўсқинлик қилувчи компонентлар ювиш орқали йўқотилади [3, 4, 33].

ИФА нинг гетероген турининг ҳам иккита, яъни рақобатга асосланган ва асосланмаган турлари мавжуд. Рақобатга асосланган турининг бир нечта вариантлари мавжуд бўлиб, бунда ИФА қуйидаги тартибда олиб борилади:

А) Дастлаб АТ қаттиқ фазага адсорбцияланади ҳамда ортиқча АТ ювиб ташлангандан сўнг АГ ва фермент солиниб инкубацияланади. Ундан сўнг реакцияга ҳалақит берувчи моддалар ювиб ташланиб устидан субстрат солинади ва реакциянинг бориш жараёни кузатилади [4, 22, 33].

Б) Иккинчи вариантида эса дастлаб АГ қаттиқ фазага адсорбцияланади ва маълум муддатдан сўнг ортиқча АГ ювиб ташланиб устидан АТ ва фермент билан биргаликда стандарт ёки ўрганилаётган АГ аралаштириб солиниб инкубацияланади ҳамда ювилиб устидан субстрат солинади [37]. ИФА нинг рақобатга асосланмаган турининг ҳам тўғри, нотўғри ва «сэндвич» каби турлари мавжуд бўлиб, улар қуйидаги тартибда олиб борилади:

А) «Сэндвич» вариантида дастлаб АТ қаттиқ фазага адсорбциялангандан сўнг ортиқча АТ ювиб ташланади. Унинг устига АГ иммобилланади, маълум муддат сақлангандан сўнг ортиқча АГ ювиб

ташланади ва устидан конъюгат солиниб 3-4 соат давомида иммобилланади. Ортиқча конъюгат ҳам ювиб ташлангандан сўнг субстрат солиниб реакциянинг бориш жараёни кузатиб борилади. Бу усул бутербродни эслатгани учун «сендвич» (Sandivich) усули деб аталади [4, 25, 33, 37, 45].

Б) ИФА нинг «тўғри» вариантыда дастлаб қаттиқ фазага АГ 3-4 соат 37°C да иммобилланади. Ортиқча АГ ювиб ташлангандан сўнг устига конъюгат солиниб худди юқоридагидек иммобилланади ва маълум муддатдан сўнг ортиқча конъюгат ювиб ташланиб, субстрат солинади ва реакция бориши 30-60 дақиқа давомида кузатиб борилади [33, 37].

В) «Нотўғри» вариантда АГ дастлаб қаттиқ фазага иммобилланади, ортиқча АГ ювиб ташлангандан сўнг устидан АТ иммобилланади, унинг ҳам ортиқчаси ювиб ташланиб устидан конъюгат солиниб 3-4 соат давомида 37°C да инкубация қилинади ва ундан кейин ортиқча конъюгат ювиб ташланиб устидан субстрат солиниб реакциянинг бориши кузатиб борилади [5, 45].

Бу усулларда АТ ёки АГ ни ташувчиси сифатида органик табиатли полистирол, поливинилхлорид, полипропилен каби моддалар ишлатилади. Шу билан бир қаторда конъюгат (лот. coniugatio - бирлашиш) ва субстрат ҳам ишлатилади. Конъюгат АТ ва фермент бирикмаси бўлиб, унда ферментга специфик субстрат ишлатилади. Масалан, пероксидаза ферментига H_2O_2 орто-дианизидин ёки ортофенилендиамин, 2,2-азино-диэтилбензитазолинсульфат (АБТС), ишқорий фосфатаза ферментига р-нитрофенилфосфат, глюкозооксидаза ферментига H_2O_2 орто-дианизидин, D-β-галактозидаза ферментига эса р-нитрофенилфосфат ёки D-β-галактозид ишлатилади [33].

Юқори сезгирликка асосланганлиги ва бир вақтнинг ўзида бир қанча намунани аниқлай олиши ИФА нинг бошқа аналитик усуллардан афзаллигини кўрсатиб берди. Шунинг учун бугунги кунда ИФА медицина, ветеринария, қишлоқ хўжалиги, озиқ-овқат саноати ва илмий тадқиқотнинг биохимия, хужайра физиологияси, иммунология, микробиология, вирусология каби бир қатор йўналишларида кенг қўлланилмоқда [9, 31, 51].

Медицина соҳасида бу усул миокард инфаркт, аллергия, инфекция ва паразитар касалликларни аниқлашда ишлатилмоқда. Миокард инфаркти креаткиназа (КК) изоферменти миқдори асосида аниқланади. Соғлом одам қонида бу фермент деярли учрамайди. Қон плазмасида фермент пайдо бўлишини ушбу усул ёрдамида аниқлаб, миокард инфарктнинг олди олинмоқда [5, 7, 15, 46]. Шу билан бир қаторда бу усул ёрдамида сифилис, ОИТС, грипп, вирусли гепатит, герпес каби инфекция касалликларни барвақт фазаларда аниқлашга имкон яратилмоқда. ИФА усули турли вирусли касалликларнинг, жумладан, вирусли гепатитнинг - А, В, С, Д ва Е каби турларини дифференциал диагностика қилиш имкониятига эга [9, 31].

Ветеринарияда инфекция касалликларни, ҳайвон маҳсулотлари таркибидан турли захарли моддаларни аниқлашда ҳамда бир қатор илмий тадқиқот йўналишларида, жумладан фитовирусологияда ИФА кенг қўлланилади. Бундан ташқари бугунги кунда турли қишлоқ хўжалик экинларининг, жумладан картошка ўсимлигидан апикал меристема усули ёрдамида «вируссиз ўсимлик» яратилмоқда ва кенг миқёсда вируссиз уруғ сифатида тарқатилмоқда. Бу жараён бир неча босқичдан иборат бўлиб, бир мунча узоқ вақтни талаб этади. Бу вақт давомида яратилган вируссиз ўсимлик вирус билан иккиламчи зарарланмаганлиги ҳамда вирус касалликларининг тарқалиш ареали, резерватор ўсимликларини ва табиий ўчоқлари ИФА ёрдамида назорат қилиб бориш бир қатор қулайликларни яратади [51].

Умуман олганда бу усул ўзининг тезкорлиги, сезгирлиги ва бир вақтнинг ўзида бир қанча намунани аниқлай олиш каби афзалликларга эга. Шунинг учун бу усул бугунги кунда медицина, халқ хўжалигининг турли жабҳаларида ва илмий тадқиқотнинг кўпгина соҳаларида кенг қўлланилмоқда.

III БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИ АНИҚЛАШ УСУЛЛАРИ ВА ШАРОИТЛАРИ

3.1-§. Тадқиқот ўтказилган жой, зарур ашё ва шароитлар

Ушбу тадқиқотлар Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети Микробиология ва вирусология кафедраси “Фитовирусология” илмий лабораторияси ҳамда ЎЗР ФА Генетика ва ЎЭБ институти лабораторияларида ўтказилган. Тадқиқот ишларини ўтказиш учун зарур бўлган реактивлар, картошка вируслари антитаналари (АТ (IgG)), конъюгат (IgG+ишқорий фосфатаза) ва полистрол планшетлар «International Center of Potato» СР ташкилотидан олинган. Бундан ташқари ишда хлороформ, полиэтиленгликол (м.м. 6000), этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), натрий тиосульфат ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + 5\text{H}_2\text{O}$), фосфат буфери (K_2HPO_4 ва Na_2HPO_4), трис- HCl (трис- оксиметиламинометан) каби кимёвий реактивлардан ва тоза вирус препаратини олишда ишлатилган гелъфилтрация усули учун эса «Difco» агари, сефадекс G-200 (Fine Chemicals AB, Sweden) каби бир қатор кимёвий моддалар ишлатилди. Фойдаланилган барча реактивлар «кимёвий тоза» ёки «анализлар учун тоза» белгисига эга. Модел тажрибаларда ишлатилган тамаки мозаика вируси *Nicotiana barley* тамаки ўсимлигидан дифференциал центрифугалаш усули билан ажратилди. Асосий тадқиқот ишлари картошканинг А, S, X, Y, L ва М-вируслари устида олиб борилиб, бу вирусларнинг ичидан асосий тадқиқот объекти сифатида КХВ дан фойдаланилди.

3.2-§. Тадқиқот манбалари

Тадқиқот манбаи сифатида мамлакатимизда бугунги кунда экилган ва иқлимлаштирилган картошка навлари, турли ёввойи ўсимликлар, вирусларни ажратиш, идентификациялашда фойдаланилган индикатор ўсимликлар ва бошқа қатор манбалардан фойдаланилган.

Тадқиқот манбаи сифатида фойдаланилган картошка навлари қуйидаги жадвалда келтирилган (3.1-жадвал).

Тадқиқот манбаи сифатида фойдаланилган картошка навлари

Картошка навлари		
иқлимлаштирилган	маҳаллий	клонлар
Кондор, Курадо, Вирго, Невский, Дитта, Романо, Арнова, Мирям, Марфона, Дезире, Санте	Писком Тўйимли, Сарнов Диёра, Акраб	К-2, К-3, К-6, К-1, К-10, К-11, К-27, К-29, К-5, К-13, К-15, К-17, К-18, К-20, К-26 К-7, К-16, К-19, К-21, К-31

3.3-§. Тадқиқот услублари

Ушбу ишда картошка вируслари идентификацияси учун бир қатор классик ва замонавий услублардан фойдаланилган. Қуйида уларнинг ҳар бирига тўхталиб ўтамиз.

Ўсимликларга механик усулда вирус юктириш. Бунинг учун дастлаб вирус билан касалланган ўсимлик аъзоларидан (барг, илдиз ёки поя) намуна олиниб, чинни ҳовончада буфер қўшилиб (1:1) майдалангандан сўнг тўрт қават докадан ўтказиб вирусли шира тайёрлаб олинди. Тайёр бўлган вирусли ширани ўсимликларга юктириш учун дастлаб касаллантириш зарур бўлган ўсимликнинг барг устига корунд (алюминий оксиди) ёки карборунд (кремний карбид) чанглатилиб, икки-уч томчи вирусли ширадан томизилади ва яхшилаб ювилган қўл бармоқлари ёрдамида оҳиста суртилади ҳамда ўсимлик 1-2 соат салқин жойда сақланди. Касаллантирилган ўсимликларга этикеткалар осилиб ва кузатиб борилди.

Ўсимликларнинг касалланиш даражасини ва вируснинг ҳосилдорликка таъсирини аниқлаш. Ўсимликларнинг касалланиш даражасини аниқлаш учун 1 га майдондан диагоналига бир-бири билан кесишадиган чизиқ бўйлаб 20 та 1 м² дан майдончалар белгиланиб олиниб, улардаги ўсимликлар текшириб чиқилади ва касалланиш даражаси Ю.И. Власов усулида, яъни қуйидаги формула асосида ҳисобланди [4, 7].

$$P = \frac{n \times 100}{N}$$

Формуладаги: P – касалланиш даражаси (поражаемость – P, %); n – касал ўсимликлар сони; N- умумий текширилган ўсимликлар сони.

Вирусларининг ҳосилдорликка таъсири қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланди [4].

$$B = \frac{(A - a) \times 100}{A}$$

Формуладаги: B - кўрилган зарари ёки нобуд бўлгани ҳосил миқдори (%); A - соғлом ўсимлик ҳосили; a - касалланган ўсимлик ҳосили. Статистик маълумотлар “Microsoft Excel” компьютер дастури ёрдамида математик йўл билан ҳисобланди.

Намуна йиғиш ва ИФА ёрдамида ўсимлик вирусларини диагностика қилиш. Бунинг учун картошка экилган майдоннинг 20 нуқтасидан, ҳар бир нуқтадан 4 та, жами 80 та ўсимлик барги олиниб алоҳида полиэтилен халтачаларга жойланди ва ИФА текширишлари учун лаборатория шароитида совутгичда (+4°C), дала шароитида эса термос музлатгичда сақланди. Йиғилган намуналар ИФА ёрдамида текширилиб ўсимликларнинг касалланиш даражаси аниқланди. Илмий тадқиқотлар олиб боришда асосан ИФА нинг учта варианты ишлатилди. Улар қуйидагича бажарилди:

а) ИФА нинг «сэндвич» варианты ёрдамида вирусларни диагностика қилиш учун дастлаб АТ (IgG) таркибида Na₂CO₃ (0,2г), NaHCO₃ (0,44г), NaN₃ (0,03г) бўлган 2 мл суюлтириш учун ишлатиладиган буфер (№1) (битта планшет учун) ва 8 мл дистилланган сув билан тайёрланган аралашмага 35 мкл дан солиниб суюлтирилди ва полистирол планшетларнинг ҳар бир чуқурчасига 100 мкл дан солиниб полиэтилен халтачаларга жойлангандан сўнг 37°C да 3-4 соат давомида иммобилланди. Ортиқча АТ ни ювиш учун ишлатиладиган, 1л учун таркибида NaCl (8,0г), KH₂PO₄ (0,2г), Na₂HPO₄ (1,15г), KCl (0,2г), NaN₃ (0,195г), дистилланган сув ва 0,5 мл (20 томчи) твин 32

бўлган буфер (№2) ёрдамида ювиб ташланди. Ундан сўнг йиғилган намуналар ювиш учун ажратилган буфернинг 200 мл да тайёрланган, таркибида поливинилпирролидин (PVP) (2,0г) ва тухум альбумини бўлган экстракция буфери (№3) (4:1) солиниб, яхшилаб майдаланиб ўсимлик шираси чиқарилди ва бу ширадан 100 мкл дан олиб полистирол планшетларнинг чуқурчаларига солиб, юқоридаги каби иммобилланди. Ортиқча АГ ювиш учун ажратилган буфер (PBS-твин) билан уч марта ювиб ташланди. Сўнггра ювиш учун тайёрланган таркибида PVP (0,4г) ва тухум альбумини (0,04г) бўлган 20 мл буферда (№4) эритилди ва унга 35 мкл конъюгат (IgG+ишқорий фосфатаза) солиниб суюлтирилди ҳамда полистирол планшетларнинг ҳар бир чуқурчасига 90 мкл дан солиниб, АГ ва АГ каби иммобилланди. Ортиқча конъюгат ҳам ювиш учун тайёрланган буфер ёрдамида уч марта ювиб ташланди.

Сўнгги босқичда таркибида диэтаноламин (17,46 мл), 9,6 мл дистилланган сув, HCl (2,4 мл) бўлган субстрат буфери (№5) дан ҳар бир планшет учун 2 мл ва 8 мл дистилланган сув аралашмасига субстрат таблеткаси (p-нитрофенилфосфат) солиниб тайёрланган субстрат планшетларнинг ҳар бир чуқурчасига 80 мкл дан қуйилиб 30-60 дақиқа давомида кузатиб борилди.

б) ИФА нинг «тўғри» варианты ёрдамида картошка вирусларини диагностика қилиш учун дастлаб текшириладиган ўсимлик шираси, яъни АГ полистирол плашкаларга 3-4 соат давомида 37°C да иммобилланади. Сўнггра ортиқча АГ ювиш учун тайёрланган буфер (№2) ёрдамида ювиб ташланиб, устидан конъюгат солиб худди юқоридагидек шароитда иммобилланади. Ортиқча конъюгат ҳам ювиб ташланиб устидан субстрат солиниб, 30-60 дақиқа давомида кузатиб борилади.

с) Усулнинг «нотўғри» варианты ёрдамида вирусларни диагностика қилиш учун дастлаб полистирол планшетларга текширилаётган ўсимлик шираси (АГ) иммобилланади. Сўнггра ортиқча АГ ювиб ташланиб устидан АТ 3-4 соат давомида 37°C да иммобилланади, ортиқча АТ ҳам ювиб

ташланиб, устидан планшетларга конъюгат юқоридагидек шароитда иммобилланади. Конъюгатнинг ҳам ортикчаси ювиб ташланиб устидан субстрат солиниб юқоридагидек муддат давомида реакциянинг бориши кузатиб борилади ва натижалар қайд этилади.

ИФА натижаларини қайд этиш ва вирус миқдорини аниқлаш.

а) ИФА натижалари икки усулда қайд этиб борилади, яъни кўз билан ҳамда «ELISA reader» номли махсус қурилма ёрдамида. Натижаларнинг кўз билан қайд этилиши асосан реакциянинг ранг ўзгариши билан аниқланади. «ELISA reader» ёрдамида натижаларнинг қайд этилиши планшетларга субстрат солингандан 60 дақиқа ўтгач аниқланади. Бунда планшетлар қурилмага қўйилади ҳамда планшет ҳар бир чуқурчасининг нур ўтказиш кўрсаткичининг сон билан ифодаланишига қараб аниқланади. Улар қуйидагича белгиланади: 0,400-0,700 нм «+» ни; 0,701-1,0 нм «++» ни; 1,1-1,3 нм «+++» ни; 1,4-2,0 нм ва ундан юқори ҳолатда «++++» ни англатади. Қурилма ёрдамида қайд этилган 0,400 нм дан кичик нур синдириш кўрсаткичига эга бўлган планшет чуқурчаларига солинган намуналарда вирус йўқ деб ҳисобланади.

б) ИФА усули ёрдамида вирус миқдорини аниқлаш учун дастлаб бир хил миқдорда вирусли намуна олиниб ундан буферсиз 1 мл юқумли шира тайёрлаб олиниб, уни 10^{-10} гача суюлтирилади ва АТ иммобилланиб ювилган планшет чуқурчаларига (икки қайтарилишда) ҳар пробиркадаги намуна иммобилланиб «сэндвич» варианты ёрдамида текширилади. Бизга маълумки усулнинг бу варианты вирусларни 0,1 нг гача аниқлай олади [31,45]. Шундан келиб чиқиб энг охирги реакция берган планшет чуқурчасидаги вирус миқдорини 0,1 нг деб олиниб, намуна суюлишига тескари йўналишда 10 мартадан кўпайтирилиб вирус миқдори ҳисоблаб топилади, чунки намуна ҳар суюлтирилганда 10 мартадан суюлган. Уни қуйидагича тасвирлаш мумкин: 10^{-1} да 0,1 нг; 10^{-2} да 1 нг; 10^{-3} да 10 нг; 10^{-4} да 100 нг; 10^{-5} да 1 мкг; 10^{-6} да 10 мкг; 10^{-7} да 100 мкг; 10^{-8} да 1 мг; 10^{-9} да 10 мг; 10^{-10} да эса 100 мг вирус бор деб ҳисобланади.

КХВ нинг тоза препаратини олиш. КХВ нинг тозаланган препаратини олишда бир қатор муаллифлар [2, 5, 44] ишлаб чиққан усуллардан фойдаланиб, тозалаш усули модификация қилинди. Бу усул дастлаб вирусли намунани музлатиш, гомогенатни хлороформ билан ишлов бериш олдидан центрифуга қилиниши, вирус концентрациясини оширишда аммоний сульфат тузидан фойдаланиш каби томонлари билан фарқланади. Бунда КХВ билан касаллантирилган бангидевона (*D. stramonium*) барги йиғиб олиниб, -4°C да сақланди, бу хужайра компонентлари ва қобиғининг осон парчаланишига ёрдам беради. Олинган вирусли намунага 0,02М ли ФБ (рН 7.5) (1:1) қўшиб гомогенизаторда 15 дақиқа давомида майдаланди ва ҳосил бўлган масса тўрт қават докадан ўтказилгандан сўнг, гомогенат 4000 айл./дақ.да 20 дақиқа центрифуга қилиниб, ЧУС олинди ва унга хлороформ (8:1) солиниб, 20 дақиқа чайқатилгандан сўнг яна 20 дақиқа 4000 айл./дақ.да центрифуга қилинди. Сўнгга ЧУС га 25% ли аммоний сульфат солиб эритилиб, 1 соат +4°C да сақлаб, яна 5000 айл./дақ.да 20 дақиқа центрифуга қилиниб, вирусли чўкма ажратиб олинди, ЧУС эса ташлаб юборилади. Чўкма 0,02М ли (рН 7,5) ФБ да эритилиб вирус эритмага ўтказилди ва яна 5-10 дақиқа паст 6000 айл./дақ.да центрифуга қилиниб вируснинг қисман тозаланган препарати олинди, уни буткул тозалаш учун эса гельфилтрация усулидан фойдаланилди.

Гельфилтрация усулида вирусни тозалаш учун дастлаб 3% ли агар-агар гели тайёрлаб, совутилгандан сўнг совутгичда қотирилди. Гель олиниб гомогенизаторга ФБ билан қўшиб 1 дақиқа давомида майдаланди. Майдаланган гель асосий ҳажмига нисбатан 2-3 марта кўпроқ буфер солиниб чайқатилди ва 5 дақиқа тиндирилиб, устки қисми резина най ёрдамида қуйиб олинди ва шу вақт давомида чўккан гель бўлакчалари колонкага жойланди. Колонкага гель бўлакчалари жойланаётганда ундаги сув максимал даражада камайтирилиб, шиша таёқча ёрдамида (орасига ҳаво кириб қолмаслиги учун) оҳисталик билан аралаштирилди ва ўлчами 2×20 см бўлган хроматографик колонка дастлаб агар-агар гели (12-14 см) ва устидан сефадекс G-200 (6-8 см)

билан тўлатилди. Гель устига фильтр қоғози қўйилиб, таркибида 0,01М ли KCl бўлган 0,02М ли ФБ (рН 7,5) билан колонка 1 сутка давомида ювилгандан сўнг, 2 мл қисман тозаланган вирус препарати солиниб гельфилтрация амалга оширилди ва тоза препарат олинди.

Спектрофотометрия усулида вирус препаратини анализ қилиш. Хромотографик колонка ёрдамида тозаланган вирус препаратининг УБ-нуруни ютишига қараб тозалик даражаси ва тозаланган вирус миқдори «Ломо-20» маркали спектрофотометрда 220-310 нм тўлқин узунлигида ўлчаниб аниқланди [6, 37]. Вирус миқдори уларнинг нур ютиш кўрсаткичи, яъни $E_{260}^{0,1\%}$ 1см да УБ-нуруни ютиш коэффиценти асосида аниқланди [4]. КХВ нинг $E_{260\text{нм}}^{0,1\%}$ 1см $\approx 2,8$ ни, 260/280 нисбати эса 1,2 ни ташкил этади [66, 75, 89].

Электрон микроскопия усулида вирусларни аниқлаш. Тозаланган КХВ препарати «Hitachi» электрон микроскопида 50 000× катталаштирилиб текширилди. Мис тўрнинг таглик пардаси сифатида коллодий пардаси (амилацетатда эритилган 0,5% ли коллодий) ёки тешикчали формварли парда (дихлорэтанда эритилган 2% ли формвар) ишлатилди. Контрастловчи модда сифатида 2% фосфорвольфрам кислотаси (ФВК) ёки 1% уранилацетат ишлатилди. Вирусни электрон микроскопда аниқлаш учун тозаланган вирус намунасидан 1 томчи олинди коллодий ёки формвар қопланган мис тўр устига томизилди ва ортиқчаси фильтр қоғоз билан шимдириб олинди. Ундан сўнг коллодий таглик устидаги вирус икки дақиқа давомида 2% ли фосфорвольфрам кислотаси ёрдамида контрастланди. Бунда вирус заррасининг бўшлиқ қисмлари ФВК билан тўлатилди, яъни негатив контрастланди. КХВ нинг электрон микрофотографияси ва морфологиясини ўрганиш МДУ нинг «Ўсимлик вируслари биохимияси» лабораторияси кичик илмий ходими б.ф.н. В.К. Новиков билан ҳамкорликда бажарилди.

Вирусларнинг физик хусусиятларини аниқлаш. Вируснинг ОСД аниқлаш учун вирус билан касалланган ўсимлик барги чинни ҳовончада буферсиз майдаланиб, тўрт қават докадан сузилиб юқумли шира тайёрлаб

олинди ва ундан 2-3 мл назорат сифатида олиб қўйилди, қолган 10 та пробиркага 1,8 мл дан 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) солиб пробиркалар рақамлаб чиқилди ва назорат учун олиб қўйилган вирусли ширадан 0,2 мл олиб биринчи пробиркага солиб аралаштирилгандан сўнг ундан яна шунча микдорда бошқа пробиркага қуйилди ва худди шу тартибда 10^{-10} гача суюлтирилиб, ҳар бир намуна билан *G. globosa* ўсимлиги механик усулда касаллантирилди ва симптом пайдо бўлгунча кузатиб борилди.

ХТФЙ даражасини аниқлаш учун вирусли шира олиниб бир нечта юпқа деворли шиша пробиркага тенг (1 мл) ҳажмда солинди. Улардан биттаси назорат учун қолдирилиб, қолганлари эса сув ҳаммомида 10 дақиқадан 55, 60, 65, 70, 75 ва 90°C гача қиздирилди ва оқар сув тагида совитилгандан сўнг ҳар намуна билан *G. globosa* ўсимлиги касаллантирилди ва натижалар Р. Метьюз усулида аниқланди [34].

КХВга специфик антизардоб тайёрлаш. КХВ-Ўз нинг тоза препарати куённинг сон мушаклари ва курак ости соҳаларига Фрейн адьюванти билан қўшиб 5 марта юборилиб вирусга специфик АЗ тайёрланди [33]. Ҳар бир юборилганда эса 0,4 мг/мл дан вирусни кунора 1 мл тўлиқ Фрейн адьюванти билан қўшиб (1:1) юборилди. Охирги инъекциядан 14 кун ўтгандан сўнг 10 мл дан ҳафта давомида 2 марта қон олинди ва қон 2 – 3 соат термостатга 37°C да сақланиб, сўнгга +4°C да 5 – 6 соат давомида совутилди. Ундан сўнг денатурацияланган қоннинг шаклли элементларидан зардоб қисми ажратиб олинди. Зардобда қолган шаклли элементлар (эритроцитлар, лейкоцитлар, тромбоцитлар) 2000 айл./дақ.да 5 дақиқа центрифуга қилиниб тозаланди [60]. Тозаланган АЗ титри ТУ ва ИИД усуллари ёрдамида аниқланди. Титри аниқланган АЗ солинган идишга унинг титри, аниқлаш усули ёзилиб, 1 – 2 томчи хлороформ солиб музлаган ҳолда сақлаб қўйилди.

Иккиёқлама иммунодиффузия усули ёрдамида вирусларни диагностика қилиш. Вирус Ухтерлони ишлаб чиққан Зильбер ва Абелевлар томонидан микромодификация қилинган ИИД усули ёрдамида аниқланди. Бунда 1% «Difco» агарини 0,1М фосфат буферида (рН 8,0) эритилиб, 24 мл

60-65°C совутилган суюқ агарни «шайтон» (сув тарози) билан горизонтал жойлаштирилган, ўлчами 9×12 см бўлган шиша пластинка устига қуйилди. Агар-агар гели қотгандан сўнг, тешикчалар ораси 4 мм бўлган махсус штамплар ёрдамида юлдузчалар шаклидаги ҳамда тўғри чизик бўйлаб чуқурчалар тайёрланди ва бу чуқурчаларга 80 мкл дан АГ ва АЗ солингандан сўнг шиша пластинкалар махсус мосламага жойланиб, тагига 200 мл сув солинган эксикаторда 48 соат давомида сақланди. Бу муддат давомида АГ ва АТ диффузияси рўй бериб, уларнинг специфик тўқнашишидан преципитация линиялари ҳосил бўлди. Ҳар бир реакция натижалари акс этган агар бўлакчалари ёғсизлантирилган буюм шишаси устига жойлаштирилиб, хромотографик ёки фильтр қоғоз билан ёпилган ҳолатда 20°C да 15-20 соат давомида қуритилди. Сўнггра сув тагида намланиб фильтр қоғоздан тозаланди. Тозаланган агар бўлакчалари таркибида 1% ли амидошварц, метанол, сирка кислотаси ва сув (4:4:1) аралашмасидан иборат бўлган махсус бўёққа солиниб 10 дақиқа давомида преципитация чизиклари бўялди ва ундан сўнг препарат «ювувчи» суюқлик (бўёқсиз метанол, сирка кислотаси ва сув) билан бир неча марта ювилди. Қуритилгандан сўнг реакция натижалари ҳисобга олинди.

ИИД ёрдамида тадқиқ қилинадиган ўсимлик намунаси қуйидагича тайёрланди: ўсимлик барги ҳовончада эзилиб шираси чиқарилди ва 1:1 нисбатда 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) билан аралаштирилди, сўнг 8000 айл./дақ.да 10 дақ. давомида центрифуга қилингандан сўнг чўкма усти суюқлиги олинди. ЧУС АГ сифатида ишлатилди [5, 25, 27, 46].

IV БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИ ДИАГНОСТИКАСИДА ИММУНОЛОГИК УСУЛЛАРНИНГ ҚЎЛЛАНИЛИШИ ВА УНИНГ АФЗАЛЛИКЛАРИ

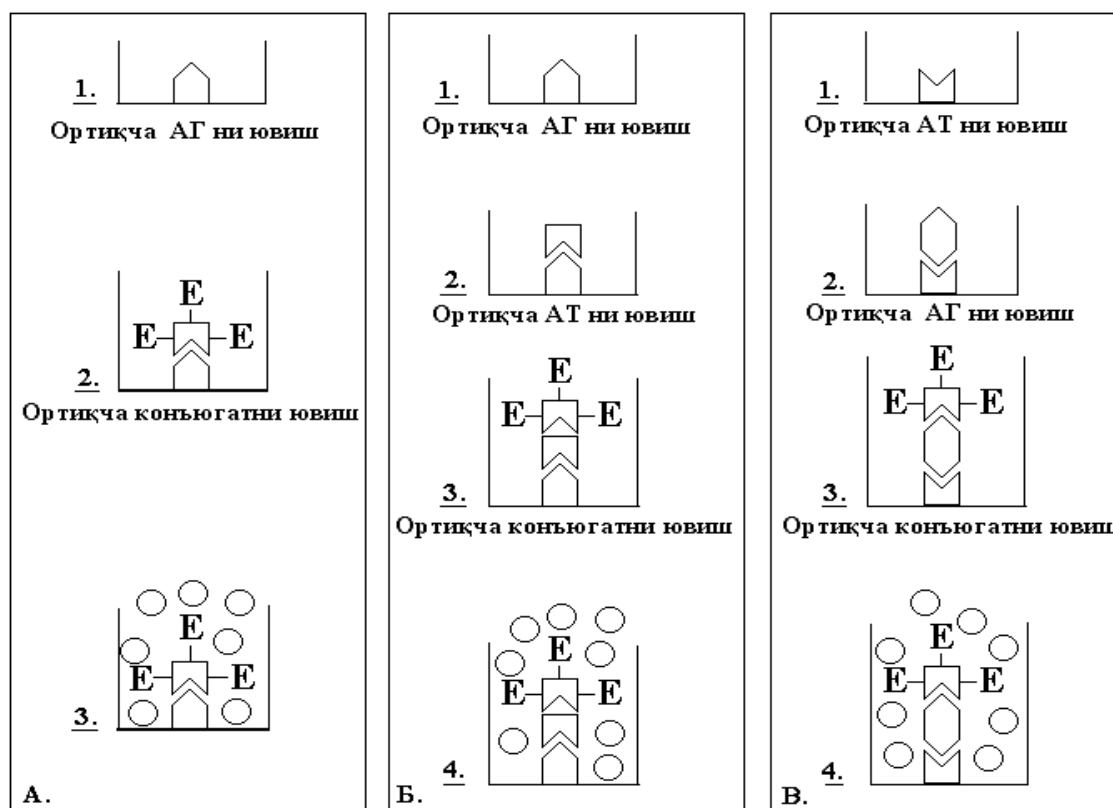
4.1-§. ИФА вариантлари ва бошқа иммунологик усуллар сезгирлигини солиштириш

Бугунги кунгача ўсимлик вирусларини диагностика қилишда индикатор ўсимликлар, киритмаларга асосланган, электронмикроскопия ва иммунология каби бир қатор усуллар қўлланилиб келинмоқда, уларнинг ичида иммунологияга асосланган усуллар ўзининг сезгирлиги, тезкорлиги ва бир қатор қулайликлари билан алоҳида ажралиб туради [4, 45], аммо охирги йилларда биотехнологиянинг, айниқса аналитик биотехнологиянинг ривожланиши натижасида иммунологик усулларнинг сезгир ва тезкор турлари яратилмоқда. Бу усуллар бир вақтнинг ўзида бир нечта намунани аниқлай олиши ва тезкорлиги, сезгирлиги билан бошқа усуллардан ажралиб туради. Бундай усуллар қаторига ИФА усулини киритишимиз мумкин, усулнинг бугунги кунгача ишлаб чиқилган бир қатор турлари мавжуд бўлиб, уларнинг ичида охирги йилларда вирусларни диагностика қилишда гетероген турининг бир нечта вариантлари қўлланилиб келинмоқда [5, 11, 16, 37]. Бу вариантлар ва баъзи иммунологик усуллар сезгирлигини солиштириш ҳамда уларнинг ичидан энг сезгир ва қулайини аниқлаш муҳим масалалардан бири ҳисобланади.

Буни аниқлаш мақсадида суялтириш орқали тайёрланган АГ намунаси олиниб ИФА нинг тўғри, нотўғри ва сэндвич вариантлари ҳамда ИИД ва ТУ ёрдамида текширилиб кўрилди ва бу усулларнинг сезгирлиги солиштирилди. Текширишда АГ сифатида КХВ дан фойдаланилди.

ИФА нинг «тўғри» варианты ёрдамида вирусни диагностика қилиш учун дастлаб қаттиқ фазага АГ 3-4 соат 37°C да иммобилланди, ортиқча АГ ювиб ташланиб, устидан худди юқоридагидек конъюгат иммобилланди. Ортиқча конъюгат ҳам ювиб ташлангандан сўнг полистирол планшетларнинг

чукурчаларига субстрат солиниб реакциянинг бориши 30-60 дақиқа давомида кузатиб борилди (4.1-расм, А).



Шартли белгилар: - қаттиқ фаза (полистирол), - АГ, - АТ, - конъюгат (IgG + ишқорий фосфатаза), - субстрат (р-нитрофенилфосфат), Е- фермент.

4.1-расм. Вирусларни ИФА нинг турли вариантлари ёрдамида диагностика қилишнинг схематик кўриниши: А-«тўғри» вариант, ундаги 1-АГ ни иммобиллаш, 2-конъюгатни иммобиллаш, 3-субстрат солиш; Б-«нотўғри» вариант, ундаги 1-АГ ни иммобиллаш, 2-АТ ни иммобиллаш, 3-конъюгатни иммобиллаш, 4-субстрат солиш; В-«сэндвич» варианты, ундаги 1-АТ ни иммобиллаш, 2-АГ ни иммобиллаш, 3-конъюгатни иммобиллаш, 4-субстрат солиш.

«Нотўғри» вариант ёрдамида вирусни диагностика қилиш учун аввал қаттиқ фазага АГ 37°C да 3-4 соат давомида иммобиллангандан сўнг ортиқча АГ юиб ташланиб, устидан АТ худди юқоридагидек иммобилланди. Ортиқча АТ юиб ташланиб, устидан конъюгат 3-4 соат, 37°C да

иммобилланди, ундан сўнг ортиқча конъюгат ювиб ташланиб субстрат солинди ва реакциянинг бориши кузатиб борилди (3.1.1-рasm, Б).

ИФА нинг «сендвич» варианты ёрдамида вирусларни диагностика қилиш учун эса олдинги икки вариантдан фарқли ўлароқ дастлаб каттик фазага АТ худди юқоридагидек иммобилланди, ортиқча АТ ҳам ювиб ташланиб устидан АГ иммобилланди ва маълум вақтдан сўнг ортиқча АГ ювиб ташланди. Устидан конъюгат 3-4 соат 37°C да иммобилланиб бўлингандан сўнг ортиқча конъюгат ҳам ювиб ташланди ва субстрат солиниб реакциянинг бориши 30-60 дақиқа давомида кузатиб борилди (4.1-рasm, В).

ИФА вариантлари, ИИД ва ТУ ёрдамида КХВ диагностика қилинди ва сезгирлик даражаси аниқланди, натижалар 4.1-жадвалда келтирилган.

4.1-жадвал

ИФА вариантлари ва бошқа иммунологик усуллар сезгирлигини аниқлаш

Т.р.	ИФА вариантлари ва усуллар	Суюлтириш даражаси, марта										
		Н	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
		Реакция кўрсаткичлари										
1	ТУ	+	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	ИИД	++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
3	Нотўғри	++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
4	Тўғри	++++	++++	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-
5	“Сендвич”	++++	++++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	-

Жадвалдан кўриниб турибдики КХВ дан юқорида айтиб ўтилгандек тайёрланган вирусли намуна ИФА нинг «тўғри» варианты ёрдамида диагностика қилинганда, вариант намуна 10⁻⁷ гача, «нотўғри» вариантда текширилганда эса худди шу намуна 10⁻⁴ гача, «сендвич» варианты ёрдамида текширилганда эса намуна 10⁻⁹ гача аниқлай олди. Шу билан

бир қаторда КХВ дан тайёрланган намуна томчи ва ИИД ёрдамида ҳам текширилиб усул сезгирилиги таққосланди. Томчи усули вирусни 10^{-1} гача, ИИД эса намунани 10^{-4} гача аниқлай олиши қайд этилди (4.1-жадвал).

Олинган натижалардан кўриниб турибдики (4.1-жадвал) КХВ ни диагностика қилишда ишлатилган иммунологик усуллар ичида энг сезгири ИФА нинг «сэндвич» варианты эканлиги маълум бўлди, ундан кейинги ўринда эса ИФА нинг «тўғри» варианты эканлиги ва унинг сезгирлиги 10^{-7} гача эканлиги маълум бўлди, аммо бу вариантнинг ҳам ўзига хос қулайлик томонлари ҳам мавжуд. Бунда биринчи навбатда қаттиқ фазага АТ иммобилланмасдан тўғридан-тўғри АГ иммобилланади ва устидан конъюгат адсорбцияланади, бу ўз навбатида бир қанча вақт ва АТ нинг тежалишига сабаб бўлади, диагностика қилиш учун кетадиган умумий вақт эса 9 соату 40 дақиқани ташкил этса, «сэндвич» ва «нотўғри» вариантлари учун кетадиган вақт 14 соатни ташкил этади, аммо «тўғри» вариантнинг аниқлик даражаси ва сезгирлиги «сэндвич» вариантыдан паст эканлиги маълум бўлди. «Нотўғри» вариант ҳамда ИИД усулининг сезгирлиги бир хил, яъни 10^{-4} , Томчи усулининг сезгирлиги эса уларнинг барчасидан паст эканлиги маълум бўлди.

Демак, олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин: ИФА вариантлари ичида «сэндвич» вариантынинг сезгирлиги қолган текширилиб таққосланган вариантлар ҳамда иммунологик усуллар ичида энг юқори эканлиги маълум бўлди.

4.2-§. Картошка вирусларини ИФА нинг «сэндвич» варианты ёрдамида миқдорий аниқлаш

Охириги йилларда бир қатор муаллифлар томонидан ИФА усули картошка вирусларини 0,1-1 нг/мл гача аниқлашини таъкидлаб ўтишган [34, 44]. Шунинг учун ИФА усулини картошка вирусларини миқдорий аниқлашда қўллаш яхши самара беради. Бунинг учун вирус билан касалланган ўсимликлардан олинган намуна (барг ёки поя) майдалангандан сўнг ўсимлик шираси олиниб 10^{-10} гача суюлтирилгандан сўнг АТ

иммобилланган полистирол плашкаларга қуйиб чиқилиб текшириш ишлари олиб борилди. Плашкалардаги реакция берган нуктани 1 нг деб олиниб, у 10 мартадан кўпайтирилиб борилди, чунки ҳар суюлтирилганда суюлиш даражаси 10 мартага ошиб борган. Ҳисоблаб топилган сон ўсимликдан ажратилган 1 мл ширадаги вирус миқдорини билдиради ва натижалар жадвалда келтирилган (4.2-жадвал).

Жадвалдан кўриниб турибдики, Тўйимли навида картошка S, M ва Y-вирусларининг концентрацияси бир хил, яъни 100 нг/мл, KLB и эса концентрацияси 1 мг/мл ни ташкил этиши (4.2-расм, А), аммо А ва Х-вируслари йўқлиги аниқланди (4.2-жадвал). Санте навида эса Y, А ва L -вирусларининг концентрацияси 1 нг/мл (10^{-2}), S-вируси 1 мкг/мл ва KXB эса 0,1 нг/мл ни ташкил этиши аниқланди (4.2-расм, Б), М-вируси эса умуман аниқланмади.

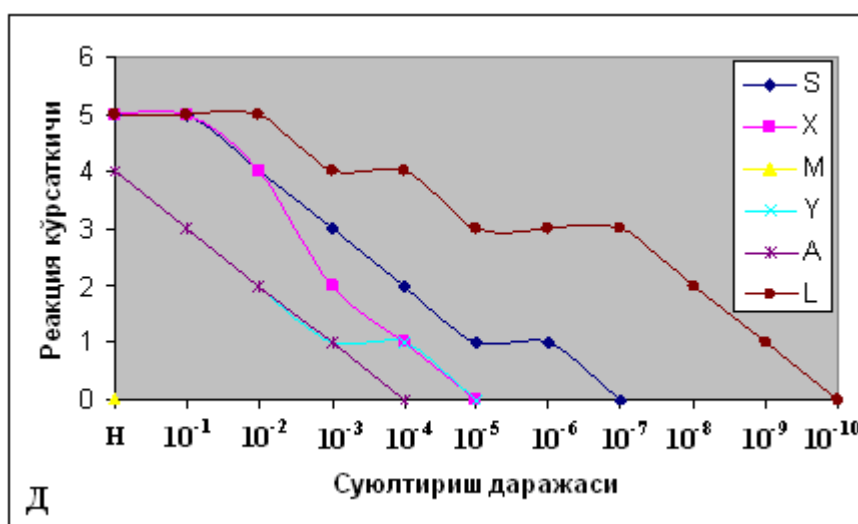
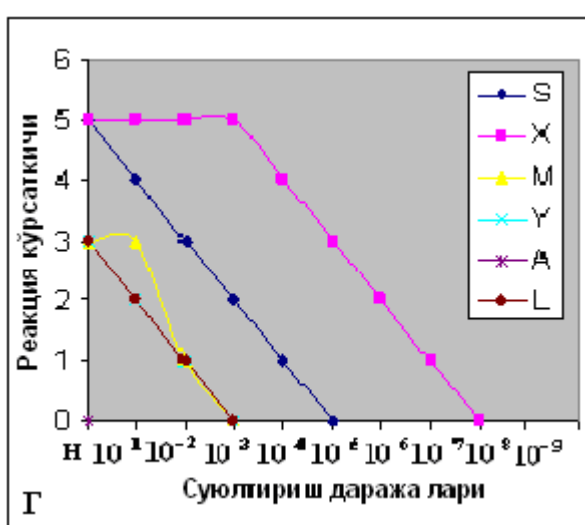
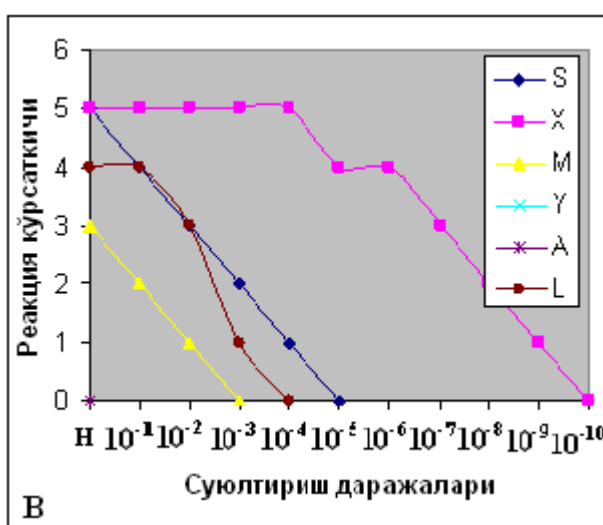
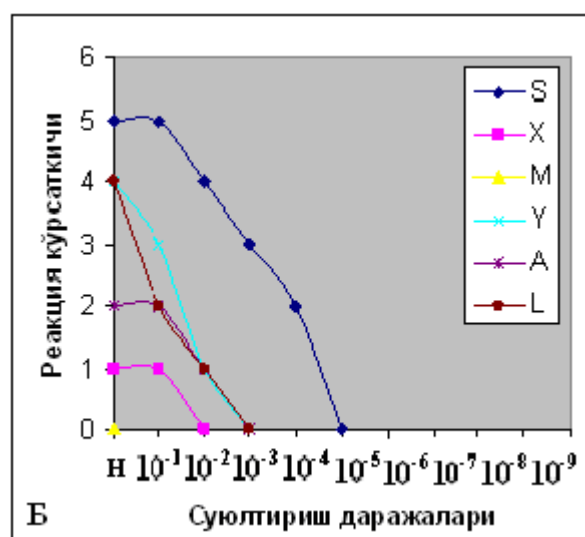
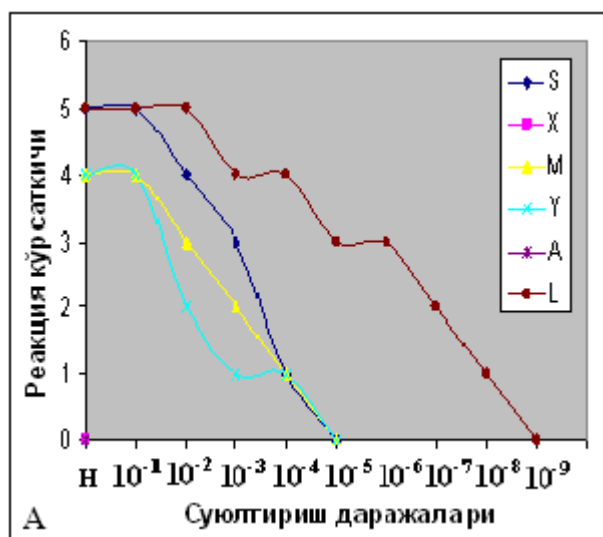
Марфона навида KSB 100 нг/мл, KLB 10 нг/мл, М-вируси юқори концентрацияда, яъни 10 мг/мл эканлиги аниқланди (4.2-расм, В). Диёра навида ҳам худди юқоридаги налдаги сингари Х-вирусининг концентрацияси юқори, яъни 100 мкг/мл, қолган М, Y ва L вирусларининг концентрацияси эса бир хил миқдорда 1 нг/мл (4.2-расм, Г), S-вирусининг концентрацияси 100 нг/мл эканлиги маълум бўлди. Ақраб навида эса энг юқори концентрацияда картошканинг L-вируси 100 мг/мл, қолган S, M, Y ва Х-вируслари 10-100 нг/мл эканлиги аниқланди (4.2-расм, Д). Айрим вируслар эса, масалан, А-вируси Тўйимли, Марфона ва Диёра навларида, М-вируси эса Санте ва Ақраб каби навларда аниқланмади (4.2-жадвал).

Дастлабки ва кейинги текширишлар натижасида маълум бўлдики, Ўзбекистонда бугунги кунда экиладиган навларда картошка вируслари кўп ҳолларда аралаш учрайди ва айрим навларда картошканинг Х, L-вируслари концентрациясининг ўта юқорилиги шундан далолат берадики, KXB кўп ҳолларда касаллик аломатларини намоён қилмайди ва йилдан-йилга ўсимлик туганагида сақланади. Шунинг учун бу вирусни кўп муаллифлар «соғлом ўсимлик вирусини» ҳам деб юритишган [2, 128].

**Картошка навларида вируслар концентрациясини ИФА ёрдамида
аниқлаш**

Т.р.	Нав номи	Вируслар	Суюлтириш даражалари, марта									Аниқланган вирус миқдори		
			н	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸			
			Реакция кўрсаткичи									нг	мкг	мг
1	Тўйимли	S	4+	3+	3+	2+	+-	-	-	-	-	100		
		X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		M	4+	4+	3+	2+	+-	-	-	-	-	100		
		Y	3+	3+	1+	+-	+-	-	-	-	-	100		
		A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		L	4+	4+	4+	3+	2+	2+	1+	1+	+-			1
2	Санте	S	4+	4+	3+	3+	1+	+-	-	-	-		1	
		X	+-	+-	-	-	-	-	-	-	-	0,1		
		M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		Y	3+	2+	1+	-	-	-	-	-	-	1		
		A	1+	1+	+-	-	-	-	-	-	-	1		
		L	3+	1+	+-	-	-	-	-	-	-	1		
3	Марфона	S	4+	3+	2+	1+	+-	-	-	-	-	100		
		X	4+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	1+	+-			10
		M	2+	1+	+-	-	-	-	-	-	-	1		
		Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		L	3+	3+	2+	+-	-	-	-	-	-	10		
4	Диёра	S	4+	3+	2+	1+	+-	-	-	-	-	100		
		X	4+	4+	4+	3+	3+	2+	1+	+-	-		100	
		M	2+	1+	+-	-	-	-	-	-	-	1		
		Y	2+	1+	+-	-	-	-	-	-	-	1		
		A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		L	2+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	1		
5	Ақраб	S	4+	4+	3+	2+	1+	+-	+-	-	-		10	
		X	4+	4+	3+	1+	+-	-	-	-	-	100		
		M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
		Y	3+	2+	1+	+-	-	-	-	-	-	100		
		A	3+	2+	1+	+-	-	-	-	-	-	10		
		L	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	1+	+-			100

Изох: Жадвалдаги «4+»- «++++»; «3+»- «+++»; «2+»- «++»; «1+»- + ни англатади.



4.2-расм. Картошка навларида вирусларнинг миқдорий кўрсаткичи (ИФАнинг «сэндвич» варианты ёрдамида аниқланган): А-Тўйимли, Б-Санте, В-Марфона, Г- Диёра, Д- Акраб; Реакция кўрсаткичи 0- “-”, 1-“+”, 2- “+”, 3-“++”, 4-“+++”, 5-“++++”.

Картошка баргининг буралиши (L) вируси эса биринчи йили фақат устки баргларда касаллик аломатлари намоён қилади, кейинги йилларда касаллик кучайиши кузатилади ва ўсимликнинг барча баргларида намоён бўлади [1, 6, 42, 75, 89].

КХВ ҳосилдорликни 10-59% га [2, 8, 40], КЛВ эса 80% гача пасайтириб қишлоқ хўжалигига катта иқтисодий зарар келтиради. Демак, картошка вируслари, жумладан Х, L каби картошка ҳосилдорлигига катта зарар келтирувчи ва йилдан-йилга туганакда сақланиб ўтиб борадиган вирусларни ИФА сингари сезгирлиги юқори бўлган усуллар ёрдамида аниқлаш уларнинг барвақт аниқланишига олиб келади ва тарқалишини маълум миқдорда олди олинган бўлар эди.

4.3-§. Тошкент ва Самарқанд вилоятларида картошка вирусларининг тарқалишини иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш

Бутун дунёда картошкачиликка энг катта зарар келтирадиган вирусларга картошканинг Х, У, S, М ва L каби вируслар киради [2, 4, 21, 81, 115]. Бу вирусларнинг ҳар бири картошка ўсимлигида ўзига хос характерли касаллик белгиларини намоён қилади, улар «хол-хол мозаика» (Х), «чизиқли мозаика» (У), «мозаикали буришиш» (У, Х ва А) ва «баргнинг буралиши» (L) кабилардир [5, 7]. Шу билан бир қаторда, уларнинг ўзига хос биологик хусусияти ва табиатда ўзига хос циркуляцияси ва «табiiй ўчоқлари» мавжуддир. Касалликнинг тарқалиши вирус «ўчоқлари» ва уларда қатнашувчи ўсимликлар, ҳашаротларнинг хусусиятларига ҳамда экологик шароитга боғлиқ бўлади [3, 14, 25, 53, 128].

Картошка вирусларига қарши кураш чораларини ишлаб чиқиш учун вирусларнинг биологик хусусиятларини, яъни резерватор ўсимликлари ва ташувчи ҳашаротларини ҳамда табиатда тарқалиш даражасини аниқлаш муҳим аҳамият касб этади. Шунинг учун мамлакатимизда энг кўп картошка етиштирадиган Тошкент ва Самарқанд вилоятларида картошка

вирусларининг тарқалиш даражаси ИФА усули ёрдамида ўрганиб чиқилди (4.3-жадвал).

4.3-жадвал

Тошкент вилоятида картошка навларининг вируслар билан касалланиш даражасини ИФА ёрдамида аниқлаш

№	Туман	Фермер хўжалик номлари	Тек. йил	Картошка навлари	Ер май. га.	Картошка вируслари антизардоблари						
						X	Y	S	L	A	M	
						Касалланиш даражаси %						
1	Қибрай	Қибрай агрокомплекс	07	Дитта	6	5	10	25	0	0	20	
09			Дезире	4	90	100	100	60	0	-		
2		Жайдакбаев Эдил	07	Дисера	3,5	0	20	5	0	0	75	
			09	Дисера	1	70	35	75	10	0	-	
3		Исматилла Жумадиллаев	07	Дитта	1	0	0	45	0	0	30	
			09	Дитта	8	5	35	10	10	0	-	
4	Паркент	Бойқозон Жам-плюс	07	Санте	0,7	10	10	90	0	0	60	
09			Санте	1	0	30	0	0	0	-		
5		Бойқозон Волид плюс	07	Санте	1	20	20	100	0	25	35	
			09	Санте	0,5	0	80	0	0	0	-	
6		Бойқозон тарнови	07	Рамона	1,5	5	10	55	25	20	10	
			09	Санте	1,5	0	60	25	0	0	-	
7		Оқул Орзу ривож	07	Дитта	1	35	5	35	30	30	30	
			09	Дитта	1	0	65	15	0	0	-	
8		Тошкент	Абдурахмон	07	Тўйимли	1.5	15	10	90	0	5	0
09				Марфона	3	0	70	75	40	35	-	
9			Гулноза Файз- барака	07	Тўйимли	1	5	10	95	25	0	0
				09	Тўйимли	2	15	40	10	5	0	-
10	Мурод агро- плюс		07	Тўйимли	2	30	15	80	15	0	0	
			09	Невский	3	15	60	35	25	10	-	
11	Батко агро- плюс		07	Тўйимли	7	50	20	80	20	20	20	
			09	Невский	3,5	5	5	10	20	0	-	
12	Зангиота	Дўстов Йўлдош	07	Тўйимли	2	10	10	55	25	20	10	
09			Тўйимли	3	20	5	80	10	15	-		
13		Йўлчи Ҳамид	07	Рамона	1	0	0	90	20	25	45	
			09	Тўйимли	4	20	45	50	25	0	-	
14		Юнусов Баҳром	07	Тўйимли	1	50	5	95	45	20	45	
			09	Тўйимли	1,5	55	15	70	5	0	-	
15		Рахматиллаев Исматилла	07	Тўйимли	1,5	30	15	30	45	25	40	
			09	Невский	1,5	25	10	40	35	10	-	

Изоҳ: Жадвалдаги «07»- 2007 йилдаги, «09»- 2009 йилдаги мониторинг натижаларини билдиради.

Жадвалдан кўриниб турибдики, Тошкент вилоятининг Қибрай туманида картошка ўсимлигини картошка Х-вируси 5%, У-вируси 10-20%, S-вируси 5-45%, М-вируси 20-75% касаллантирганлиги, KLB ва А-вируслари эса умуман касаллантирмаганлиги аниқланди. Паркент туманида Х-вируси 5-35%, У-вируси 5-20%, А-вируси 20-30%, М-вируси 10-60%, Тошкент туманида картошка Х-вируси 5-70%, У-вируси 10-20%, S-вируси 80-95%, М-вируси 20% ва А-вируси 5-20%, Зангиота туманида эса картошканинг Х-вируси 10-50%, У-вируси 5-15%, S-вируси 30-95%, М-вируси 10-45%, L-вируси 20-45% ва А-вируси 20-25% касаллантирганлиги тажрибада аниқланди (4.3-жадвал).

Тошкент вилоятида текширилган умумий (31,7 га) майдоннинг 50,4% (16,1 га) да маҳаллий Тўйимли нави, қолган 40,6% га Дитте, Дезира, Рамона каби чет мамлакатлардан келтириб иқлимлаштирилган навлар экилганлиги маълум бўлди. Маҳаллий нав картошканинг Х, S, М, А, У ва L-вируслари билан 28,5%, иқлимлаштирилган навлар эса 22,47% касалланганлиги аниқланди. Шулардан келиб чиқиб картошка вирусларининг Тошкент вилоятининг ҳар бир туманида ўртача тарқалиш даражаси аниқланди, натижалар жадвалда келтирилди (4.5-жадвал).

Жадвалдан кўриниб турибдики, Қибрай туманида картошканинг Х-вируси ўртача 1,6%, У-вируси 10%, S-вируси 25%, М-вируси 41,6% тақалган, KLB ва А-вирус умуман тарқалмаган. Паркент туманида картошканинг Х-вируси ўртача 17,5%, S-вируси 70%, У-вируси 13,75%, А-вируси 18,75%, М-вируси 33,75% тарқалган, Тошкент туманида картошканинг Х-вируси ўртача 30%, У-вируси 13,75%, S-вируси 86,25%, М-вируси 5% ва А-вируси 6,25%, Занги-ота туманида эса картошканинг Х-вируси ўртача 22,5%, У-вируси 7,5%, S-вирус 67,5%, KLB 33,75%, А-вирус 22,5% ва М-вирус 35% гача тарқалганлиги аниқланди.

Самарқанд вилоятидан йиғиб олинган намуналар ИФА ёрдамида текшириб чиқилди ва олинган натижалар 4.4-жадвалда келтирилди.

**Самарқанда вилоятида картошка навларининг вируслар билан
касалланиш даражасини ИФА ёрдамида аниқлаш**

№	Туман.	Фермер хўжалик номлари	Тек. йил	Картошка навлари	Ер май. га.	Картошка вируслари антизардоблари					
						X	Y	S	L	A	M
						Касалланиш даражаси %					
1	Тойлок	Қизил картошка	07	Рамона	3	25	100	10	85	35	65
2		Самарқанд агро	09	Санте	12	85	100	40	85	60	-
		Ботир Лочин	07	Санте	3	45	100	25	90	40	90
3		Даврон сабр	09	Крода	4,5	0	90	60	10	0	-
		Пайшанба Сиёб	07	Санте	0,5	20	95	55	70	75	95
4		Бекат	09	Санте	4	5	100	55	5	0	-
		Қум чинор	07	Санте,	4	10	100	20	80	35	35
		Пайшанба	09	Санте	3	35	100	65	60	0	-
5	Жомбой	Беш тепа	07	Рамона	2	30	95	40	80	45	70
6		Бурхон ота	09	Санте	6	20	100	5	0	0	-
		Сафар Ботир	07	Арнова	7	25	100	15	65	80	40
7		Қора ариқ	09	Санте	0,4	5	90	25	55	40	-
		Зарафшон	07	Арнова	0,6	30	95	15	50	40	55
8		Уста ғолиб	09	Крода	1,5	0	95	10	0	0	-
		Очил	07	Вирго	0,6	20	100	15	65	40	30
			Очил	09	Вирго	0,2	0	30	60	0	100
9	Булуғур	Сафар Ботир	07	Мирям	4	30	100	5	65	40	50
10		Эргаш бобо	09	Санте	0,4	50	70	35	95	100	-
		Фозил Йўлдош	07	Мирям	23	30	100	20	60	15	50
11		Ойбек	09	Санте	2	0	95	10	0	0	-
		Беш бола	07	Санте	2	15	100	80	45	20	50
		Бунёд	09	Рамона	3	10	100	30	0	0	-
12	Самарқанд	Ўзбекистон	07	Санте	1	35	100	10	55	20	45
13		Тиляков Шермат	09	Курада	0,2	0	100	15	5	0	-
		Наврўз	07	Санте	0,5	40	100	20	55	15	35
14		Самир МИМ	09	Санте	0,2	0	100	45	0	10	-
		Гулобод	07	Санте	0,5	10	100	15	90	35	30
15		Ориф Ҳасанов	09	Кондр	0,3	5	95	95	5	25	-
		Мажидов Халил	07	Санте	0,5	35	60	35	70	50	45
			Қаҳоров Мардон	09	Санте	2	0	100	95	15	5

Жадвалдан кўриниб турибдики, текширилган умумий майдоннинг ярмидан кўпроғи, яъни 51,72% (27 га) га Мирям, 17,24% (9 га) майдонга

Санте, қолган қисмига эса Арнова, Рамона, Крода каби картошка навлари экилган. Тойлоқ туманида КХВ билан Санте нави 10-45%, Рамона нави 25%, Жомбой туманида Вирго нави 20%, Арнова ва Рамона навлари 25-30%, Булунғур туманида Санте нави 15%, Мирям нави 30% касалланганлиги маълум бўлди. Самарқанд туманида текширилган фермер хўжаликларнинг барчасида Санте нави экилган ва унинг касалланиш даражаси 10-40% эканлиги тажриба натижасида аниқланди. КУВ билан ҳамма навларнинг касалланиш даражаси юқори, яъни 60-100% ни ташкил этди.

Олинган маълумотлар асосида, Самарқанд ва Тошкент вилояти туманларида картошка вирусларининг ўртача тарқалиш даражаси аниқланди (4.5-жадвал). КХВ Самарқанд вилоятининг Самарқанд туманида 30%, қолган туманларда эса деярли бир хил (25%) тарқалганлиги аниқланди. Тошкент вилоятида энг паст тарқалиш даражаси (1,6%) Қибрай туманида, Тошкент туманида эса 30% тарқалганлиги аниқланди. КУВ Самарқанд вилоятининг барча туманларида юқори даражада тарқалганлиги (90-100%) аниқланди, Тошкент вилоятида эса энг паст тарқалиш даражаси Занги-ота туманида (7,5%), энг юқори даража (13,75%) эса Тошкент туманида аниқланди. КСВ Булунғур туманида 35%, қолган туманларда эса бир хил миқдорда (23-26%), Тошкент вилоятининг Тошкент, Паркент ва Занги-ота туманларида жуда юқори (67-86,25%) даражада тарқалганлиги маълум бўлди. КЛВ эса Тойлоқ туманида 81,25%, Самарқанд ва Жомбой туманларида 65-67,5% тарқалганлиги аниқланди. Бу вирус Қибрай туманида умуман йўқлиги, Занг-ота туманида 33,75% тарқалганлиги маълум бўлди.

КАВ Самарқанд вилоятининг Жомбой туманида 51,25%, Булунғур туманида эса 25%, Тошкент вилоятининг Қибрай туманида умуман тарқалмаганлиги, қолган туманларда эса 6,25-22,15% тарқалганлиги маълум бўлди. КМВ Тойлоқ туманида 71,25%, Тошкент туманида эса 5% тарқалганлиги аниқланди (4.4-жадвал). Тошкент (4.2-расм, А) ва Самарқанд вилояти туманларида картошка вирусларининг ўртача тарқалиш даражаси қуйидаги 4.5-жадвал келтирилган.

**Картошка вирусларининг Тошкент ва Самарқанд вилояти туманларида
ўртача тарқалиш даражаси**

Т/р	Вилоят.	Туманлар	Тек. йил	Картошка вируслари антизардоблари					
				X	Y	S	L	A	M
				Картошка вирусларининг ўртача таркалиши, %					
1	Самарқанд	Тойлок	07	25±0.01	98,7±0.03	26,2±0.01	81,2±0.02	46,2±0.01	71,2±0.01
09			<u>32,5±0.01</u>	97,5±0.04	<u>55±0.01</u>	<u>40±0.01</u>	<u>15±0.009</u>	-	
2		Жомбой	07	26,2±0.01	97,5±0.004	23,7±0.01	65±0.01	51,2±0.01	48,7±0.01
			09	<u>6,2±0.06</u>	<u>78,7±0.001</u>	25±0.01	<u>13,7±0.09</u>	<u>35±0.01</u>	-
3		Булунгур	07	25±0.01	100±0.02	35±0.01	56,6±0.01	25±0.01	50±0.01
			09	20±0.01	<u>88,3±0.008</u>	<u>18,7±0.02</u>	47,5±0.01	25±0.01	-
4		Самарқанд	07	30±0.01	90±0.008	20±0.01	67,5±0.01	30±0.01	38,7±0.01
			09	<u>1,2±0.003</u>	98,7±0.003	<u>62,5±0.01</u>	<u>6,2±0.006</u>	<u>10±0.008</u>	-
5	Тошкент	Қибрай	07	1,6±0.003	10±0.008	25±0.01	0	0	41,6±0.01
09			<u>82,5±0.01</u>	<u>56,6±0.01</u>	<u>61,6±0.01</u>	<u>26,6±0.01</u>	0	-	
6		Паркент	07	17,5±0.01	11,2±0.008	70±0.01	13,7±0.09	18,7±0.02	33,7±0.01
			09	0	<u>58,7±0.01</u>	<u>10±0.08</u>	0	0	-
7		Тошкент	07	30±0.01	13,7±0.09	86,2±0.09	15±0.09	6,2±0.06	5±0.06
			0.9	<u>8,75±0.07</u>	<u>43,7±0.01</u>	<u>31,2±0.01</u>	<u>22,5±0.01</u>	<u>11,2±0.08</u>	-
8		Занги-ота	07	22,5±0.01	7,5±0.07	67,5±0.01	33,7±0.01	22,1±0.01	35±0.01
			09	30±0.01	<u>18,7±0.02</u>	60±0.01	<u>18,7±0.02</u>	6,2±0.06	-

Изоҳ: қийматлар $P < 0,05$ да назорат қийматидан ишончли фарқ килади.

Кейинги олиб борилган тажрибалар (2009 й.) натижасида Тошкент вилоятининг Қибрай туманида вируснинг тарқалиш даражаси бир мунча ўсганлигини кузатишимиз мумкин. Масалан, КХВ 1,6% дан 82,5% га, КУВ 10% дан 56,6% га, КСВ 25% дан 61,6% га, КЛВ эса 0% дан 26,6% гача

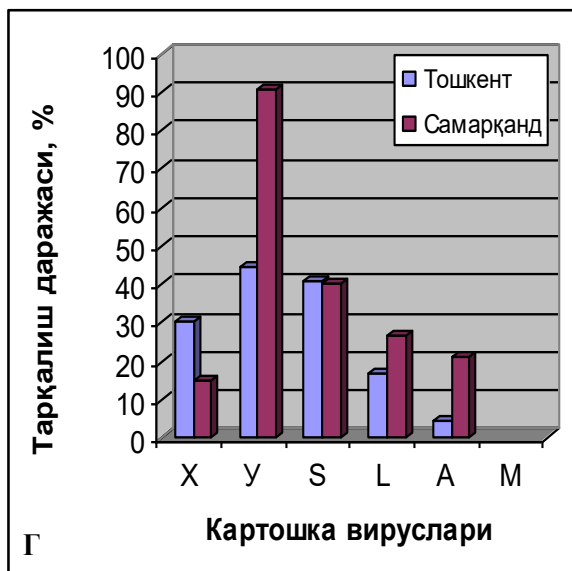
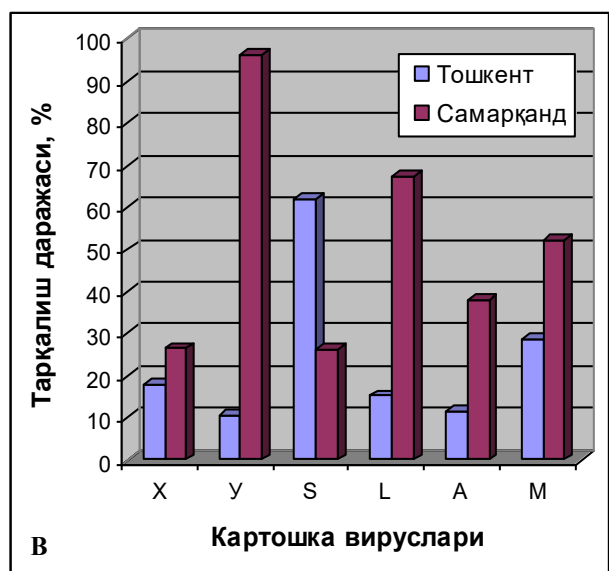
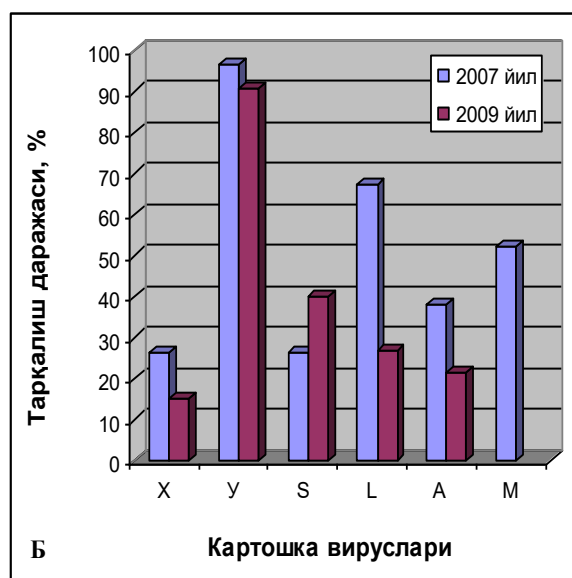
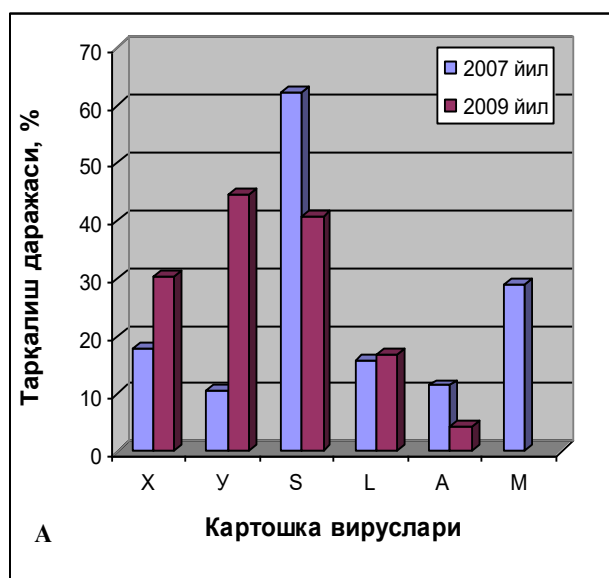
кўпайганлиги аниқланди, қолган туманларда ҳам шу ҳолатни кузатишимиз мумкин (4.2-расм, А).

Самарқанд вилоятининг Тойлоқ туманида КХВ нинг тарқалиши 25% дан 32,5% га кўтарилганлиги, Жомбой, Булунғур, Самарқанд туманларида эса вирус тарқалишининг камайганлигини кузатишимиз мумкин. Масалан, Самарқанд туманида бу вирус дастлабки текширишда 30% ни ташкил этган бўлса, кейинги текширишда эса 1,25% га, Жомбой туманида 26,25% дан 6,25% пасайганлиги аниқланди.

Вирусларнинг тарқалишини йиллар бўйича кўрсатадиган бўлсак, Тошкент вилоятида картошканинг Х, Y-вирусларининг тарқалиши бир қадар ўсганлигини, яъни Х-вирус тарқалишини 17,9% дан 30,3% га, Y-вируси 10,6% дан 44,6% га ортганлигини (4.2-расм, А), S ва А-вируслари тарқалиши бироз камайганлигини кузатишимиз мумкин (4.2-расм, А).

Самарқанд вилоятида эса картошка S-вирусидан ташқари текширилган вируслар тарқалиши бир қадар пасайганлиги аниқланди (4.2-расм, Б). Уларнинг тарқалишини солиштирадиган бўлсак, дастлабки текширишларда Самарқанд вилоятида картошка Х (26,5%), Y (96,5%), L- вируслар (67,5%) Тошкент вилоятига нисбатан кўпроқ тарқалганлиги, S ва М-вирусларининг эса кам тарқалганлиги аниқланган эди (4.2-расм, В). Кейинги мониторинг натижаларига кўра, Тошкент вилоятида Y, L ва А-вируслари Самарқанд вилоятига нисбатан камроқ тарқалганлиги, фақат Х-вируси Самарқанд вилоятига нисбатан кўп (30%) тарқалганлиги аниқланди (4.2-расм, Г). Ўтказилган тажрибалар натижасида, вируслар кўп тарқалишининг сабаби, бир неча йиллар давомида вирус билан касалланган картошка туганакларидан қайта уруғлик сифатида фойдаланишни кўрсатишимиз мумкин. Масалан, Тошкент вилоятининг Қибрай тумани ҳудудидаги «Қибрай агрокомплекс», «Жайдакбеков Эдил» каби бир қатор фермер хўжаликларда бир неча йил давомида бир хил картошка уруғлари қайта-қайта экилганлиги аниқланди. «Қибрай агрокомплекс» фермер хўжалиги 2007 йилги экилган Дезире навидан ҳозиргача уруғлик сифатида фойдаланиб

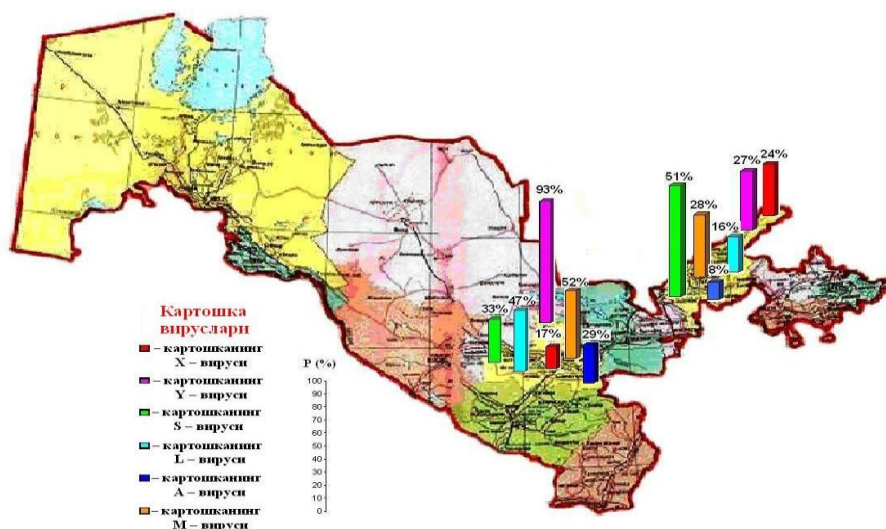
келган. Вирусларнинг тарқалиши шу жамоа хўжалигида 2007 йилда КХВ 5%, КУВ 10%, КСВ 25%, КМВ эса 20% ташкил қилган, L ва А-вируслари эса умуман тарқалмаганлиги аниқланган бўлса, бугунги кунда эса КХВ 90%, КУВ ва КСВ 100%, КЛВ 60% тарқалганлиги, КАВ эса худди аввалгидек аниқланмади (4.3-4.4-жадваллар).



4.2-расм. Тошкент (А) ва Самарқанд (Б) вилоятларида картошка вирусларининг тарқалиш даражаси ва уларнинг вилоятлардаги қиёсий кўриниши (В (2007 й.), Г (2009 й.)).

4.2-расмдан кўриниб турибдики, Тошкент вилоятида KSB энг кўп тарқалган (62,1%), иккинчи ўринда (28,8%) KMB, кейинги ўринда эса KXB (17,9%), қолган вируслар эса паст даражада (10,6-15,6%) тарқалган. Самарқанд вилоятида энг кўп тарқалган вирус KҮВ эkanлиги (96,33%), KLB ундан камроқ (68,33%), KMB 52,33%, X, S ва A-вируслари эса кам (24%-39%) тарқалганлиги маълум бўлди.

Олиб борилган кузатиш ва тажрибалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин. Демак, Тошкент вилоятида энг юқори даражада тарқалган вирус бу картошканинг S-вирусидир (62,01%), Самарқанд вилоятида эса KҮВ энг юқори даражада (96,33%) тарқалган. Умуман бу иккала вилоят текширилиб солиштирилганда Самарқанд вилоятида Тошкент вилоятига нисбатан картошка вируслари кўпроқ даражада тарқалганлиги аниқланди (4.3-расм). Бу ҳолат, шу вилоятларда вирус ташувчи ҳашаротларнинг турлитуманлиги, вирусларнинг «табiiй ўчоқлари», экологик шароит ва картошка экиш агротехникаси кабилар билан изоҳланади.



4.3-расм. Картошка вирусларининг тарқалиш картаси. Маштаб 1:6000000 (1 см да 60 км).

Икки йиллик (2007-2009) олиб борилган мониторинг асосида картошка вирусларининг Самарқанд ва Тошкент вилоятларида тарқалиш харитаси яратилди. Унга асосан Самарқанд вилоятида KXB 17%, KҮВ 93%, Тошкент

вилоятида эса КХВ 24%, КУВ 27% эканлиги аниқланди, қолган вирусларнинг тарқалиш даражаси харитада келтирилган (4.3-расмда).

Бу ҳолатларнинг олдини олиш учун биринчи навбатда маҳаллий навлардан келиб чиқиб уруғчиликда «вируссиз картошка» етиштиришни жорий қилиш, вирусларининг «табiiй ўчоқларини» ва табиатда айланиш занжирини ўрганиш муҳим ҳисобланади. Бундан ташқари вирус ташувчи ҳашаротларга ўз вақтида қарши курашиш ва уруғнинг иккиламчи касалланишига йўл қўймаслик муҳим масалалардан ҳисобланади.

4.4-§. Картошка вирусларининг резерватор ўсимликларини иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш

Вируссиз картошка олишда асосий эътиборни вирусларнинг «табiiй ўчоқларини» йўқ қилишга қаратиш лозимлигини бир қатор муаллифлар таъкидлаб ўтган [34, 49]. Турли хил касалланган ўсимликлар ва тупроқда қолган бундай ўсимликлар аъзоларининг қолдиқлари вирус касалликларининг «табiiй ўчоқлари» бўлиши мумкин [4, 48, 50].

А.Л. Амбросов, И.Т. Эргашев ва бир қатор муаллифлар итузум (*S. nigrum* L.), бангидевона (*D. stramonium* L.), печак (*C. arvensis* L.) каби ёввойи ўсимликлар [52, 54], Н.Н. Бабришев эса Ўзбекистонда помидор (*L. esculentum* Mill.), булғор қалампири (*C. annuum* L.) каби маданий ўсимликлар картошка Х, S ва М-вирусларининг яширин резерваторлари эканлигини тажриба асосида исботлаганлар [1, 7, 50].

Бундан ташқари, картошка вирусларининг табиатда айланишини ўрганишда, унинг ташувчи ҳашаротлари ва резерватор ўсимликларини аниқлаш бугунги кунда муҳим илмий ва амалий аҳамият касб этади [3]. Шунинг учун, ушбу ишда Тошкент вилояти иқлим шароитида ўсувчи касаллик аломатлари мавжуд ёки ҳеч қандай касаллик аломатлари бўлмаган 16 оилага мансуб 37 тур маданий ва ёввойи ўсимликлардан намуналар олинди ва ИФА ёрдамида текшириб чиқилди. Олинган натижалар 4.6-жадвалда келтирилган.

Картошка вирусларининг резреваторларини ИФА ёрдамида аниқлаш

Т.р	Ўсимлик оиласи ва турларининг номланиши	Картошка вируслари АТ					
		S	A	M	X	Y	L
		Реакция кўрсаткичлари					
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Итузумдошлар (<i>Solanaceae</i>) Картошка (<i>Solanum tuberosum</i> L.), Диёра нави	++++	+-	+-	+	-	-
2	Картошка (<i>S. tuberosum</i> L.), Умид нави	++++	+-	+-	+++	-	-
3	Картошка (<i>S. tuberosum</i> L.), Тўйимли нави	++++	-	+-	+-	-	-
4	Картошка (<i>S. tuberosum</i> L.), Санте нави	++++	-	++++	++++	-	-
5	Картошка (<i>S. tuberosum</i> L.), Акраб нави	++++	-	+++	++++	-	-
6	Картошка (<i>S. tuberosum</i> L.), нави ноаниқ	+-	-	++++	++++	+-	-
7	Бақлажон (<i>S. melongena</i> L.)	+	-	++	++++	-	-
8	Итузум (<i>Solanum nigrum</i> L.)	+-	-	++	+-	-	-
9	Бангидевона (<i>Datura stramonium</i>)	+-	-	+-	+	-	-
10	Мингдевона (<i>Datura mete</i> L.)	-	-	+-	+-	-	-
11	Помидор (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.)	+	-	+++	+++	-	++ +
12	Шўрадошлар (<i>Chenopodiaceae</i>) Олабута (<i>Atriplex micrantha</i> Mey.)	-	-	-	+-	-	-
13	Думбил шўра (<i>Ch. murale</i> L.)	+-	-	+-	+-	-	-
14	Оддий шўра (<i>Ch. quinoa</i> L.)	+-	-	-	+-	-	-
15	Ёввойи гултожихўроз (<i>Amaranthus retroflexus</i> L.)	-	-	-	+-	-	-
16	Шўра (<i>Ch. amaranticolor</i> L.)	++++	-	++++	+-	-	+-
17	Бошоқдошлар (<i>Gramineae</i>) Ажрик (<i>Cynodon daktulon</i> L.)	-	-	+-	-	-	-
18	Маккажўхори (<i>Zea mays</i> L.)	-	-	-	+-	-	-
19	Қайрилган тулкикуйрук (<i>Alopecurus geniculatus</i> L.)	+-	-	+	+-	-	-
20	Ғумай (<i>Sorghum halepense</i> L.)	-	-	+-	-	-	-
21	Мураккабгулдошлар (<i>Compositae</i>) Қўйиткан (<i>Xanthium strumarium</i> L.)	-	-	+++	-	-	-

4.6-жадвал (давоми)

1	2	3	4	5	6	7	8
22	Бургон (<i>Artemisia annua</i> L.)	+-	-	+-	+-	-	-
23	Эрмон шувоғи (<i>Artemisia vulgaris</i> L.)	+-	-	+-	-	+-	+-
24	Дуккакдошлар (Leguminosae) Беда (<i>Medicago sativa</i> L.)	-	-	++	-	-	-
25	Янтоқ (<i>Alhagi Adans</i>)	-	-	-	-	-	-
26	Семизўтдошлар (Portulacaceae) Семизўт (<i>Portulica oleracea</i> L.)	-	-	-	-	-	-
27	Қовоқдошлар (Cucurbitaceae) Бодринг (<i>Cucumis sativus</i> L.)	++	-	+++	++++	-	-
28	Бутгулдошлар (Cruciferae) Дала рангўти (<i>Sinapis arvensis</i> L.)	-	-	-	+-	-	-
29	Хартол карам (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.)	-	-	-	+-	-	-
30	Зубтурумдошлар (Plantaginaceae) Найзабарг зубтурум (<i>Plantago lanceolata</i> L.)	+-	-	+-	+-	-	-
31	Онаградошлар (Onagraceae) Онагра (<i>Onagra biennis</i> Scop.)	-	-	-	+-	-	-
32	Печакдошлар (Convolvulaceae) Печак (<i>Convolvulus arvensis</i> L.)	-	+-	+-	+++	-	-
33	Чирмовуқдошлар (Cuscutaceae) Зарпечак (<i>Cuscuta approximata</i> Babing.)	+-	-	+-	+-	-	-
34	Лабгулдошлар (Labiatae) Ялпиз (<i>Mentha asiatica</i> Boriss.)	++	-	-	+	-	-
35	Райхон (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	-	-	+-	-	-	-
36	Гулхайридошлар (Malvaceae) Гулхайри (<i>Althaea officinalis</i> L.)	+-	-	++	++++	+-	-
37	Тугмачагул (<i>Malva neglecta</i> Wall.)	+-	-	+-	+++	-	+-
38	Дағалканоп (<i>Abutilon theophrasti</i> Medic.)	+-	-	+++	+-	-	++ +
39	Отқулоқдошлар (Polygonaceae) Отқулоқ (<i>Rumex crispus</i> L.)	-	-	+++	+++	-	++ +
40	Сурия отқулоғи (<i>R. syriacus</i> Meisn.)	-	-	-	-	++	-
41	Петуния (<i>Petunia hybrida</i>)	+	-	+-	+++	-	+-

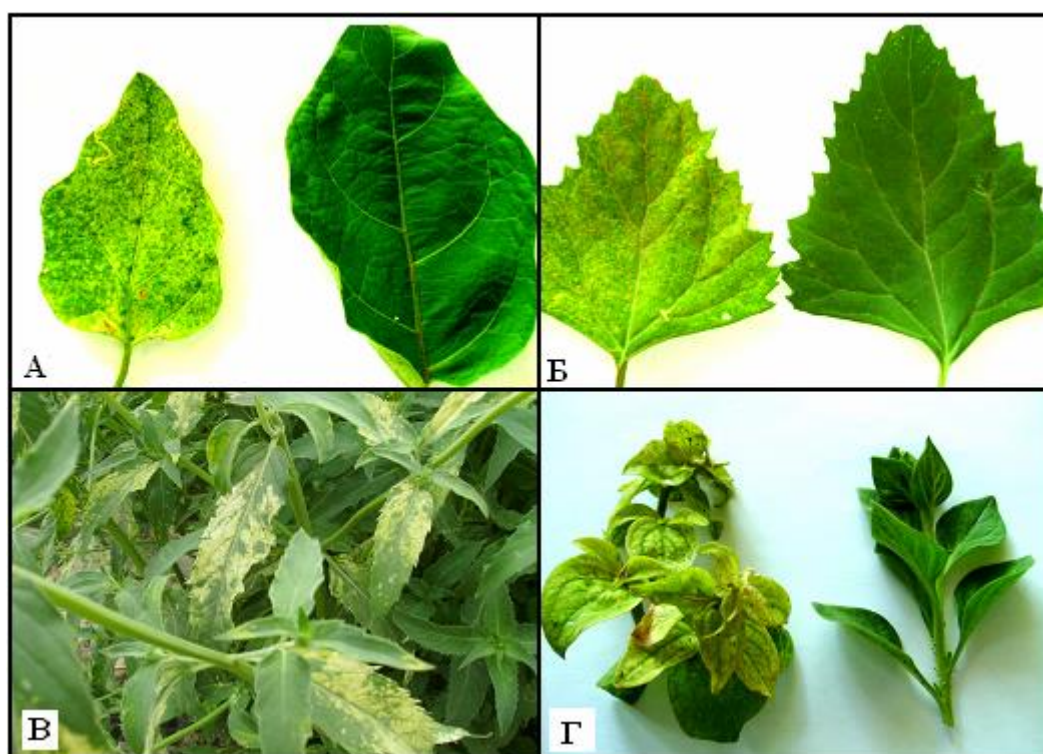
Эслатма: "-"-реакция умуман йўқ; "+-"-реакциянинг бор йўқлиги мавҳум; "+" -реакциянинг ўтиши ўта оч сарик рангда; "++" - реакциянинг ўтиши сарик рангда; "+++"- реакциянинг ўтиши тўқ сарик рангда; "++++"- реакциянинг ўтиши ўта тўқ сарик рангда.

Жадвалдан кўриниб турибдики, картошканинг S -вируси итузумдошлар (*Solanaceae*) вакилларида картошканинг (*S. tuberosum* L.) бир қанча навларида, баклажонда (*S. melongena* L.) (4.4-расм, А), помидорда (*L. esculentum* Mill.), шўрадошлар (*Chenopodiaceae*) оиласи вакили шўрада (*Ch. amaranticolor* L.) (4.4-расм, Б), қовоқдошлар (*Cucurbitaceae*) оиласи вакили бодрингда (*C. sativus* L.), лабгулдошлар (*Labiatae*) оиласи вакили ялпизда (*M. asiatica* Boriss.) (3.4.1-расм, С) ва петунья (*Petunia hybrida*) (3.4.1-расм, Д) каби ўсимликларда мавжудлиги аниқланди, аммо итузумдошлар вакиллари итузум (*S. nigrum* L.) ва бангидевона (*D. stramonium* L.), шўрадошлар (*Chenopodiaceae*) оиласи вакиллари думбил шўра (*Ch. murale* L.) ва оддий шўрада (*Ch. quinoa* L.), мураккабгулдошлар (*Compositae*) оиласи вакилларида эрмон шувози (*A. vulgaris* L.) ва бурғонда (*A. annua* L.), гулхайридошлар (*Malvaceae*) оиласи вакилларида дағал каноп (*Abutilon theophrasti* Medic.) ва гулхайрида (*A. officinalis* L.) кучсиз реакция намоён бўлди (+-), бу ўсимликларда вирус бор йўқлиги номаълум, бўлган тақдирда ҳам ўсимликда вирус миқдори кам бўлганлигидан далолат беради (4.6-жадвал), чунки ИФА жуда сезгир усуллардан бири бўлиб вирусларнинг жуда кам миқдорини ҳам аниқлай олади, хусусан картошка вирусларини 0,1-1 нг гача аниқлайди [3, 4, 45, 92, 99, 124].

Картошканинг А-вируси текширилганда, итузумдошлар (*Solanaceae*) оиласи вакилларида картошканинг Диёра ва Ақраб навларида, печакдошлар (*Convolvulaceae*) оиласи вакили печакда (*C. arvensis* L.) кучсиз реакция (+-) намоён бўлди, бу ўсимликларда ҳам вирус бор-йўқлиги гумон бўлиб, қайта текширишларни талаб этади.

Картошканинг М-вируси дуккакдошлар (*Leguminosea*) вакили беда (*Medicago sativa* L.) ўсимлигида, шўрадошлар (*Chenopodiaceae*) оиласи вакили шўрада (*Ch. amaranticolor* L.) (4.4-расм, Б), мураккабгулдошлар (*Compositae*) оиласи вакили қўйтиканда (*X. strumarium* L.), қовоқдошлар (*Cucurbitaceae*) оиласи вакилларида бодрингда (*C. sativus* L.), итузумдошлар

(*Solanaceae*) оиласи вакилларида итузум (*S. nigrum* L.), картошканинг Акраб навида, бақлажон (*S. melongena* L.) (4.4-расм, А), помидорда (*L. esculentum* Mill), гулхайридошлар (*Malvaceae*) оиласи вакили доривор гулхайри (*A. officinalis* L.) ва дағалканоп (*A. theophrastic* Medic.) каби ўсимликларда борлиги аниқланди. Реакция кўрсаткичи ўта тўқ сарик рангга намоён қилди (4+), бу ўсимликларда вирус микдорининг юқорилигидан далолат беради.



4.4-расм. Табиий ҳолда картошка вируслари билан касалланган ўсимликлар: А - бақлажон (*S. melongena* L.); Б - шўра (*Ch. amaranticolor*); В - ялпиз (*M. asiatica* Boriss.); Г - петунья (*Petunia hybrida*).

Тажриба натижасида картошканинг Х-вируси бир қатор муаллифлар [1, 6, 8, 81] таъкидлаганидек итузумдошлар (*Solanaceae*) оиласи вакиллари картошканинг бир қатор навлари, бақлажон (*S. melongena* L.) (4.4-расм, А), помидор (*L. esculentum* Mill.) ва дўрмонда (*D. stramonium* L.), шўрадошлар (*Chenopodiaceae*) оиласи вакили шўрада (*Ch. amaranticolor*) (4.4-расм, Б), гулхайридошлар (*Malvaceae*) оиласи вакиллари тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) ва доривор гулхайрида (*Althaea officinalis* L.), лабгулдошлар

(*Labiatae*) оиласи вакили ялпиз (*Mentha asiatica* Boriss.) (4.4-расм, С) ва петунияда (*Petunia hybrida*) (4.4-расм, Д) борлиги ва вирус микдорининг юқори (4+) эканлиги аниқланди. Турли оилага мансуб, саломалик (*C. rotundus* L.), думбил шўра (*Ch. murale* L.), зарпечак (*C. aproximata* Babing.), дала рангўти (*S. arvensis* L.) каби ўсимликларда вирус бор йўқлиги гумон, реакция кўрсатгичи эса кучсиз (+-) намоён бўлди.

Гулхайридошлар (*Malvaceae*) вакили доривор гулхайрида (*A. officinalis* L.), итузумдошлар оиласидан (*Solanaceae*) картошка, мураккабгулдошлар (*Compositae*) оиласидан эрмон шuvoғи (*A. vulgaris* L.) каби ўсимликларда картошканинг Y-вируси бор йўқлиги гумон, яъни реакция кучсиз (+-) намоён бўлди. Отқулоқдошлар (*Poiygonaceae*) оиласи вакили сурия отқулоғи (*R. syriacus* Meisn.) картошка Y-вирусининг резерватор ўсимлиги эканлиги тажриба асосида илк бор аниқланди.

Картошка баргининг буралиши вируси (L) помидор (*L. esculentum* Mill.), отқулоқ (*R. crispus* L.), дағалканоп (*A. theophrasti* Medic.) каби ўсимликларда борлиги ва уларда вирус микдорининг юқори (4+) эканлиги аниқланди, айрим, эрмон шuvoғи (*A. vulgaris* L.), тугмачагул (*M. neglecta* Wall.), петуния (*P. hybrida*), шўра (*Ch. amaranticolor*) каби ўсимликлар текширилганда, кучсиз реакция (+-) намён бўлди, юқорида таъкидлаб ўтганимиздек вирус бор йўқлиги гумон, бу ўз навбатида қўшимча текширишларни талаб қилади.

Жами текширилган ўсимликларнинг 57,1% дан KSB, 7,1% дан KAB, 71,4% KMB ва KXB лари, 9,5% дан KYB, 16,6% дан эса KLB аниқланди. Бу вирусларнинг табиатда турли даражада тарқалишига ва резерватор ўсимликлари сони асосан вирус тарқалиш йўлларига боғлиқ. Кўриниб турибдики, KSB, KMB ва KXB лар кенг тарқалган, бу ҳолатга асосий сабаб, ушбу вирусларнинг механик ва ҳашаротлар ёрдамида жуда осон тарқалишини кўрсатишимиз мумкин, KAB ва KLB лари эса табиий ҳолда фақат ҳашаротлар ёрдамида тарқалиш хусусиятига эга, шунинг учун улар нисбатан кам тарқалган.

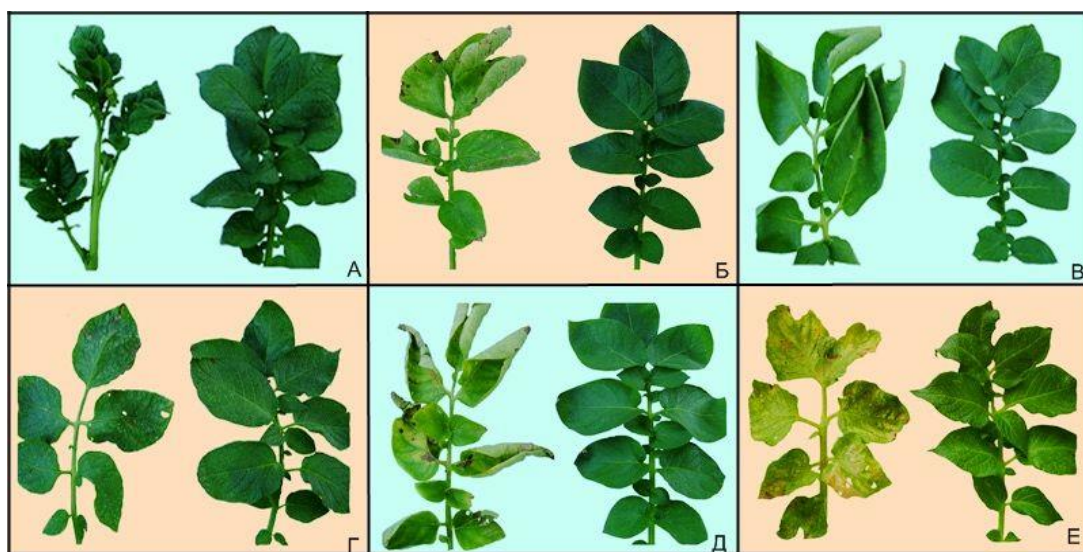
Олиб борилган тажрибалар натижасида Ўзбекистон иқлим шароитида, Тошкент вилоятида картошка вирусларининг кенг тарқалганлиги маълум бўлди. Уларнинг бу даражада кенг тарқалишига асосий сабаблардан бири биологик омиллар ва қулай иқлим шароити ҳисобланади. Биологик омилларга вируснинг резерватор ўсимликлари ва ташувчи ҳашаротлар, асосан ўсимлик битлари киради. Олинган маълумотлар асосида тўла ишонч билан айтишимиз мумкинки, юқорида текшириб чиқилган, танасида вирусларни сақловчи маданий ва ёввойи ўсимликлар, айниқса кўп йиллик ўсимликлар, картошка вирусларининг резерватор ўсимликлари ҳисобланиб, вирусларни йиллаб ўз танасида сақлаб туради ва кенг тарқалишига сабаб бўлади.

Шундай қилиб, олиб борилган кузатишлар ва тажрибалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин, юқорида текшириб чиқилган Ўзбекистон иқлим шароитида ўсувчи, танасида вирусларни сақловчи ўсимликлар картошка вирусларинг резерваторлари ҳисобланиб, вирусларнинг табиатда айланишида муҳим аҳамият касб этади. Бу ўсимликлар танасида вирус концентрацияси жуда кам миқдорда бўлиши мумкин ва шу билан бирга кўпчилик ҳолларда табиий ҳолда касалланган ўсимликларда касаллик аломатлари келиб чиқмасдан, фақат айрим вирусларга сезгир ўсимликлардагина пайдо бўлиши мумкин (4.4-расм). Аммо инфекциянинг бу миқдори уларнинг ташувчи томонидан тарқалиши учун етарли бўлади. Шунинг учун резерватор ўсимликларни аниқлаш вируссиз картошка етиштиришда, ҳамда вирусларга қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда муҳим ҳисобланади.

V БОБ. КАРТОШКА ВИРУСИНИ АЖРАТИШ, ТОЗА ПРЕПАРАТИНИ ОЛИШ ВА СПЕЦИФИК ЗАРДОБ ТАЙЁРЛАШ

5.1-§. КХВ ни ажратиш ва биологик тозалаш ҳамда кўпайтириш учун қулай хўжайин ўсимликни аниқлаш

Олиб борилган тажрибалар ва кузатишлар натижасида, жуда кўп ҳолларда картошканинг Х, S, М, А ва Y-вирусларининг аралаш ҳолда келиб касалликни янада кучайтириши кузатилди (5.1-расм). Бу эса касаллик кучайишига сабаб бўлади. Вирусларнинг бундай аралаш келиши айнан бир вирусга специфик антизардоб тайёрлаш жараёнида бир қатор қийинчиликларни келтириб чиқаради. Чунки бу вирусларнинг хўжайин ўсимликлари аксарият ҳолларда бир хил бўлади. Шунинг учун вирусни ажратиш учун зарур бўлган қулай хўжайин ўсимликни аниқлаш ва аралаш вируслардан тозалаш йўллари ишлаб чиқиш муҳим аҳамиятга эга.



5.1-расм. Картошка навларида вирус касалликлари аломатлари.
А-Диёра нави; Б, Д – Тўйимли; В – Санте; Г, Е – Ақраб.

Картошанинг Диёра навида хол-хол мозаика ва баргнинг буралиши ва барг пластинкасининг кичрайиши каби (5.1-расм, А) касаллик аломатларини намоён қилган ўсимликлар картошканинг Х ва S-вируслари билан, Тўйимли навида мозаика ва баргнинг қайиқсимон буралиши касаллик аломати мавжуд бўлган ўсимликлар (5.1-расм, Б ва Д) картошканинг L, X ва M-вируслари

билан, касаллик аломати баргнинг буралиши бўлган Санте нави фақат картошканинг L-вируси билан, Ақраб нави эса касаллик аломати баргнинг дағаллашиши ва мозаика (5.1-расм, Г ва Е) сифатида пайдо бўлган ўсимликлар картошканинг Х, S ва Y-вирулари билан касалланганлиги ИФА ёрдамидаги текширишлар натижасида аниқланди. Юқорида ўрганилган вируслардан механик усулда ва ҳашаротлар ёрдамида жуда осон тарқала оладиган ва ўсимликда бир неча йил давомида касаллик аломатини намоён қилмасдан сақланиб, ҳосилдорликка катта зарар келтирувчи вируслардан бири бўлган картошка Х-вирусини ўрганиш мақсад қилинди ва бунинг учун дастлаб вирусни ажратиш олиш, аниқлаш ва биологик тозалаб, бир қатор хусусиятларини ўрганиш зарур эди.

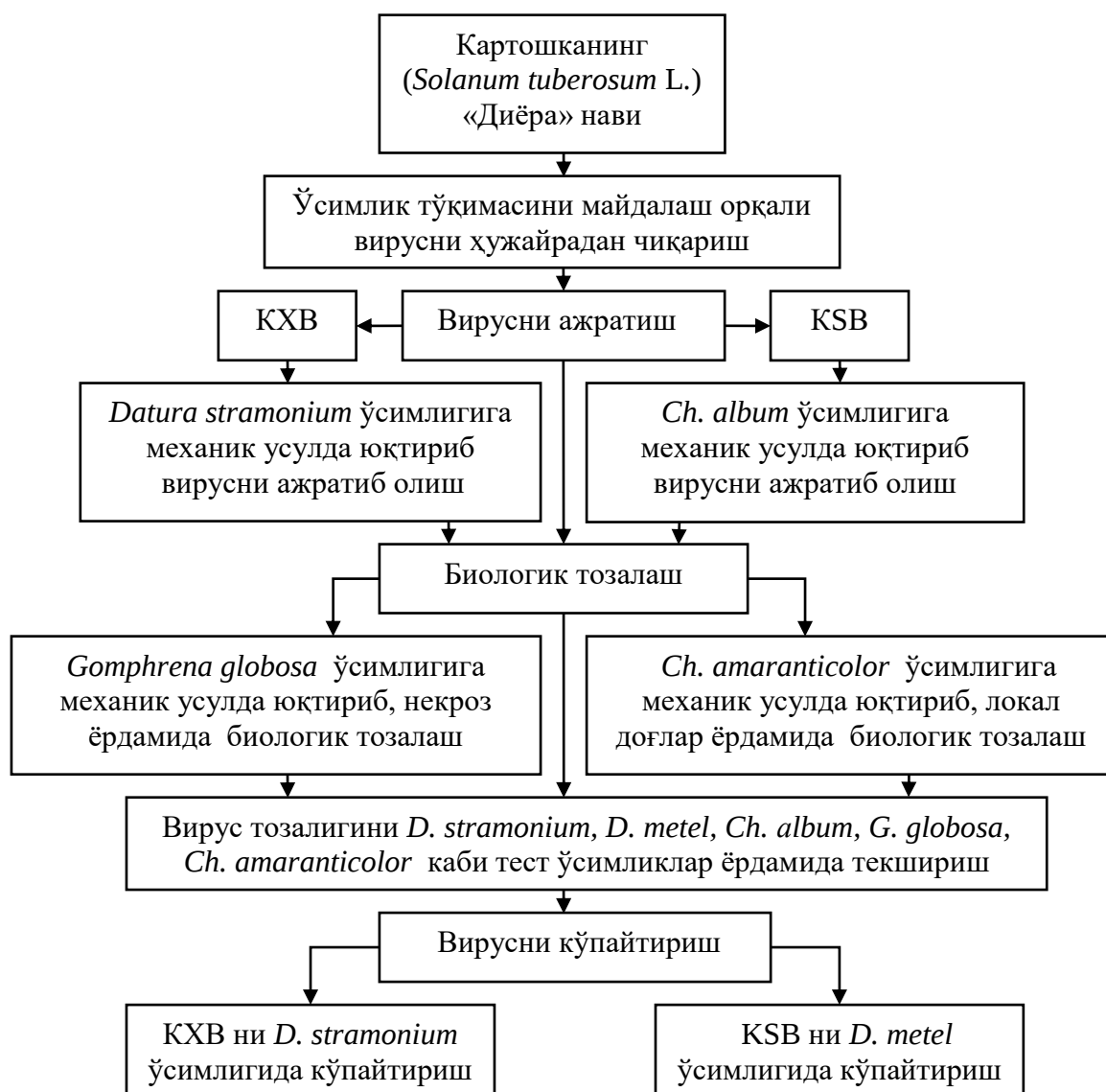
Вирусларни ажратиш ва биологик тозалашда мазкур вирусни специфик некроз ҳосил қилувчи ва тизимли касаллантирувчи ўсимликлардан ўтказиб бошқа вирусдан тозалаш кўзда тутилади. Бу жараёнда вируснинг юқиш йўллари ҳам ҳисобга олиш яхши самара беради. КХВ ва КSB ларини ажратиш ва биологик тозалаш схемаси расмда келтирилган (5.2-расм).

КХВ ни ажратишда асосий табиий манба сифатида картошканинг Диёра навидан ва дастлабки дифференциатор ўсимлик сифатида *Datura stramonium* L. ўсимлигидан фойдаланилди, чунки бу ўсимлик картошкани касаллантирувчи вируслар ичида КХВ дан ташқари фақатгина картошканинг L-вируси билан касалланади, аммо бу вирус механик усулда юқмаслиги, фақат пайванд ёки ҳашаротлар ёрдамида юқиши [2, 24, 53, 75, 89] сабабли бизнинг тажрибаларимизда ўсимликнинг бу вирус билан касалланиш хавфи бўлмади.

D. stramonium L. ўсимлигида касаллик аломати системали мозаика сифатида пайдо бўлгандан сўнг, ундан инокулюм олиниб *G. globosa* ўсимлигига юктирилди, пайдо бўлган некроз қирқиб олиниб 0,02М ли ФБ (рН 7,5) қўшилиб чинни ҳовончада инокулюм тайёрланди ва яна икки марта механик усулда шу ўсимликдан вирус мононекроз ҳолида ўтказилиб

биологик тозаланиб олинди. Чунки бир қатор текширишларимиз натижасида картошканинг S ва X-вируслари аралаш ҳолда келиши кузатилган эди.

Биологик тозаланганлигини текшириш мақсадида вируснинг бир қатор индикатор ўсимликлари, жумладан: *D. stramonium* L., *G. globosa*, *Ch. album*, *D. metel*, *Ch. amaranticolor* каби турлар механик усулда касаллантирилиб пайдо бўлган касаллик аломатларига қараб ҳамда ИФА текширишларидан сўнг вируснинг биологик тозалиги аниқланди ва вирус тўпловчи ўсимликларга ўтказилиб кўпайтириб олинди (5.2-расм).



5.2-расм. Картошканинг X ва S-вирусларини ажратиш ва вирусологик тоза «культура» олиш схемаси

Вирус тозалаш учун жуда кўп инфекцион материал зарур бўлганлиги сабабли қулай тўпловчи ўсимликларни аниқлаш муҳим ҳисобланади. Бу учун вирус билан касаллантирилган бир қатор тўпловчи ўсимликлардан бир хил миқдорда намуна олиниб суюлтириш орқали улардаги вирус миқдори аниқланди. Намуналарнинг ҳар бири билан *Ch. amaranticolor* ўсимлигининг барги механик усулда касаллантириб пайдо бўлган некроз сонига қараб натижалар аниқланди (5.1-жадвал).

Жадвалдан кўриниб турибдики, касаллантирилган барча ўсимликларда касаллик аломатлари 10^{-5} да пайдо бўлган, аммо улардан олинган бир хил «юқумли шира» дан пайдо бўлган некрозлар сони билан фарқланади. *Ch. quinoa* L. ва картошка (*S. tuberosum* L.) ўсимликларидан олинган намунадан некрозларнинг кўп пайдо бўлганлиги, уларда вируснинг кўп миқдорда тўпланишидан далолат беради, *Ch. amaranticolor*, бангидевона (*D. stramonium* L.) ва *Datura metel* L. каби ўсимликларда эса вирус ўртача даражада тўпланиши маълум бўлди (5.1-жадвал).

5.1-жадвал

КХВ ни тўплаш ва кўпайтириш учун қулай хўжайин ўсимликини аниқлаш

Т.р	Текширилган ўсимлик номи	Суюлтириш даражаси, марта							
		н	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
		Некрозлар сони, ўртача							
1	<i>Ch. quinoa</i> L.	207,6	172,6	143,3	20	4	2	0	0
2	<i>S. tuberosum</i> L.	113,3	108,6	42	17,6	5	1,3	0	0
3	<i>Ch. amaranticolor</i>	81	70	60,3	22,3	4	2	0	0
4	<i>D. metel</i> L.	62	25	12	7	4	3	0	0
5	<i>D. stramonium</i> L.	47,6	43	37	14	7	1,3	0	0

Аммо картошка ўсимлиги баргида мавжуд бўлган айрим пигментлар тозалаш жараёнига ҳалақит бериши билан бир қаторда, бу ўсимликдан кўп вирусли материал йиғиб олиш бироз мураккабдир. *Ch. quinoa* L. ва *Ch. amaranticolor* ўсимликларида касаллик аломатлари некротик сариқ доғлар сифатида пайдо бўлиб, касаллантирилган баргдан бошқасига тарқалмайди. Бир қатор муаллифлар [4, 34] таъкидлаганидек, вирус тўпловчи ўсимлик системали касаллик аломатларини ҳосил қилса, улардан кўпроқ вирусли материал йиғиб олишга имкон беради. Бангидевона ва мингдевона (*D. metel* L.) каби ўсимликларда КХВ худди шундай, яъни системали касаллик аломатларини келтириб чиқаради ва ўсимликнинг бутун вегетация давомида сақланиб туради. Бундан ташқари, бу ўсимликларнинг қулайлиги шундаки, вирус билан касаллантирилган дўрмон барги йиғиб олинса бир неча кундан сўнг яна янги барг чиқаради ва бу баргларда касаллик аломатлари доимо сақланиб туради. Картошка ва шўранинг *Ch. quinoa* L. ва *Ch. amaranticolor* каби турлари барги йиғиштириб олинса, ўсимлик қуриб қолади. Бангидевона эса КХВ ни ишлаб чиқарувчи ҳақиқий биологик фабрикага айланади.

Кўпгина муаллифлар [5, 34, 63, 114] фикрича, вируслар ўсимлик танаси ва илдизида барг пластинкасига нисбатан кам миқдорда тўпланади, агар улардан вирус ажратилса намунани эзиш, майдалаш каби бир қатор қийинчиликларни келтириб чиқаради. Шунинг учун намуна йиғишда вирус билан касалланган ўсимликнинг қайси органида кўпроқ тўпланишини аниқлаш муҳим ҳисобланади.

КХВ нинг хўжайин ўсимлик органларидаги миқдорини аниқлаш учун ўсимлик органлари (илдиз, поя ва барг) олиниб, суюлтириш усули орқали ва бу намуналардан *G. globosa* ўсимлигининг баргида пайдо бўлган некротлар ёрдамида аниқланди, натижалар жадвалда келтирилди (5.2-жадвал). Некроз ҳосил қилувчи индикатор ўсимликларнинг бошқа усуллардан афзаллиги шундаки, бу усулда «юқумли вирус» зарралари аниқланса, бошқа усулларда эса «физик вирус» зарралари аниқланади.

Жадвалдан кўриниб турибдики, ҳар учала ўсимликнинг ҳам илдизида вирус бир хил миқдорда (10^{-3}), бангидевона ва мингдевона поясида бир хил (10^{-2}), картошка танасида эса уларга нисбатан кўпроқ (10^{-3}) тўпланиши аниқланди. Ўсимликлар баргида эса илдиз ва пояга нисбатан кўпроқ (10^{-5}) тўпланганлиги тажрибалар асосида маълум бўлди (5.2-жадвал).

5.2-жадвал

Хўжайин ўсимлик аъзоларида КХВ нинг миқдорини аниқлаш

Т/р	Хўжайин ўсимлик номи	Ўсимлик аъзолари	Суюлтириш даражаси, марта							
			н	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
			G. globosa ўсимлигида пайдо бўлган некрозлар сони							
1	Дўрмон (<i>Datura stramonium</i> L.)	Илдиз	11	10	5	1	0	0	0	0
		Поя	14	5	4	0	0	0	0	0
		Барг	55	46	41	14	5	2	0	0
2	Картошка (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	Илдиз	20	12	3	0	0	0	0	0
		Поя	60	45	30	4	0	0	0	0
		Барг	156	130	99	7	5	1	0	0
3	Мингдевона (<i>Datura metel</i> L.)	Илдиз	23	5	2	0	0	0	0	0
		Поя	10	2	1	0	0	0	0	0
		Барг	40	25	12	6	5	3	0	0

Вирус кўп тўпланган (картошка, шўра) ўсимликлардан КХВ тўплаш ва кўпайтириш учун фойдаланса бўлади, аммо бу ўсимликлардан кўп миқдорда вирусли материал йиғиб олиш имкони йўқ. Системали касаллик аломатларини келтириб чиқарадиган бангидевона ва мингдевона каби ўсимликлардан эса кўп миқдорда ва қайта-қайта вирусли материал йиғиб олса бўлади. Бундан ташқари, айрим ўсимликларда танинсимон моддалар мавжуд бўлиб, улар вирус тозалашда вирус заррачаларини парчалаб юборади [41, 89]. Айрим ўсимликларда (масалан, картошкада) қийин тозаланадиган

моддалар бўлиб, бу ҳам тозалаш жараёнини бир қадар қийинлаштиради. Бангидевона, мингдевона ва тамаки каби ўсимликлардан вирус тозалаш осон ва юқоридаги қийинчиликлардан холи бўлади.

Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин: КХВ ни дифференциатор ўсимлик сифатида бангидевона (*D. stramonium* L.) ўсимлигидан фойдаланилиб ажратиб олинди ва биологик тозалаш учун эса *G. globosa* ўсимлигидан фойдаланилди. Вируснинг энг қулай тўпловчи ўсимликлари эса мингдевона (*D. metel* L.), дўрмон (*D. stramonium* L.) эканлиги аниқланди. Бу ўсимликлардан кўп миқдорда вирусли намуна йиғиш ва тозалаш жараёнида осон майдаланиши ва бир қатор юқорида санаб ўтилган қулайликларга эга.

5.2-§. КХВ нинг тоза препарати олишнинг оптимал йўллари ишлаб чиқиш

Вирусларнинг хусусиятини ўрганишда энг қийин ишлардан бири-уларни тозаланган ҳолда ажратиб олишдир [28]. Дастлаб биологик тозаланган вирусларни кейинги, яъни физик-кимёвий усуллар – центрифугалаш, кимёвий моддалар таъсирида ўсимликнинг нормал компонентларини денатурацияга учратиб тозалаб олинади, чунки тоза вирус препаратида фақат вирус заррасигина қолиши зарур. Турли вирусларнинг тоза препарати ажратиб олиш усуллари бир-биридан фарқ қилиб, бир вирусни ажратиш усули иккинчи вирусни ажратишга қўл келмаслиги мумкин [2].

Вирусни тозалаш учун бир қатор муаллифлар [2, 6, 10, 75, 89] ишлаб чиққан усуллардан фойдаланиб КХВ ни тозалаш усули модификация қилинди ва улардан энг қулайи танлаб олинди. Тозалашда фойдаланилган усуллар қуйидагилар:

1-усул. Бу усулда дастлаб КХВ билан механик усулда касаллантирилиб йиғиб олинган ва музлатилган бангидевона барги олиниб, таркибида 0,01М ли ЭДТА (этилендиаминтетраацетат) ва натрий тиосульфатли 0,02М ли

фосфат буфери (рН 7,5) солиниб (1:1) 15 дақиқа давомида гомогенизаторда майдаланди. Майдаланилган ўсимлик барги докадан сузиб олинди ва 20 дақиқа давомида 6000 айл./дақ.да центрифуга қилиниб ЧУС олинди, чўкма ташлаб юборилади. ЧУС га хлороформ солиб (8:1) 20 дақиқа чайқатилгандан сўнг, 4000 айл./дақ.да 15 дақиқа центрифуга қилиниб ЧУС олинди, унинг рН 5,0 га келтирилиб, 5000 айл./дақ.да 20 дақиқа центрифуга қилинди ва ЧУС олинди. Ундан сўнг вирусли аралашманинг рН 4,0 гача пасайтирилиб 10 дақиқа сақлангандан сўнг 5000 айл./дақ.да 20 дақиқа центрифуга қилиниб, чўкма олинди, ЧУС эса ташлаб юборилди. Бу вирусни изоэлектрик нуктада (ИЭН) чўктириш ҳисобланиб, ҳар бир вируснинг изоэлектрик чўкиш нуктаси бир-биридан фарқ қилади [4, 44].

Чўкмани кўмгунча 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) солиб эритилгандан сўнг 6000 айл./дақ.да 10 дақиқа центрифуга қилиниб, ЧУС олинди ва унга 4% ли ПЭГ (м.м. 6000) ва NaCl солиб шиша таёқча билан эритилгандан сўнг +4°C да 1 соат сақланди. Аралашма музлатгичдан олинди 6000 айл./дақ.да 10 дақиқа давомида центрифуга қилингандан сўнг чўкма олинди, ЧУС эса ташлаб юборилди. Чўкмани кўмгунча 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) солиниб, эритилиб 5000 айл./дақ.да 10 дақиқа центрифуга қилиниб, ЧУС олинди. Препаратни хужайра компонентлари ва бошқа аралашмалардан тозалаш учун 7000 айл./дақ.да 15 дақиқа центрифуга қилиниб, ЧУС қуйиб олинди ва тозаланган вирус препарати тозалиги ва миқдори спектрофотометрда текшириб аниқланди. Вирус миқдори эса 200 г вирусли материалдан 30,2 мг/мл ни ташкил этди.

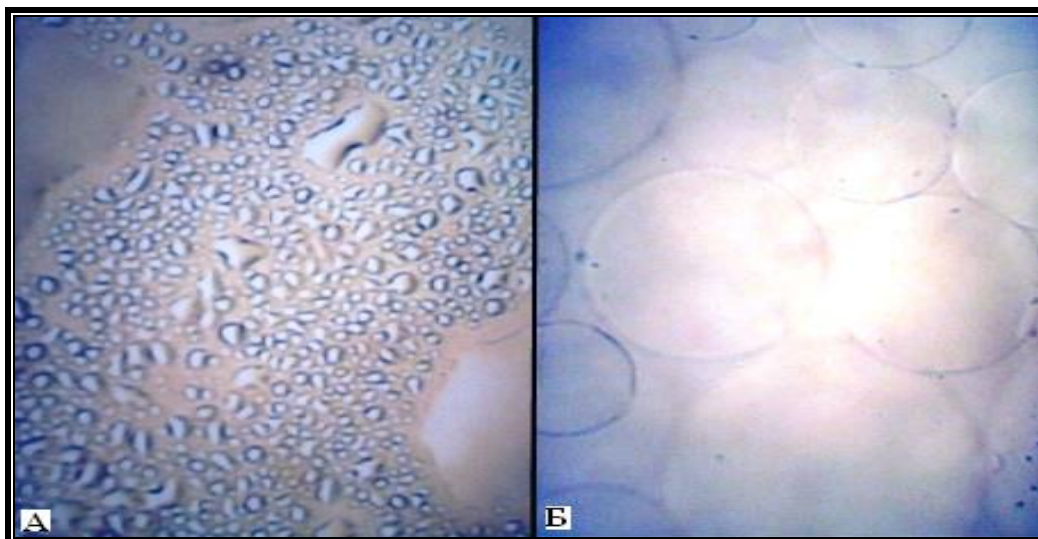
2-усул. Бу усулда ҳам дастлабки босқичлар худди биринчи усулдаги каби олиб борилди, яъни 0,02М ли фосфат буфери солиб 15 дақиқа майдаланиб ўсимлик шираси тўрт қават докадан сузиб олингандан сўнг 15 дақиқа 3000 айл./дақ.да центрифуга қилиниб ЧУС олинди. ЧУС га хлороформ кўшиб (8:1) 20 дақиқа чайқатилиб 3000 айл./дақ.да 15 дақиқа центрифуга қилингандан сўнг яна ЧУС олиб қилиниб, чўкма ташлаб юборилди.

ЧУС нинг рН ни 5,0 га тўғрилаб 15 дақиқа 3000 айл./дақ.да центрифуга қилингандан сўнг ЧУС га 4% ли ПЭГ (м.м. 6000) ва NaCl солиб 1 соат давомида музлатгичда (+4°C) сақланди. Ундан олиниб 4000 айл./дақ.да 25 дақиқа центрифуга қилиниб чўкма олиниб, ЧУС ташлаб юборилди.

Чўкмани кўмгунча 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) солиниб эритилгандан сўнг 5000 айл./дақ.да 10 дақиқа центрифуга қилиниб, ЧУС қуйиб олинди ва яна иккинчи марта 4% ли ПЭГ ва NaCl солиниб 1 соат музлатгичда сақлангандан кейин 7000 айл./дақ.да 20 дақиқа центрифуга қилиниб вирус чўкмага туширилди. Чўкма 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) билан эритилиб 5000 айл./дақ.да 10 дақиқа центрифуга қилиниб ЧУС олинди, чўкма эса ташлаб юборилди. Вирусни чўктиришда фойдаланилган тузлардан (ПЭГ ва NaCl) тозалаш учун эса дистилланган сувда 2 соат давомида диализ қилинди. Тозаланган вирус препарати спектрофотометрда ўлчаниб, УБ-нурини ютишига қараб тозалик даражаси ва миқдори аниқланди. Тозаланган вирус миқдори эса 20,4 мг/мл ни ташкил этди.

3-усул. Юқоридаги усулларда босқичларнинг кўплиги, бу босқичларда тозалашнинг «беаёв» (жесткий) усулларида фойдаланиш ёки бўлмаса ИЭН да, ПЭГ ва NaCl, аммоний сульфат тузлари билан чўктириш албатта вирус зарраларини маълум даражада агрегацияга учратмасдан қолмайди. Шунинг учун кейинги ишларда вирус тозалашнинг «юмшоқ» (шадящий), яъни гельфилтрация усулидан фойдаланилди.

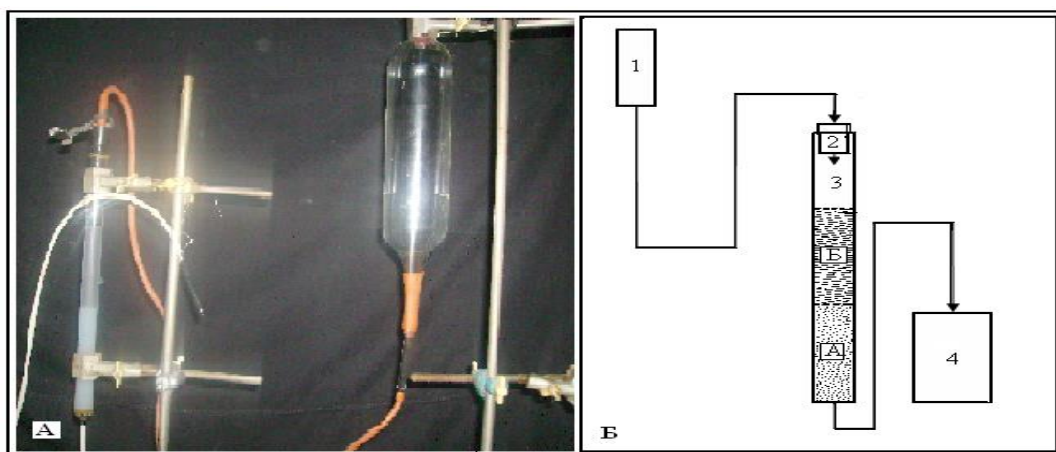
Бир қатор адабиётларда [4, 45, 87] келтирилган маълумотлар асосан сефадекс G-200 пораларининг ўлчами 40-120 мкм бўлиши ва бу м.м. 200 минггача бўлган моддаларни ажрата олиши, ундан юқори бўлган моддаларни ажрата олмаслиги келтирилган. Агар-агар эритмасининг % миқдори оширилган сайин унинг поралар ўлчами кичрайиб бораверади, 3% ли агар-агар пораларининг ўлчами 35-40 мкм ни ташкил этади ва бу м.м. 1×10^{-6} дан юқори бўлган моддаларни ажратиш имкониятини беради [6, 44, 78]. Колонкани тўлдиришда ишлатилган гель пораларнинг ёруғлик микроскопидаги кўриниши расмда келтирилган (5.3-расм).



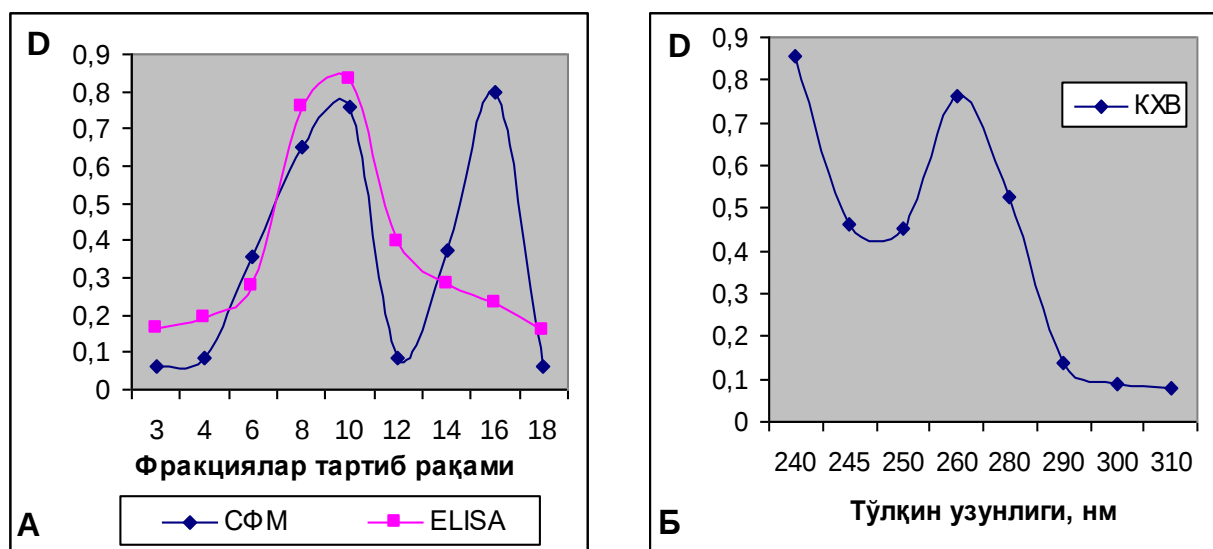
5.3-расм. Агар ва сефадекс G-200 гранулаларининг микрофотографияси
(катталаштирилиши $\times 4280$): А - 3% «Difco» агари, Б - сефадекс (G-200).

Дастлаб, қисман тозаланган вирус препарати ўлчами 14×2 см бўлган майдаланган 3% ли агар-агар тўлатилган колонкада гелъфилтрация қилинди ва бир нечта фракцияга ажратиб олинди. Олинган фракциялар спектрофотометрда ва индикатор ўсимликлар ёрдамида текширилиб кўрилганда вирус ва ҳужайра компонентларининг жуда яқин фракцияларда чиқиши аниқланди. Бу камчиликни бартараф этиш учун хроматографик колонка ўлчамини узайтириш зарурлиги маълум бўлди. Шунинг учун колонкадаги гелъ устига сефадекс G-200 нинг сувда ивитилганидан 8 см қалинликда жойланди ва колонка бир неча соат давомида буфер ёрдамида ювилди. Қуйида колонканинг схематик кўриниши расмда келтирилган (5.4-расм).

Колонкага солиш учун намуна аввалгидек тайёрланди, аммо тозаланадиган вирус намунасини буфер остига солиш учун жуда оз миқдорда сахароза солиниб эритилгандан сўнг препарат колонкадаги буфер ва филтр орасига солинди. Намуна колонкага солингандан сўнг гелъфилтрация жараёнида ажралиб чиққан элюентларни 3 мл дан йиғиб олинди ва спектрофотометрда уларни УБ-нурини ютиши аниқланди (5.5-расм, А).



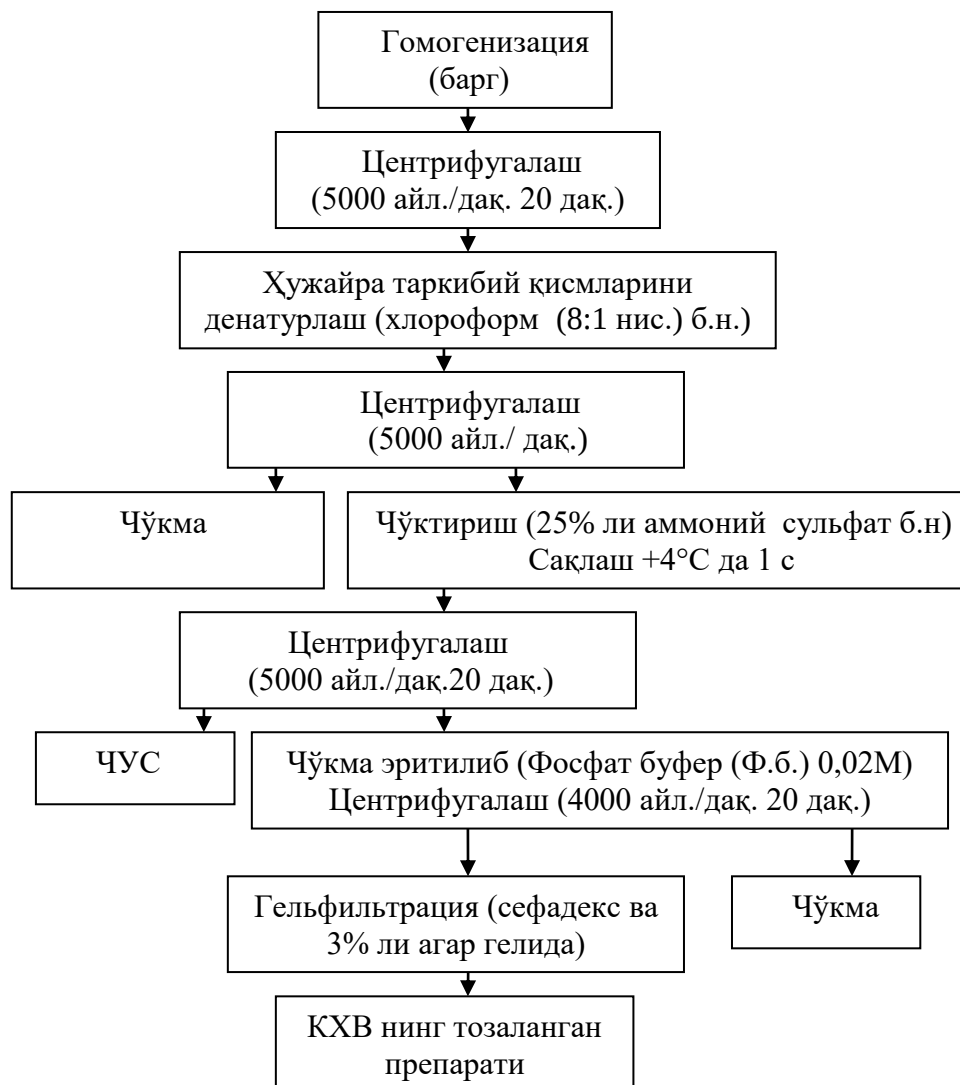
5.4-расм. Гельхроматография усули ёрдамида КХВ нинг тоза препаратини олиш қурилмаси (А) ва унинг схематик кўриниши (Б). 1 - элюент идиши, 2 - колонка қопқоғи, 3 - хроматографик калонка, 3.А - колонканинг 3% ли «Difco» агари гелидан тайёрланган қисми, 3.Б - колонканинг сефадекс (G-200) билан тўлдирилган қисми, 4 - фракцияларни йиғувчи коллектр.



5.5-расм. КХВ нинг тоза препаратини гелъфильтрация усулида олиш: (А) ва УБ-нурини ютиш спектри (Б).

Расм (5.5-расм, А) дан кўриниб турибдики вирус 9 фракциядан бошлаб хроматографик колонкадан чиқа бошлади, 10 фракцияга келиб эса энг максимал даражада чикди ва ундан кейин пасайиб борган, 12 фракциядан бошлаб эса хужайра компонентлари чиқа бошлади. Фракцияларнинг юқумлилиги *G. globosa* ўсимлигида текширилди ва 9-10 фракциялар юқори инфекцияли эканлиги маълум бўлди. Шунингдек, фракциялар ИФА ёрдамида ҳам назорат қилиб борилди (5.5-расм, А) ва бу усул ҳам 9-10

фракцияларда КХВ борлигини кўрсатди. Вирус чиққан (10) фракциянинг спектрометрик кўрсаткичи 3.6.3-рasm, Б да келтирилган. Шу усул ёрдамида бир кг вирусли *D. stramonium* L. намунасида 135,5 мг тоза вирус препарати ажратилди. Усулнинг схематик кўриниши расмда келтирилган (5.6-рasm).

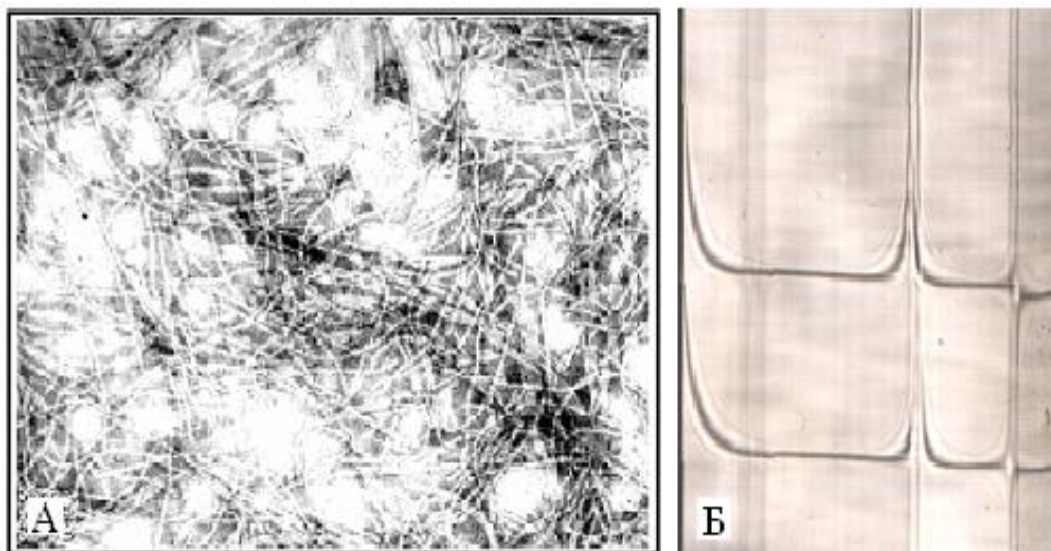


5.6-рasm. КХВ нинг тоза препаратини олишнинг оптимал варианты

Олинган фракцияларларни электрон микроскопда кузатиш, 9-10 фракцияларда гомоген, тоза препарат ажратилганлигини кўрсатди ҳамда вирус препаратини гомогенлигини аналитик ультрацентрифугада анализ қилинганда препарат ягона “пик” билан чўкиши аниқланди (5.7-рasm).

Гельфилтрация учун олинган колонкани тўлдиришда бошқа муаллифлардан [5, 44] фарқли ўлароқ икки хил, яъни дастлаб қуйи қисмида 3% ли агароза (майдаланган), устидан эса сефадекс (G-200) билан тўлдирилди. Бунинг сабаби кўпгина муаллифлар [4, 13, 126]

таъкидлаганидек агар-агарнинг 3% ли эритмасидан тайёрланган гель поралари 1×10^{-6} Д дан ортиқ, сефадекс (G-200) эса 200 минг Д гача молекуляр оғирликка эга бўлган макромолекулаларни ажратиши мумкин [6].



5.7-расм. КХВ нинг электрон микроскопдаги кўриниши (А) (контрастлаш 1% ли уранил ацетат ёрдамида амалга оширилган, катталаш. 90 000×) **ва препаратнинг седиментограммаси (Б).** Расм центрифуганинг тезлиги 24410 айл./дақ. га етганда 19 дақиқадан сўнг олинган: юқоридагиси - вируснинг дифференциал ультрацентрифуга ёрдамида тозаланган; пастдагиси – гелфилтрация усулида тозаланиб, ИЭН да концентрланган препарати (конц. 2мг/мл).

Бундан ташқари айрим муаллифлар [4] фикрича, йирик молекуляр оғирликка эга бўлган макромолекулалар гель поралари ичига кирмасдан колонканинг эркин ҳажмидан ҳаракатланади, бир қатор муаллифлар фикрича [3, 6] бир неча бор ишлов берилиш орқали қисман тозаланган вирус препарати таркибида фақат 50-60 минг Д м.м. эга бўлган макромолекулалар ҳамда бир қатор хужайра компонентлари қолади, улар гель гранулалари, жумладан сефадекс G-200 орасига диффузияланиб ушланиб қолади, ундан йирик макромолекулалар эса ажралиб, колонканинг агар тўлатилган қисмига ўтиб яна худди юқоридагидек, м.м. 1×10^{-6} Д гача бўлган макромолекулалар агар поралари ичига диффузияланади, ундан йириклари эса колонканинг эркин ҳажми орқали ювувчи суюқлик, яъни элюент билан улардан олдин чиқади ва биринчи элюция чўққисини ҳосил қилди [4, 44].

Тоза вирус препарати спектрофотометрда ўлчанди, препаратнинг 260/280 нисбати 1,2 ни, препарат нур ютишининг энг юқори чўққиси, яъни максимал даражаси эса 260 нм, минимали эса 245 ни ташкил этди. Тозаланган вирус препарати электрон микроскопда текширилиб вирионининг ипсимон кўринишда эканлиги ва ўлчами 515×13 нм эканлиги бу вируснинг КХВ эканлигини тасдиқлади.

Демак, КХВ нинг тоза препаратини олишнинг модификацияланган оптимал варианты ишлаб чиқилди. Вируснинг тоза, гомоген препарати юқори қавати сефадекс G-200, қуйи қавати эса агар-агардан иборат бўлган «гибрид» колонкадан фойдаланиб гелъфилтрация қилиш орқали олинди ва олинган вируснинг концентрацияси аниқланди.

5.3-§. КХВ нинг биологик хусусиятларини ўрганиш

Вирусларнинг биологик хоссаларига уларнинг тарқалиши, резерватор ўсимликлари, хўжайин ўсимликларда келтириб чиқарадиган касаллик аломатлари кабилар кириб [2, 5, 8, 12, 34, 116], қуйида КХВ ўзбек изолятининг ўрганилган биологик хусусиятлари келтирилган.

Картошка Х-вирусининг резерватор ўсимликларини ИФА усули ёрдамида аниқлаш. Бу вирус касалликларидан бири картошкада хол-холлик (крапчатость) ва ўсиш нуқтаси некрози (некроз верхушки) каби касаллик белгиларини келтириб чиқаради. Картошканинг айрим навларида бу касаллик белгилари умуман намоён бўлмасдан, яширин ҳолатда ўтиши мумкин, шунинг учун Х-вируси соғлом картошка вируси деб ҳам юритилади. Вирионининг кўриниши ипсимон шаклда бўлган бу вируснинг ўлчами 515×13 нм ни ташкил этади [6, 58, 123].

Бир қатор муаллифларнинг [5, 34, 52, 53] фикрича КХВ табиатда бир қатор ёввойи ва маданий ўсимликларни касаллантиради ва уларнинг танасида сақланиб, асосан контакт ва бир қатор ўсимлик битлари ёрдамида тарқалади ҳамда ҳосилдорликни 10-51% гача камайтиради. Шунинг учун Ўзбекистон иқлим шароитида ёввойи ва маданий ҳолда ўсадиган

Ўсимликлардан картошка Х-вирусининг резерваторларини иммунофермент анализи (ИФА) ёрдамида аниқланди.

Текшириш учун намуналар Тошкент вилояти Занги-ота тумани Ўзбекистон жамоа ширкат хўжалиги далаларидан ва йўл ёқаларида ёввойи ва маданий ҳолда ўсувчи ўсимликлар турли органларидан тайёрланди. Ўсимликлар турли оилага мансуб бўлиб, намуналар симптомли, симптомсиз, қуриб қолган ёки вегетация вақтида бўлган ўсимликлардан олинди.

Картошка Х-вирусининг резерватор ўсимлигини аниқлаш учун турли оилага мансуб 27 тур ўсимликлар ИФА ёрдамида текшириб чиқилди ва олинган натижалар жадвалда келтирилди (5.3-жадвал).

Жадвалга кўра Х-вирус картошкадан ташқари бодринг (*Cucumis sativus* L.), итузум (*Solanum nigrum* L.), жингалак откулоқ (*Rumex crispus* L.), дўрмон (*Datura stramonium* L.), бақлажон (*Solanum melongena* L.), петуния (*Petunia hybrida*), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), қўйпечак (*Convolvulus arvensis* L.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), помидор (*Lycopersicum esculentum* Mill.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) каби ўсимликларда сақланиши аниқланди. Бундан ташқари олабута (*Atriplex micrantha* С.А.Мей.), шўра (*Chenopodium quinoa* L.), саломалейкум (*Cyperus rotundus*), бангидевона (*Datura metel* L.), оқ шўра (*Amaranthus retroflexus*), дала рангўти (*Sinapsis arvensis* L.) каби ўсимликларда вирус бор йўқлиги номаълум, яъни реакция кўрсаткичи «+-» ни намоён қилди. Ажриқ (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.), қўйтикан (*Xanthium strumarium* L.), ғумай (*Sorghum halepense* L.), булғор қалампири (*Capsicum annum* L.), райҳон (*Ocimum basilicum* L.), эрмон (*Artemisia vulgaris* L.) ва оддий шувокда (*Artemisia vulgaris* L.) вирус йўқлиги аниқланди (5.3-жадвал). Юқоридаги маълумотларга асосланиб шуни таъкидлаш лозимки, КХВ итузумдошлар (*Solanaceae*), гулхайридошлар (*Malvaceae*), бутгулдошлар (*Cruciferae*), гултожихўроздошлар (мочиндошлар) (*Amaranthaceae*), мураккабгулдошлар

**ИФА ёрдамида картошка Х-вирусининг резерватор ўсимликларини
аниқлаш**

Т.р	Ўсимликнинг номланиши		Реакция кўрсаткичи
	Илмий	Маҳаллий	
1	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	Ажриқ	-
2	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Саломалейкум	+ -
3	<i>Cucumis sativus</i> L.	Бодринг	+ + + +
4	<i>Atriplex micrantha</i> C.A.Mey.	Олабута	+ -
5	<i>Sorghum halepense</i> L.	Ғумай	-
6	<i>Solanum nigrum</i> L.	Итузум	+
7	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Оддий шувок	-
8	<i>Chenopodium amaranticolor</i> L.	Шўра	+ -
9	<i>Rumex crispus</i> L.	Жингалак отқулоқ	+ + +
10	<i>Datura stramonium</i> L.	Дўрмон	+
11	<i>Solanum melon-gena</i> L.	Бақлажон	+ +
12	<i>Capsicum annum</i> L.	Булғор қалампири	-
13	<i>Brassica juncea</i> Czern.	Хартол карами	+
14	<i>Mentha asiatica</i> Boriss.	Осиё ялпизи	+
15	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Картошка, Диёра нави	+
16	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Умид нави	+ + +
17	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Ақраб нави	+ + + +
18	<i>Chenopodium quinoa</i> L.	Оддий шўра	+ -
19	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Кўйпечак	+ + +
20	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Райҳон	-
21	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Ёввойи гултожихўроз	+ -
22	<i>Sinapsis arvensis</i> L.	Рангўт	+ -
23	<i>Althaea officinalis</i> L.	Доривор гулхайри	+ + + +
24	<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.	Помидор	+ + + +
25	<i>Alhagi adans</i>	Янтоқ	-
26	<i>Malva neglecta</i> Wall.	Тугмачагул	+ + +
27	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Эрмон шувоғи	-

(*Compositae*) оиласига мансуб бир ва кўп йиллик ўсимликларни касаллантиради ва уларда кўп микдорда тўпланади (3+,4+). Демак, бу ўсимликлар, шубҳасиз, картошка Х-вирусининг резерватор ўсимликлари бўлиб хизмат қилади.

Картошканинг вирус касалликлари Квайнер, Ботъес, Шульц, Фолсом, Кассанис, Мартин, Ёра, Морел, Амбросовлар томонидан 1916 йилдан буён Англия, Голландия, АҚШ, Германия, Россия, Эстония каби мамалакатларда ўрганиб келинган [2, 3, 8, 75], аммо Ўзбекистон шароитида қилинган ишлар сезгирлиги индикатор ўсимлик, томчи усули ёки АБВ-тест сезгирлиги даражасидагина (0,2 мкг/мл) амалга оширилган. Кўпгина резерватор ўсимликлар, картошка навларидаги оз микдордаги вируслар услуб сезгирлиги даражасидан четда қолаверган. Мазкур ишда биз сезгирлик даражаси 0,01-1 нг микдорда бўлган ва биз томонимиздан мазкур вирусгагина тайёрланган ўта специфик юқори титрли антизардобдан фойдаландик.

Кўпгина ўсимликлар эса симптомсиз ва биринчи марта анализ қилинмоқда. Масалан, биринчи марта анализ қилинган ўсимликлар бодринг (*Cucumis sativus* L.), жингалак отқулоқ (*Rumex crispus* L.), хартол карам (*Brassica juncea* (L.) Czern.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) бўлиб (5.3-жадвал), уларда КХВ микдори (3+)-(4+) юқори эканлиги аниқланди. Демак, ҳеч қандай шубҳа йўқки, бу ўсимликлар фитовирусологияда биринчи марта КХВ учун резерваторлар қаторига киритилмоқда. Бу резерватор ўсимликларни аниқлаш асосида КХВ нинг табиатда айланиш қонунияти ва «табiiй ўчоқ» типи аниқланди. Е.Н. Павловскийнинг «Трансмиссив касалликларнинг табiiй ўчоқлари» ҳақидаги назариясига кўра вирус касалликларининг табiiй ўчоқлар билан ўзаро алоқадорлигига қараб қуйидаги тўртта гуруҳ ажратилган [6, 7]:

1. Типик табiiй ўчоққа эга бўлган касалликлар. Бу гуруҳга табиатда кўп ўсимликлар вирус резерваторлари ва бир неча тур ташувчи ҳашаротлари мавжуд бўлган касалликлар киради. Ю. И. Власов биринчи гуруҳга мансуб

вирусларнинг айланишини қуйидаги схемада тасвирлаган: ёввойи ўсимлик – ташувчи – маданий ўсимлик – ёввойи ўсимлик. Бунга ЖПМВ ни мисол қилишимиз мумкин [6, 45].

2. Маданий ўсимликлар ичида турғун айланиш циркуляциясига эга бўлган табиий ўчоқли касалликлар. Бу гуруҳга қўзғатувчининг табиатда айланиш циркуляциясида маданий ўсимликлар билан мустаҳкам алоқаси мавжуд бўлган табиий ўчоққа эга бўлган касалликлар киради [7]. Шундан келиб чиққан ҳолда КХВ ни ҳам иккинчи гуруҳга, яъни «Маданий ўсимликлар ичида турғун айланиш циркуляциясига эга бўлган табиий ўчоқли касалликлар» типига мансублигини кўрсатди. Вируснинг табиатда бир қатор резерватор ўсимликлари мавжуд бўлсада туганак орқали ҳам авлоддан – авлодга узатилади ва қўзғатувчи (вирус) билан маданий ўсимлик (картошка) орасида мустаҳкам алоқа сақланиб қолган.

3. Касаллик қўзғатувчилари табиий ўчоқлар билан қисман алоқадорлигини сақлаб қолган касалликлар. Бу гуруҳга ТМВ ни мисол қилишимиз мумкин. ТМВ маданий ўсимлик (помидор, тамаки) орасида кенг тарқалган ва контакт усулида жуда осон тарқалиш хусусиятига эга бўлиши билан ўзининг табиий циркуляциясини тامينлайди [34, 35, 45]. Вируснинг ташувчиси ҳалигача аниқланмаган, аммо табиатда қуртэна (*Sisymbrium* sp.) ўсимлигида сақланади [34].

4. Табиий ўчоқ билан умуман алоқадор бўлмаган касалликлар. Бу гуруҳга мансуб касалликлар асосан уруғ ва экиладиган материаллар билан тарқалади. Масалан, бодринг яшил мозаикаси вируси фақат шу ўсимликни касаллантиради ва уруғида сақланади [6, 7, 42].

Демак, КХВ нинг Ўзбекистон иқлим шароитида ҳам бодринг (*Cucumis sativus* L.), жингалак отқулоқ (*Rumex crispus* L.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.), *D. stramonium* L., *D. metel* L. каби бир қатор табиий резерватори ўсимликлари мавжудлиги ва вируснинг табиий ўчоқлар билан алоқадорлигига қараб «Маданий ўсимликлар ичида турғун айланиш

циркуляциясига эга бўлган табиий ўчоқли касалликлар» типига мансублиги аниқланди.

КХВнинг индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатларини ўрганиш. Фитопатоген вирусларни диагностика қилишда ҳамда вируснинг биологиясини ўрганишда ва штаммларини идентификация қилишда индикатор ўсимликлар усули яхши самара беради [2, 23, 71]. Бундан ташқари вирус хусусиятини чуқур билган ҳолда бир вирусни ёки унинг штаммини иккинчи вирусдан ажратиш учун шу вирусга сезгир, иккинчи вирусга эса иммун бўлган индикатор ўсимлик ёрдамида вирусни ажратиб олиш яхши самара беради [4, 12]. Бу усул микробиологик тоза культура сингари «вирусологик тоза» культура, яъни бошқа вируслардан холи, биологик тозаланган вирусли материал олишга асос бўлиб хизмат қилади.

КХВ нинг индикатор ўсимликларда келтириб чиқарадиган касаллик аломатларини аниқлаш учун тажриба майдонида экилган бир қатор индикатор ўсимликлар механик усулда КХВ билан касаллантириб чиқилди, касаллик аломатлари пайдо бўлгунча кузатиб борилди ва олинган натижалар жадвалда келтирилган (5.4-жадвал).

Вирус шўранинг бир қатор турлари, яъни оддий шўра ўсимлигида (*Chenopodium quinoa* L.) 13-14 кунда, яна бошқа бир *Ch. amaranticolor* турида касаллантирилгандан 10-12 кун ўтгандан сўнг баргда йирик (3-4 мм) сариқ доғларни ҳосил қилса (5.8-расм, А), оқ шўра (*Ch. album* L.) ўсимлигида эса улардан фарқли ўлароқ, касаллик 20-22 кунда пайдо бўлиши билан бир қаторда, аввалги ўсимликларда пайдо бўлган касаллик аломатлардан анча йирикроқ, яъни 4-5 мм ли сариқ доғлар пайдо бўлади, думбил шўра (*Ch. murale* L.) ўсимлигида эса уларга нисбатан кичикроқ (1-2 мм) сариқ некротларни 6-7 кунда келтириб чиқаради (5.8-расм, Б).

Итузумдошлар (*Solanaceae*) оиласи вакили *Datura stramonium* L. ўсимлиги баргида қорамтир системали мозаика (5.9-расм) аломатлари 10-12 кундан сўнг келтириб чиқарса, *Datura metel* L. ўсимлигида эса яшил

системали мозаика аломатлари 18-20 кунда пайдо бўлади ва кейинчалик бутун тана бўйлаб ёйилиб кетади. Тамакининг (*Nicotiana*

5.4-жадвал

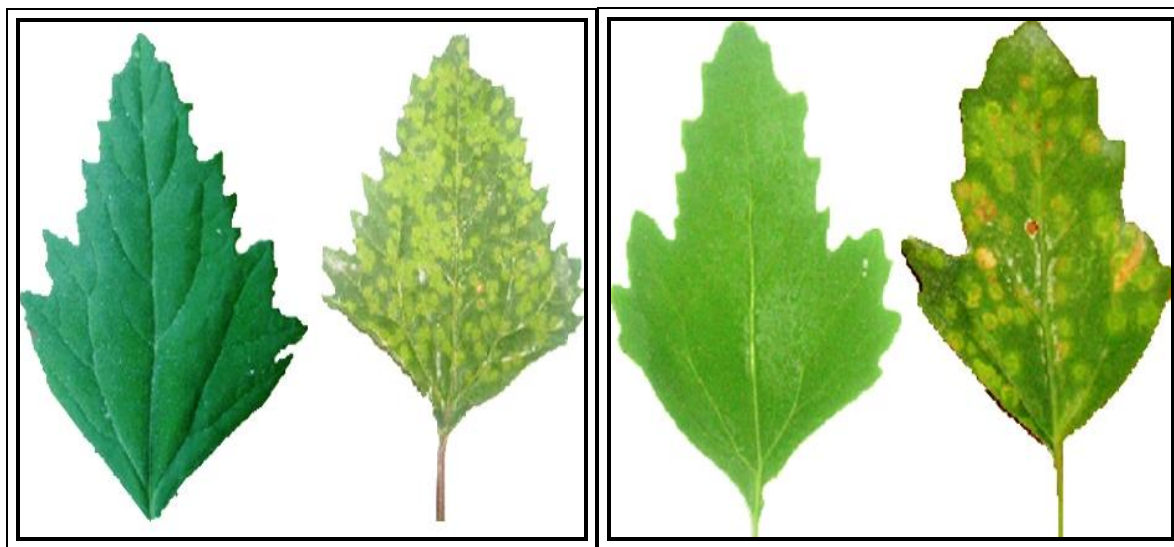
КХВ нинг индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатларини аниқлаш

Т.р.	Индикатор ўсимликлар оиласи ва тур номи	Касалликнинг	
		аломатлари	пайдо бўлиш муддати, кун
	Шўрадошлар (<i>Chenopodiaceae</i>)		
1.	Шўра (<i>Chenopodium quinoa</i> L.)	сарик хлоротик доғ	13-14
2.	Шўра (<i>Ch. amaranticolor</i>)	--/--	10-12
3.	Оқ шўра (<i>Ch. album</i> L.)	--/--	20-22
4.	Думбил шўра (<i>Ch. murale</i> L.)	кичик (1-2 мм) доғ	6-7
	Итузумдошлар (<i>Solanaceae</i>)		
5.	Дўрмон (<i>Datura stramonium</i> L.)	системали мозаика	10-12
6.	Мингдевона (<i>D. metel</i> L.)	хол-хол мозаика	18-20
7.	Физалис (<i>Phisalis floridana</i> L.)	-	-
8.	Тамакининг <i>N. barley</i> нави	мозаика	20-22
9.	<i>N. rustica</i> нави	-	-
10.	Петуня (<i>Petunia hybrida</i>)	-	-
11.	Помидор (<i>L. esculentum</i> Mill.)	яшил мозаика	10-15
12.	Бақлажон (<i>S. melon gena</i> L.)	-	-
13.	Булғор қалампири (<i>C. annum</i>)	-	-
	Дуккакдошлар (<i>Leguminosae</i>)		
14.	Қорақўз вигна (<i>Vigna sinensis</i>)	-	-
	Лабгулдошлар (<i>Labiatae</i>)		
15.	Райҳон (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	-	-
	Мочиндошлар (<i>Amaranthus</i>)		
16.	Қулупнайгул (<i>G. globosa</i>)	қизил некроз	5-6

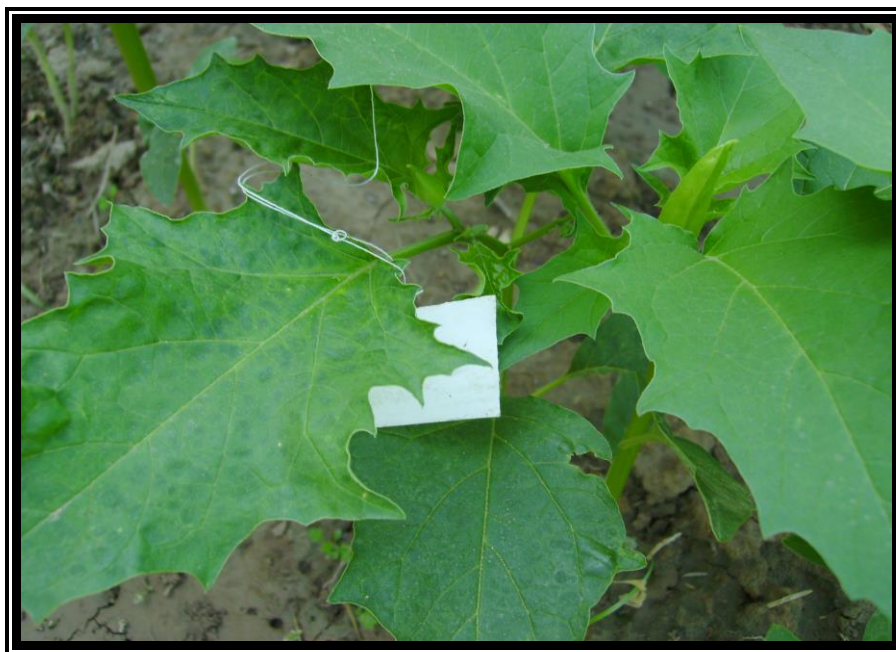
tabacum L.) *N. barley* навида 20-22 кунда касаллик баргнинг бужмайиши ва мозаика сифатида, помидор (*Lycopersicum esculentum* Mill.) ўсимлигида эса касаллик аломатлари вегетациянинг бошларида эмас, балки кейинчалик вегетациянинг охирларида яшил мозаика сифатида пайдо бўлади, кўп ҳолларда касаллик аломатларини намоён қилмаслиги ҳам мумкин (5.4-жадвал).

Физалис флоридана (*Phisalis floridana*), тамакининг *N. rustica* нави, петуния (*Petunia hybrida*), баклажон (*Solanum melongena* L.), булғор қалампири (*Capsicum annum* L.) каби итузумдошлар оиласи вакиллари, дуккакдошлар (*Leguminosae*) оиласи вакили қорақўз вигна (*Vigna sinensis*), лабгулдошлар (*Labiatae*) оиласи вакилларида райхон (*Ocimum basilicum* L.) каби ўсимликларни вирус касаллантирмаслиги аниқланди.

Мочиндошлар (*Amaranthus*) оиласи вакили бўлган *Gomphrena globosa* ўсимлигида касаллик аломати 5-6 кунда қизил ҳалқали некроз сифатида пайдо бўлади ва узоқ муддат сақланиши тажриба натижасида аниқланди.



5.8-расм. КХВ нинг *Chenopodium amaranticolor* (чапда) ва *Ch. quinoa* L. (ўнгда) ўсимликларида келтириб чиқарадиган касаллик аломатлари



5.9-расм. КХВ нинг бангидевона (*Datura stramonium* L.) ўсимлигидаги касаллик аломатлари

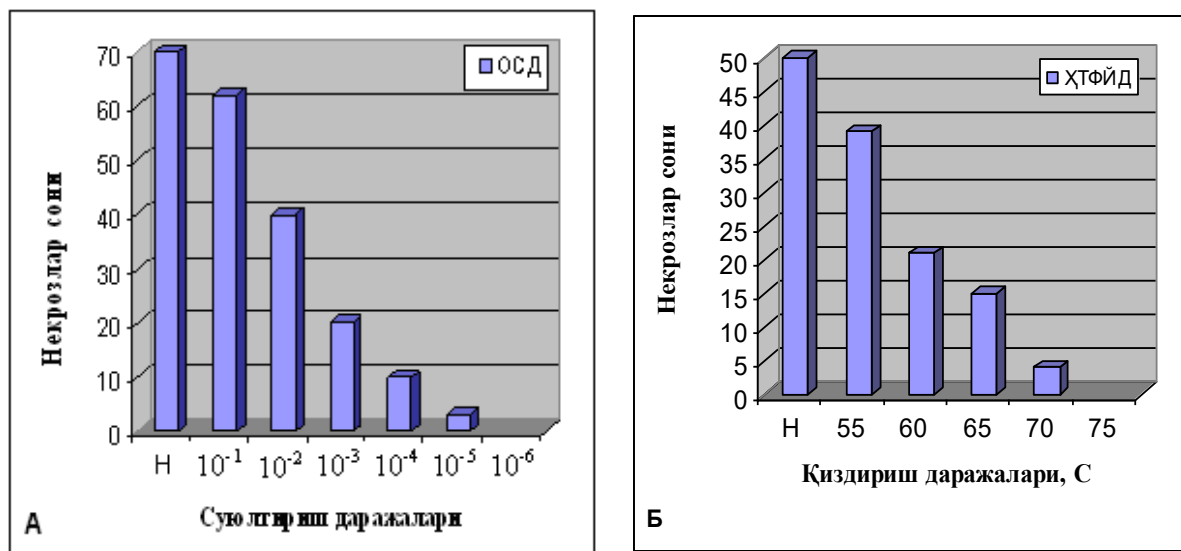
Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин, демак КХВ итузумдошлар (*Solanaceae*) оиласи вакилларида дўрмон (*Datura stramonium* L.) ва мингдевона (*Datura metel* L.) каби ўсимликларни касаллантириб мозаика касаллик аломатларини келтириб чиқарса, шўрадошлар (*Chenopodiaceae*) оиласининг бир қатор вакиллари *Chenopodium quinoa* L., *Ch. amaranticolor*, *Ch. album* L., *Ch. murale* L. каби турларида бир-биридан ўлчами жиҳатдан фарқ қилувчи сариқ доғларни келтириб чиқаради.

5.4-§. КХВ нинг физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш

Вирусларнинг физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш вирусларни бир-биридан фарқлаш, ажратиш, идентификация қилиш ва қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда жуда қўл келади. Бу хусусиятларига уларнинг турли шароитларда сақланиши, охирги суюлиш дражаси (ОСД), ҳарорат таъсирида фаоллигини йўқотиш даражалари (ХТФЙ) кабилар киради [7, 34, 66, 133].

Касалланган ўсимлик ширасидаги картошка Х-вирусининг баъзи хоссалари. Бир қатор муаллифларнинг [2, 4, 75, 98] келтиришича картошканинг Х-вирусининг охирги суюлиш даражаси (ОСД) 10^{-5} - 10^{-6} , вирус $65-76^{\circ}\text{C}$ ҳароратга сақланиш мумкин. А.Г.Зикин вируснинг ОСД 10^{-5} - 10^{-9} ва ҳарорат таъсирида фаоллигини йўқотиш нуктаси (ХТФЙ) эса $66-70^{\circ}\text{C}$ эканлигини аниқлаган [30]. Вируснинг ОСД ва ХТФЙ даражасини аниқлаш уни идентификация қилиш ва қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда муҳим ҳисобланади. Шунинг учун ишда Ўзбекистонда тарқалган КХВ нинг бу хусусиятлари текшириб кўрилди.

КХВ нинг ОСД текшириш учун дастлаб картошканинг Х-вируси билан касалланган бангидевона (*Datura stramonium* L.) ўсимлигидан вирусли намуна олиниб материал ва иш услуби бобида келтирилгандек суюлтирилди ва ҳар бир пробиркадаги намуна билан алоҳида-алоҳида *G. globosa* ўсимлиги касаллантирилди ҳамда касаллик аломатлари пайдо бўлгунча кузатиб борилди, натижалар расмда келтирилган (5.10-расм).



5.10- расм. Картошка Х-вирусининг физик хусусиятлари,
А - ОСД, Б - ХТФЙ

Расмдан кўриниб турибдики, назорат, яъни суюлтирилмаган ўсимлик шираси билан касаллантирилган барглarning барчасида касаллик аломатлари пайдо бўлди, некрозлар сони эса 70 та ни ташкил қилган бўлса, 10^{-1} дан 10^{-3}

гача суюлтирилган намуналар билан касаллантирилган барча барглarda ҳам касаллик аломатлари пайдо бўлган, аммо некрозлар сони камайиб (60-13) борган. Энг охирги касаллик аломати эса 10^{-5} марта суюлтирилган намуна билан касаллантирилган баргда пайдо бўлди (5.10-расм, А).

Вируснинг ХТФЙ даражасини аниқлаш усули ҳам материаллар ва иш услуби бобида келтирилган. Назорат, яъни қиздирилмаган юкумли шира билан касаллантирилган ўсимлик баргларида пайдо бўлган некрозлар сони 50 та ни ташкил этган бўлса, 55, 60 ва 65°C қиздирилган намуналар билан касаллантирилган ўсимлик баргларида касаллик аломатларининг камайиб бориши кузатилди (5.10-расм, Б) ва энг охирги касаллик аломатлари эса 70°C гача қиздирилган намуна билан касаллантирилган ўсимликлар баргларида пайдо бўлди. Ундан юқори (80, 85, 90, 95, 100°C) даражаларда қиздирилган намуналарда касаллик аломатлари пайдо бўлмаслиги, вируснинг юкумлилик хусусиятини йўқотганлиги, яъни денатурацияга учраганлигидан далолат беради (5.10-расм, Б).

Адабиёт [2, 6, 21, 30, 66] маълумотлари ва олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин. Демак, КХВ нинг Ўзбекистонда тарқалган изолятининг ОСД 10^{-5} , ХТФЙ даражаси эса 70°C эканлиги аниқланди. Вируснинг бу хусусиятлари уларга қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда ва уларни аниқлашда муҳим ҳисобланади.

Ўзбекистонда тарқалган КХВ нинг штаммини аниқлаш. Бу вируснинг бутун дунёда 10 дан ортиқ штаммлари аниқланган бўлиб, улар бир-биридан юкумлилиги, индикатор ўсимликларда келтириб чиқарадиган касаллик аломатлари, ОСД ва ХТФЙ даражаси каби бир қатор хусусиятлари билан фарқланади. Буларга: «Х суровий» (X_c) картошканинг Дарунок Батькивщина навидан Қозоғистонда ажратилган, «Х киевский» (X_k) картошканинг Ранная роза навидан Киев вилоятида ажратилган, «Х польский» (X_p) картошканинг Прикульский ранний навидан Польшада ажратилган [44, 66], «Х херсонский» (X_x) Херсон областида ажратилган, «Х разметий» (X_r) картошканинг Берлихенген навидан Московец, Шелудко,

Козар ҳамкорлигида ажратилган. Бу штаммлар ичида энг юқумлилари X_c ва X_n ҳисобланиб, улар бангидевонада жуда тез системали касаллик аломатларини юзага келтиради [2, 34, 56]. Булардан X_n юқори вирулентлик хусусиятига эга бўлиб, ХТФЙ даражаси 69°C , X_x - ўртача юқумли, ХТФЙ даражаси эса $70-71^{\circ}\text{C}$ ни ташкил этади, X_p штамми кучсиз юқумлиликка эга бўлиб, ХТФЙ даражаси 75°C ни ташкил этади (5.5-жадвал) [44].

Ўзбекистон иқлим шароитида тарқалган КХВ штаммларининг қайси бирига мансублигини ёки фарқ қиладиган хусусиятларини аниқлаш муҳим масалалардан ҳисобланади. Бунинг учун уч йил давомида бир қатор кузатишлар ва тажрибалар олиб борилди. Штаммларни ажратиш учун, асосан уларнинг индикатор ўсимликларда келтириб чиқарадиган касаллик аломатларига, вируснинг ОСД ва ХТФЙ даражалари кабиларга катта эътибор бериш лозим [2, 4, 44].

5.5-жадвал

КХВ штаммларининг асосий хусусиятлари

Штаммлар	ХТФЙД, $^{\circ}\text{C}$	ОСД	Юқумлилиги
X_n	69	10^{-5}	кучли юқумли
X_c	70	10^{-6}	ўртача юқумли
X_x	71	10^{-6}	ўртача юқумли
X_p	75	10^{-7}	кучсиз юқумли
X_y^*	70	10^{-5}	кучли юқумли

Изоҳ: "*" - картошканинг «Диёра» навидан диссертант томонидан ажратилган КХВ-Ўз изоляти.

КХВ-Ўз изоляти картошка ўсимлигида хол-хол мозаика, дўрмон ўсимлиги касаллантирилгандан 10-12 кун ўтгандан сўнг баргда қорамтир доғларни келтириб чиқариб, барг этида тўрсимон системали мозаика аломатларини шакллантиради ва кейинчалик барг ранги очлашиб, касаллик бутун ўсимлик танаси бўйлаб ёйилади. Картошканинг Диёра навидан ажратилган бу изолятнинг ОСД 10^{-5} , ХТФЙ даражаси эса 70°C эканлиги олиб борилган тажрибалар натижасида аниқланди (5.10-расм, А ва Б). Адабиётларда бир қатор муаллифлар [4, 30, 75, 125, 133] вируснинг X_x , X_t ва

Х_р-штаммлари қуритилган баргда 3 ой, ўсимликдан ажратилган ширада хона ҳароратида 2 ой гача, совутгичда (4°C) бир йилга яқин, Х_п-штамми эса хона шароитида қуритилган баргда 1,5 ой, ўсимликдан ажратилган ширада 2 ой гача, +4°C эса 6 ойгача сақланиши аниқланган [36, 44].

Бу маълумотларга асосланган ҳолда КХВ нинг Диёра навидан ажратилган изолятнинг сақланиш муддатини аниқлаш учун вирус билан касаллантирилган бангидевона ўсимлиги барги ва баргдан ажратилган шира дастлаб назорат учун касаллантирилди ва қолган қисми эса уч хил шароитда (хона ҳароратида, 4, -4°C) сақланиб, турли муддатларда (3, 6, 8, 10, 12, 24, 48 ва 384 кунгача) индикатор ўсимликни касаллатириб, кузатиб борилди. Натижалар ўсимликда пайдо бўлган некрозлар сонига қараб аниқланди ва олинган натижалар жадвалда келтирилди (5.6–жадвал).

5.6-жадвал

КХВ нинг сақланиш муддатини аниқлаш

Иноку люм	Сақлаш шароити	Текшириш муддати, кун ҳисобида									
		н	3	6	10	12	24	48	96	192	384
		<i>G. globosa</i> ўсимлиги баргидаги некрозлар сони (ўртача)									
Барг	хона	105	50	19	13	10	0	0	0	0	0
	+4°C	105	84	65	45	22	24	10	5	0	0
	-4°C	105	25	22	19	16	14	10	7	4	1
шира	хона	150	46	31	24	12	0	0	0	0	0
	+4°C	150	40	33	27	20	16	12	3	0	0
	-4°C	150	50	43	40	35	22	16	8	3	0

Тажрибалар асосида бу вирус бангидевона ўсимлиги қуритилган баргида хона ҳароратида 10-12 кун, +4°C да 96 кун гача, музлатилганда эса бир йилгача сақланиши, ўсимликдан ажратилган юқумли ширада эса худди қуритилган баргдаги сингари хона шароитида 10-12 кун, +4°C да 96 кун, музлатилганда эса 192 кунгача сақланиши аниқланди ва вирус қанчалик узоқ муддат сақланса, унинг юқумлилик хусусияти шунчалик пасайиб бориши аниқланди (5.6-жадвал).

Картошканинг «Диёра» навидан ажратилган Х-Ўз изолятининг юқоридаги аниқланган биологик ва физик-кимёвий хусусиятларига асосланиб Польшада «Прикульский ранний» навидан ажратилган кучли юқумлиликка эга бўлган Х_п-штаммга солиштирадиган бўлсак, бу штаммнинг ХТФЙ даражаси 69°C [44], Диёра навидан ажратилган изолятнинг эса ХТФЙ даражаси 70°C эканлиги ва хона ҳароратида 10-12 кун сақланиши аниқланди. Х_п-штамми эса хона ҳароратида қуритилган ўсимлик баргида 1,5 ой гача сақланиши адабиётларда келтирилган. ОСД эса бир хил, яъни 10⁻⁵ ни ташкил этади [44, 75, 109, 110].

Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин, демак аратилган КХВ нинг Х-Ўз изоляти айрим хусусиятлари (кучли юқумлилик, ОСД) билан Х_п-штаммга ўхшаш, айрим хусусиятлари (ХТФЙ, хона ҳароратида сақланиши) билан фарқланади. Бундан кўриниб турибдики, бу вирус минтақамизда тарқалгандан сўнг, бир қатор ўзгаришларга учраган. Бу штамм Ўзбекистон иқлим шароити учун хос бўлган кучли юқумлиликка эга бўлган, айрим хусусиятлари билан бошқа штаммлардан фарқ қилувчи ва ўхшовчи янги эндемик штаммдир.

5.5-§. Вирусга специфик антизардоб тайёрлаш

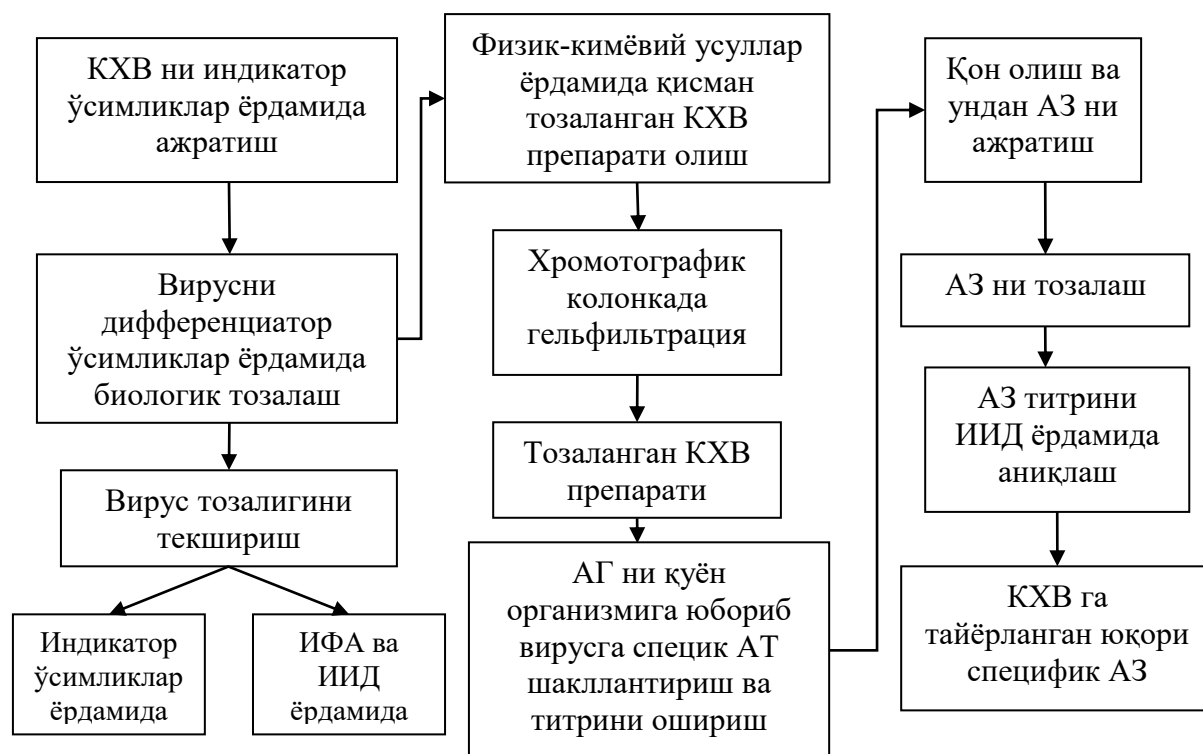
Вирусга специфик антизардоб тайрлаш бир неча босқични ўз ичига олади. АЗ таёрлашнинг схематик кўриниши расмда келтирилган(5.11-расм). Бунинг учун юқоридаги дастлаб биологик йўллар билан аралаш вируслардан ажратилган ва тозалашнинг оптимал усули ёрдамида тозаланган тоза, гомоген вирус препарати 4 мг/мл дан қуённинг сон мускулларига ва курак териси остига кунора, жами 5 марта юборилди. Ҳар бир юборилганда 1 мл вирус препаратига 1 мл дан адъювант Фрейнди қўшилиб, стабил эмулция пайдо бўлгунча яхшилаб, оҳисталик билан аралаштирилди, чунки тезлик билан аралаштирилса аралашма орасига ҳаво кириб қолиб, қуён организмида ноқулай ҳолатларни келтириб чиқариши мумкин. Охирги иммунизациядан 14 кун ўтгандан сўнг қуён қулоқ венасидан биринчи марта 10 мл, уч кундан

сўнг эса яна 10 мл қон олинди. Олинган қон 1 сутка давомида хона ҳароратида қолдирилгандан сўнг, секин қон зардоби қуйиб олинди ва қолган қоннинг шакли элементларидан тозалаш учун 5000 айл./дақ.да 5 дақиқа давомида центрифуга қилиниб чўкма усти қуйиб олинди ва АЗ нинг титри ИИД ва томчи усуллари ёрдамида аниқланди. Дастлабки олинган қондан ажратилган АЗ титри ИИД усули ёрдамида аниқланганда 1:4, томчи усули ёрдамида аниқланганда 1:128 эканлиги, иккинчи марта олинган қондан ажратилган АЗ да эса АТ нинг титри бир қадар кўтарилганлиги, яъни ИИД ёрдамида аниқлаганда 1:16, томчи усули ёрдамида аниқланганда эса 1:1028 эканлиги маълум бўлди (5.12-расм, А).

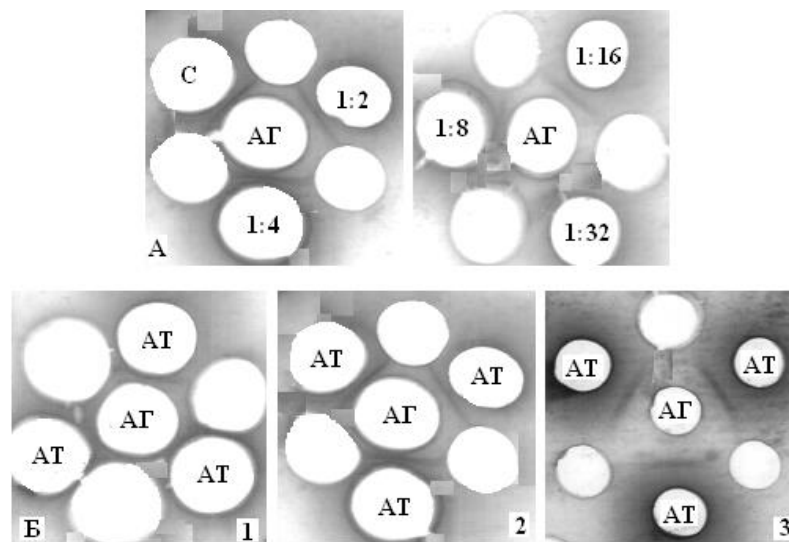
Бундан ташқари АТ нинг агар гелида ҳаракатланиб АГ билан преципитация ҳосил қилишининг энг қулай даражасини аниқлаш учун АГ ва АТ солинган чуқурчалар орасини 3, 5 ва 6 мм масофада жойлаштириб, уларга суюлтирилмаган АЗ ва АГ солинди ва тажриба натижалари пайдо бўлгунча кузатиб борилди (5.12-расм, Б). Ўтказилган тажриба натижасида шу нарса аниқландики, ИИД усулида АГ ва АЗ орасидаги энг оптимал масофа 3-5 мм эканлиги маълум бўлди, чунки улар орасида пайдо бўлган преципитация реакцияси, 6 мм оралиқ масофада жойланган АГ ва АТ орасидаги преципитация реакциясига нисбатан аниқ бўлди, аммо реакцияни бўяш вақтида 3 мм оралиқда мавжуд реакциялар яхши кўринмаслиги, 5 ва 6 мм масофадаги реакциялар яхши бўйлиши ва кўриниши маълум бўлди. Шунинг учун ИИД усулида вирусларни диагностика қилишда АГ ва АЗ орасидаги оптимал масофа 5 мм деб кўрсатишимиз мумкин (5.12-расм, Б).

Титри аниқланган АЗ алоҳида флаконларга, 0,6 мл АЗ ва 1-2 томчи хлороформ солиб яхшилаб беркитилгандан сўнг -4°C да сақлаб қўйилди. Ажратилган АЗ миқдори биринчи олинган қонда 5 мл, иккинчи олинган қонда эса 7,5 мл ни, жами 20 мл олинган қондан 12,5 мл ни ташкил этди. Агар ИИД усулида битта намунани текшириш учун 10 мкл дан (кичкина лунка учун) АЗ сарфланса, 100 мкл 10 та намунага, 1 мл эса 100 та намунани текширишга, 12,5 мл суюлтирилмаган ҳолатдаги АЗ 1250 та намунага етади,

аммо биринчи ажратилган зардобнинг титри 1:4, иккинчисиники эса 1:16



5.11-расм. КХВ га специф антизардоб тайёрлаш схемаси



5.12-расм. ИИД усули ёрдамида антизардоб титрини аниқлаш.

А – антизардобдаги аниқланган АЗ титрининг кўриниши: С-суялтирилмаган АЗ ва 2, 4, 8, 16, 32 -марта суялтирилган АЗ; Б – ИИД усулида АГ ва АТ орасидаги преципитация реакциясининг оптимал даражасини аниқлаш: 1 - чуқурчалар аросидаги масофа 3 мм, 2 - масофа 5 мм, 3 - масофа 6 мм.

эканлигини ҳисобга олган ҳолда, АЗ ни яна 1:8 марта суяқлантиргунча ишлаши юқоридаги тажрибалар асосида аниқланди. Демак, 12,5 ни 1:8 марта

суюлтирилса 50 мл ни ташкил этади, 12,5 мл 1250 та наmunани текширишга етса, 50 мл эса 5000 та наmunани текширишга этади. Интернетнинг www.agdia.com сайти ва «Agdia» журналидан олинган маълумотларга кўра КХВ га тайёрланган АТ нинг баҳоси 500 та намуна учун 60 доллар, 1000 та намуна учун 105 доллар, 5000 та намуна учун эса 405 долларни ташкил этса, 100 та наmunани текшириш учун 12 долларга, яъни 18720 сўмга тенг бўлади.

Шу вирусга бизда тайёрланган АЗ нинг 1 мл 4000 сўмга тенг бўлди ва бу АЗ ни тайёрлашга кетган барча сарф-харажатлар лаборатория регламентида келтирилган. Демак, юқорида келтирилган ҳисоб-китобларга асосан ИИД усули ёрдамида 100 та наmunани текшириш учун 1 мл АЗ сарфланади, унинг баҳоси 4000 сўмга тенг бўлса, битта наmunани текшириш 40 сўмга тўғри келади, хориждан сотиб олинган АТ эса битта намуна учун 187,2 сўмга тенглиги, бизда тайёрланган АЗ нинг 4,6 барабар арзонлигини кўрсатди.

Шундай қилиб, КХВ га юқори титрли специфик антизардоб тайёрланди. Бу тайёрланган АЗ нинг титри 1:16 эканлиги ИИД усули ёрдамида аниқланди ва олинган АЗ КХВ ни диагностика қилишда қўлланилди. Тайёрланган АЗ нинг иқтисодий самарадорлиги юқори, яъни олти барабар арзон эканлиги ҳисоб-китоблар асосида аниқланди.

5.6-§. Картошканинг Х-вирусига чидамли нав ва клонларни аниқлаш

Картошка ўсимлигининг чидамли навларни аниқлаш қишлоқ хўжалиги, селекция соҳасида ҳамда вирусларга қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда муҳим ҳисобланади. Бундай навлар вируслар билан касалланиш даражасига қараб аниқланади ва иммун - касалланиш даражаси 0%, амалий чидамли – касалланиш даражаси 10%, кучсиз касалланувчи - касалланиш даражаси 25%, ўртача касалланувчи – касалланиш даражаси 50%, чидамсиз – касалланиш даражаси 50% дан юқори бўладиган гуруҳларга бўлинади [7, 45,

100]. Чидамли навларни аниқлаш мақсадида бир қатор нав ва клонлар ИФА ёрдамида текшириб чиқилди, натижа жадвалда келтирилди (5.7-жадвал).

5.7-жадвал

Картошка навлари ва клонларининг КХВ билан касалланиш даражаси

Т.р.	Картошка навлар		Касал. дар. %	Клон белгиси ва коди	Касал. дар. %
	Номи	Яратилган давлат		Белгиси	
1	Дитта	Голландия	5-35	К-1	20
2	Дезире	Голландия	0-90	К-2	20
3	Санте	Голландия	0-85	К-3	20
4	Куроода	Голландия	0-10	К-5	40
5	Романо	Голландия	5-30	К-6	20
6	Арнова	Голландия	25-30	К-7	60
7	Мирям	Германия	30	К-10	20
8	Вирго	Германия	20	К-11	20
9	Марфона	Германия	0-40	К-13	40
10	Тўйимли	Ўзбекистон	5-50	К-15	40
11	Невский	Россия	0-15	К-16	60
12	Кондор	Голландия	0-5	К-17	40
13	Писком	Ўзбекистон	40	К-18	40
14	Серҳосил	Ўзбекистон	60	К-19	80
15	Сарнов	Ўзбекистон	40	К-20	40
16	Диёра	Ўзбекистон	65-90	К-21	100
17	Ақраб	Ўзбекистон	80	К-26	40

Жадвалдан кўриниб турибдики, КХВ билан Курадо ва Невский 5-15% гача, Дитта, Романо, Арнова, Мирям каби навлар 5-35% гача, Марфона,

Писком, Сарнов каби навлар эса 40% гача, Тўйимли, Санте, Дезире, «Диёра» каби бир қатор навлар эса вирус билан жуда кучли - 50-95% гача касалланиши аниқланди (5.7-жадвал).

Текширилган клонлардан К-1, К-2, К-3, К-6, К-10 кучсиз касалланувчи (25% гача), К-5, К-13, К-15, К-17 каби клонлар эса КХВ билан ўртача касалланиши, К-7, К-16, К-19, К-21 каби клонлар эса вирус билан жуда кучли (50% дан юқори) касалланганлиги аниқланди (5.7-жадвал).

Нав ва клонларнинг касалланиш даражасига қараб бир қатор муаллифлар [23, 44, 113] томонидан ишлаб чиқилган шкала бўйича гуруҳларга ажратилди ва жадвалда келтирилди. Текширишлар натижасида, клон ва навларнинг ҳеч қайсиси КХВ га иммун эмаслиги, фақатгина Кондор ва Курадо навлари амалий чидамли эканлиги маълум бўлди (5.8-жадвал).

5.8-жадвал

Картошка нав ва клонларининг КХВ га чидамлилигига қараб гуруҳлари

Чидамлилиқ гуруҳлари				
Иммун	Амалий чидамли	Кучсиз касалланувчи	Ўртача касалланувчи	Чидамсиз
Гуруҳларга ажратиш чегаралари, касалланиш даражаси бўйича				
0%	10%	25%	50%	50% дан юқори
-	Кондор Курадо	Вирго Невский К-2, К-3, К-6, К-1, К-10, К- 11, К-27, К-29	Дитта, Романо Арнова, Мирям Марфона, Писком Тўйимли, Сарнов К-5, К-13, К-15, К- 17, К-18, К-20, К-26	Дезире, Санте, Диёра, Ақраб К-7, К-16, К- 19, К-21, К-31

Вирго, Невский навлари, К-2, К-3, К-6 клонлари КХВ билан кучсиз касалланувчи гуруҳга мансублиги, КХВ билан ўртача касалланадиган навларга Дитта, Романо, Арнова, Мирям, Марфона, К-5, К-13, К-15 каби клонлар мансублиги аниқланди (3.11.2-жадвал). Чидамсиз навларга эса

Акраб, Диёра, Дезире, Санте навлари, К-7, К-16, К-19 клонлар мансублиги аниқланди (5.8-жадвал).

Фоиз ҳисобида кўрсатадиган бўлсак, биринчи гуруҳга (иммун) мансуб нав ва клонлар аниқланмади, иккинчи гуруҳга (амалий чидамли) 11,76% нав мансублиги аниқланди. Клонлар ичида эса бундай хусусиятга эга бўлганлари учрамади. Учинчи, яъни кучсиз касалланувчи гуруҳга 11,76% нав, 40% клон мансублиги, тўртинчи гуруҳга (ўртача касалланувчи) 47,06% нав ва 35% клон, бешинчи гуруҳга (чидамсиз) эса 25,53% нав ва 25% клон мансублиги аниқланди. Текширилган барча навларнинг 30% маҳаллий, қолган 70% эса Голландия, Германия каби давлатлардан олиб келинган навлар ташкил этади. Маҳаллий навларнинг КХВ билан касалланиши ўртача 25,91% ни, иқлимлаштирилган навларнинг касалланиши 16,82% ташкил этди. Иқлимлаштирилган навлар маҳаллий навларга нисбатан бир мунча КХВ га чидамли эканлиги маълум бўлди.

Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин: демак, текширилган нав ва клонлар ичида КХВ га иммун навлар аниқланмади, аммо Курадо, Кондор амалий чидамли, Вирго, Невский, К-1, К-2, К-3, К-6, К-10, К-11, К-27, К-29 эса кучсиз касалланувчи нав ва клонлар эканлиги аниқланди. Бу нав ва клонлардан келажакда селекционерлар янги нав ва намуналар яратишда фойдаланса, самарали натижаларга эришилади.

VI БОБ. ВИРУСЛИ КАСАЛЛИКЛАРГА ҚАРШИ КУРАШ ЧОРА ТАДБИРЛАРИ

6.1-§. Вирусларга қарши кураш чоралари бўйича умумий маълумотлар

Вирусли касалликларнинг зарарини пасайтириш бўйича ишлаб чиқиладиган чора тадбирлар ҳар бир ҳудуднинг агроиклим шароитига боғлиқ равишда ишлаб чиқилиши зарур ва вирусларни ўрганиш ҳамда идентификация қилишнинг замонавий усулларига таянган бўлиши лозим.

Профилактик чораларга дастлаб чидамли навларни селекция қилишни талаб этилади. Бу вирусли касалликлардан ўсимликларни ҳимоя қилишнинг радикал (лотинча радих – «илдиз») усулларида бири сифатида жуда муҳим ҳисобланади. Ўсимликларнинг вирусларга чидамлилиги махсус генлар ёрдамида бошқарилади, шунинг учун ўсимликларнинг вируслардан ҳимояланиш реакцияларининг бир нечта типи учрайди. Биринчидан, маълум бир вирусга нисбатан чидамли бўлган навлар. Вируслар бундай ўсимликда кўпая олмайди ва бундай ўсимликлар иммун навлар деб юритилади. Иммун намуналар чидамли навлар орасида жуда кам ҳолларда учрайди (Вахабов, 2004).

Вирусларга чидамли навлар селекциясида юқори сезгирликка эга бўлган, касалланган ҳужайраларда некротик касаллик аломатларини намоён қилувчи навлар жуда муҳим аҳамият касб этади. Бундай ҳолатда марказдаги касалланган ҳужайралар нобуд бўлади ва вирус зарралари кўшни ҳужайраларга ўтиш имкониятини йўқотади. Ташқаридан бу локал некроз сифатида пайдо бўлади ва бу ҳўжайин ўсимлик нави, вирус штамми ва ташқи муҳит шароитига боғлиқ бўлади. Вирусларга юқори сезгирликка эга бўлган хусусияти мавжуд ўсимликлар жуда кўпгина нав ва намуналар ичида учрайди ва бу селекцияда кенг қўлланилади, масалан, юқори сезгирликка эга бўлган навлар картошка ва полиз экинлари ичида жуда кўп учрайди. Чидамлилигининг бундай турида штаммга хос бўлган спецификликни

эътиборга олишни талаб этади, чунки бундай чидамлилиқ реакцияси вирулент штаммларда йўқолиши мумкин (Писецкая, 2005).

Ўсимликнинг вирусга нисбатан толерантлиги муҳим аҳамият касб этади. Толерант ўсимлик вирус касаллиқга нисбатан кучли касаллик аломатини намоён қилмайди ва шу билан бир қаторда ҳосилдорликни ҳам кучли даражада пасайишига олиб келмайди. Чидамлилиқнинг бундай тури селекцияда кенг масштабда қўлланилади.

Бундан ташқари, селекцияда чидамлилиқнинг касалланишга ёки инфекцияга чидамлилигидан фойдаланилади. Бундай ҳолатда, бир хил ҳимоя воситалари қўлланилганда, турли штаммлар билан касалланишнинг энг паст даражаси белгилаб олинади. Селекциянинг асосий вазифаларидан бири шуки, етиштирилаётган навлар ичидан юқори иммун ва маҳсулдорликка эга бўлган ўсимликларни аниқлашдан иборат. Ўсимликларни вирусларга чидамлилигини аниқлашда табиий шароитда уларнинг вируслар билан касалланиш даражасини аниқлаш муҳим ҳисобланади, селекция ишларини олиб боришда эса ўсимликларни сунъий касаллантиришдан фойдаланилади (Николаева и др., 1985).

Қишлоқ хўжалиги экинларини вирусли касалликлардан ҳимоя қилишнинг энг самарали усулларида бири бу соғлом уруғ ва экиш маҳсулотларидан фойдаланиш муҳим ҳисобланади. Бунинг учун дастлаб, уруғ, экиш материаллари, кўчатларни визуал назоратдан ўтказиш жуда муҳим бўлиб, аммо латент инфекцияларда бу яхши самара бермаслиги мумкин. Аниқ натижаларни назоратнинг замонавий диагностика методлари, электрон-микроскопик, серологик, индикатор ўсимликлар, ПЗР ва бошқа усулларни қўллаш орқали олиш мумкин.

Вирусли касалликларни олдини олишда, вирусга қарши тозалаш, жумладан, инфекция манбаларидан маданий ўсимликни изоляциялаш, ёввойи резерватор-ўсимликларни йўқ қилиш, вирус ташувчи ҳашаротлар ва бошқа ташувчилардан кимёвий воситалар ёрдамида ҳимоялаш, ўсимликларни контакт усулида инфекция юқишидан ҳимоялаш, ўсимликларни

етиштиришнинг оптимал шароитини яратиш кабиларни қўллаш муҳим ҳисобланади.

Ишлаб чиқиладиган вирусга қарши кураш чора-тадбирлари у ёки бу патогеннинг табиий циркуляциясини ва уларнинг табиий-ўчоқлари билан алоқадорлигини билган ҳолда амалга оширилиши мақсадга мувофиқ бўлади, акс ҳолда ишлаб чиқилган чора-тадбирлар аҳамият касб этмай қолади (Эргашев, 1998).

6.2-§. Вирусли касалликлар терапияси

Паст ҳарорат таъсирида ўз активлигини йўқотувчи ўсимлик вирусларига қарши вирус инактивацияга учрайдиган, аммо ўсимлик тўқимаси ҳаётчанлигига таъсир этмайдиган даражадаги ҳароратда амалга ошириш махсус амалиётини қўллаш мумкин. Термотерапия амалиётини вирусли касалликларга қарши биринчи марта XIX асрда, шақарқамишнинг касаллигидан холи қилиш мақсадида қўлланилган. Бугунги кунда малина, узум каби бир қатор мевали дарахтлар кўчатларини 35-40°C ли сувга бир неча кун сақлаш орқали термотерапия қўлланилиб келинмоқда. Қулупнай ўсимлигида учрайдиган комплекс вирусларга қарши 43°C ҳароратда ўсимликни 30 дақиқа давомида сақлаш тавсия қилинади (Файзиев, 2008).

Термотерапияга яқин таъсир даражасига эга бўлган усулларга бир қатор физикавий омиллар, масалан, гамма ва рентген нурлари, турли зарралар – нейрон ва электронлар оқимлари, шу билан бир қаторда ультрабинафша нурларининг ҳам таъсири яхши самара беради.

Вирус касалликларининг терапиясида бир қатор антивирус таъсирга эга бўлган моддалар (ингибиторлар), антибиотиклар ва бир қатор кимёвий моддаларни ҳам қўллаш мумкин. Вируслар ингибиторлари қаторига протеинлар, гликопротеинлар, полисахаридлар, нуклеин кислоталар (РНК) ва кичик молекулали бирикмалар, ўсимлик табиатида мансуб антибиотиклар аминин ва аренарин, замбуруғ антибиотики трилотецин кабиларни санаб ўтиш мумкин. Бугунги кунда ўсимлик хужайрасининг ичида вирус

кўпайишига тўсқинлик қилувчи янги антивирус препаратлари яратилди. Худди шундай янги кенг антивирус таъсирга эга бўлган препаратлардан бири бу - амиксин (тилорон) ҳисобланади. У турли шароитда (лаборатория тадқиқотларида *in vitro*, *in ovo*, *in vivo*; клиник тадқиқотларда ва амбулатория тадқиқотларида ҳамда стационар шароитларда) 15 оилага мансуб вирусларнинг, идентификация қилинмаган нафас олиш органлари ўткир респиратор инфекциялар ва пирионлар репродукциясини ингибирлайди. Амиксиннинг вирусларга қарши таъсир механизмининг бир нечта механизмлари келтирилган: интерферон индукцияси, вируслар репликациясига ҳужайралараро ва ҳужайра ички сигнализацияси орқали таъсир қилиш, интерферонни протеолитик деградациядан ҳимоялаш; нуклеин кислота репликацияси, транскрипция ва трансляциясини тўхтатиш. И.С. Замбриборш, Л.С. Шепелларнинг исботлашича, амиксиннинг 0,1% солинган МС – озуқа муҳити хмелл эксплантларига ижобий таъсир этиб, унинг регенерациясини оширган ва шу билан бир қаторда нормал ўсимлик шаклланишини тезлаштирган (Умарова, 2009).

Антибиотиклар тамакидаги ва помидордаги ТМВ га, помидорнинг шалдираши, КХВ кабиларга қарши қўлланилган. Маълумотларнинг келтирилишича Х ва Y-вирусларнинг энг паст репродукцияси картошка туганагининг тиомочевина ва гибберлин аралашмаси билан ишлов берилганда кузатилган.

Ўсимликлар вакцинацияси (ажойиб ҳимоя, сунъий иммунизация, преимунизация). Фитовирусологияда эффектив вакцинация бу – вируснинг кучсиз штаммининг вирулент штаммига нисбатан интерференциясига асосланилади.

Вакцинация вируснинг экин майдони бўйлаб тарқалишини олдини олади, касаллик аломатларини сустлаштиради ва етарлича маҳсулот олиш имконини беради. Вакцинация учун зарур штаммлар асосан табиий шароитда ўсувчи ўсимликлардан ажратилади. Чунки улар доим табиий шароитда бўлади, шу муҳит учун янги ҳисобланмайди, шунинг учун табиий

ценозлардаги барқарорликнинг бузилиш эҳтимоли мавжуд эмас. Ю.И. Власовнинг (1982) таъкидлашича, вирусларнинг табиий штаммлари ўсимликларнинг табиий вакцинацияланишига ёрдам беради, масалан, картошканинг бир қатор навлари Х вирус билан табиий ҳолда кучсиз штамми билан касалланган бўлади (Эргашев, 1998).

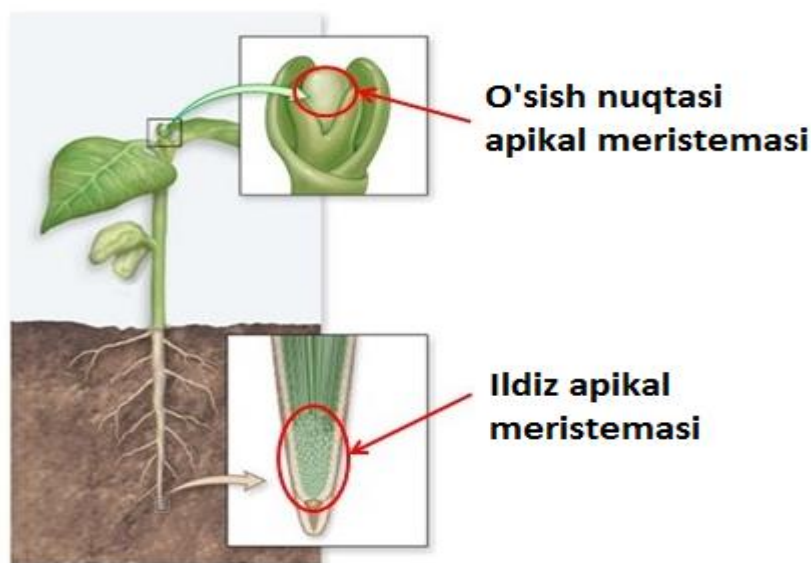
Вакцина штаммларини вирусларга турли ҳароратни таъсир эттириш, ёки бир қатор кимёвий моддаларни таъсир эттириш шарти билан ҳам олиш мумкин, масалан, А.Д. Бойко (1990) нинг таъкидлашича, азот кислотасинининг *in vitro* усулида олинган помидор барг ширасига таъсир эттириб ва атиргулдан γ-нур таъсир эттириб олинган ТМВнинг кучсиз штаммини олишга эришилган. Ю.И. Власов ва Т.Н. Якутина илк бор помидор вакцинацияси учун ТМВнинг шартли-57 деб номланувчи штаммини олишга эришди. К.С.Сухорукова жамоаси билан помидор ўсимлигидан ТМВнинг ТМВ - У-69 деб номланувчи кучсиз штаммини олишга эришган. Иккала штамм ҳам помидорни ТМВнинг кучли штаммларидан ҳимоя қилишда ишлатилади (Власов ва бошқ., 1962).

6.3-§. Апикал меристема усули

Вегетатив усулда кўпайтирилган ўсимликлардан вируссиз материал олиш учун апикал меристема усулининг қўлланилиши жуда муҳим ҳисобланади. Апикал меристема – яъни меристематик (ҳосил қилувчи) хужайралар гуруҳи, ўсиш конуси марказини ҳосил қилувчи хужайралар ўсимликнинг учи ёки илдизиди терминал ҳолатда жойлашади ва ўсимликнинг бирламчи тўқималарини ва бошқа органларини ҳосил қилади. Апикал меристеманинг юқори қисми инициал хужайралар (кўпгина қирқбўғинлар, попоротниксимонларда ягона, уруғли ўсимликларда эса кўп хужайрали) бўлади. Яқин ҳосил қилувчи инициал хужайралар протомеристема зонасида ажратилади. Бунинг асосида қисман дифференциялашган аммо ҳали меристематик ҳолатдаги, қисман дитерминант бирламчи меристема ҳолатига мансуб бўлган тўқималар ётади.

Унинг тўқима ҳосил қилиш хусусиятига боғлиқ ҳолда, детерминант меристема қуйидаги ҳужайра комплекслар: кейинчалик ўсимликнинг бирламчи қопловчи тўқима (эпидермис) ва пўстлоқни ҳосил қилувчи – туника ҳамда доимий ўтказувчи системани (марказий цилиндр) ҳосил қилувчи корпус ҳужайралардан иборат. Илдизда – бирламчи қопловчи тўқимани (ризодермис) ҳосил қилувчи - дермотоген; бирлачи пўстлоқ – периблема; марказий цилиндр – плеромадан ташкил топган. Шундай қилиб, меристематик ҳужайраларнинг кейинги ривожланиш даражаси ўсимлик апекси ва илдизнинг ўсиш нуқтасида тақсимланади (6.1-расм).

Ички қатламларда дифференцияланувчи меристема ҳужайралари дастлабки ўтказувчи система вазифасини бажарувчи прокамбийни ҳосил қилади. Бугунги кунда вирус инфекциясининг апикал меристемада бўлмаслиги сабаби тўғрисида бир нечта гипотезани таклиф қилишган:



6.1-расм. Ўсимлик апикал меристемаси

- апексда ўтказувчи системанинг мавжуд эмаслиги, вирусларнинг ҳужайрадан-ҳужайрага ўтиб тарқалишини секинлаштиради. Апикал меристеманинг ўшиши вируслар ҳаракатидан тез амалга ошади;

- ауксинларнинг юқори концентрацияси вирусларнинг репликациясига йўл қўймайди;

- вирус инфекциясининг меристематик зона орқали ҳаракатланишига қаршилиқ кўрсатувчи плазмасмалардан кичик бўлган механик тўсиқнинг мавжудлиги. Ўсиш нуқтасига туганак метоболитларининг таъсир этиб, унинг регенерациясини тезлаштишини олдини олиш учун туганакнинг ўрта қисмидаги куртаклардан (1,5 x 1,5) паренхима олинади. Куртаклар курук иссиқ ёрдамида ишлов берилган қумда ўстирилади. Этиолирланган ўсимталар қоронғу шароитда, 25-27°C ҳароратда, ҳаво намлиги 70-80% бўлган шароитда ўстрилади. Қум кунига икки марта намланиб турилади, 7-10 кундан сўнг Кноп эритмаси ёрдамида озиклантирилади. Ўсимтанинг апикал меристемаси 12-13 та бўлакка ажратилади (ажратиш катталиги икки бўғим оралиғи олинади). Ажратилган ўсимталар макро -, микро- элементларга бойитилган, цитокининлар концентрацияси оширилган озуқа муҳитларда ўстирилади. Културалар ўстрилаётган хона ҳарорати кондитционер ёрдамида 25°C да ушлаб турилади, ҳаво намлиги 70%, ёритилиш 16 соатни таскил этиши керак. Одатда озуқа муҳитига меристеманинг 0,15 дан 0,5 мм гача бўлган ўлчамдаги бўлағи экилади. Бунинг маълум даражадаги қонуният мавжуд бўлиб, меристема қанча кичик бўлса вируссиз ўсимлик олиш эҳтимоли шунча йўқори бўлади. Меристемани ажратиб олиш стерил шароитда, ламинар боксда, бинокуляр микроскопдан фойдаланган ҳолда олинади (Аникина, 2015).

Меристема озик муҳитда экилгандан сўнг 3-5 баргли бўлишигача ўртача 40-45 кун ўтади, баъзи ҳолларда 2-8 ой ўтиб кетиши мумкин. Муҳитнинг камғаллашишини эътиборга олиб, вақти-вақти билан ўсимталар янги озуқа муҳитига ўтказиб турилади.

Ўсимликларни вирусдан холи қилиш учун кўп ҳолларда комплекс методлар, яъни бир нечта усуллар, жумладан термотерапия ва хемотерапия ҳамда нурлар ва магнит майдон таъсир эттириш орқали бошланғич материални даволаш ва соғлом уруғлик олиш имкониятини оширишига олиб келади. Физиологлар томонидан ишлаб чиқилган ўсимликларни соғайтириш усуллари фақат картошкачиликда балки бошқа ўсимликларда, масалан,

кулупнай, малина, сабзавот ва манзарали ўсимликларни соғломлаштишда қўлланилади. Францияда апикал меристема усули георгина, гвоздика, орхидея каби гулларни соғайтиришда қўлланилиб келинган. Кўпгина мамлакатларда апикал меристема усули ёрдамида ўсимликларни соғломлаштириш экспорт материали сифатида муҳим ўрин эгаллади (Фримель, 1987).

6.4-§. Картошка ўсимлигини вирус ва вирусли касалликлардан химоя қилиш йўллари

Картошка ўсимлигини вируслар ва вироид касалликлардан химоя қилишнинг энг самарали усуллари қуйидагилар ҳисобланади:

- вирусдан холи бўлган соғлом уруғни экиш;
- уруғлик супер элита экилган участкалар орасидаги оралик масофани 1,5-2 км масофада ҳамда имкони борича ўсимлик шира битларининг қишлаш маконларидан йироқда экиш;
- экиладиган туганакларни экиш олдидан турли кимёвий моддалар билан ишлов бериш;
- экишни барвақт амалга ошириш;
- ўсимлик шира битларига қарши турли инсектицидлар билан ишлов бериш;
- иссиқхоналар ва оранжериялар атрофидаги ёввойи ўсимликларни бартараф этиш, уруғчилик хўжаликлари ва картошка экиладиган майдонлар ҳамда уларнинг атрофларида бангидевона (*D. stramonium* L.), мингдевона (*D. metel* L.), итузум (*S. nigrum* L.), ялпиз (*M. asiatica* Boriss.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), печак (*C. arvensis* L.) каби бир ва айниқса кўп йиллик вирус сақловчи ёввойи ўсимликларни ўсишига йўл қўймаслик;
- экилаётган картошка уруғлари ва картошка ўсимликларини ИФА сингари сезгир иммунологик усуллар ёрдамида назорат қилиш;
- уруғлик картошка экилган майдонларда тез-тез ва ўз вақтида фитосанитар тозалаш ишларини олиб бориш;

- ҳосил йиғиш олди картошка ер устки поя ва барглари олиб ташланиши;

- ҳосил териб олингандан сўнг, қолган туганаклардан ерни тозалаш;
- экиш материалини соғайтириш;
- экишда чидамли навларни экиш.

Картошкани турли вируслар ташувчиларидан ҳимоя қилиш учун ўсимлик ривожланишининг барвақт фенофазаларида касаллик аломатларини аниқлаш имконини берувчи бир қатор комплекс агротехник усулларни қўлланилади. Бундай комплекс усулларга экиш олдидан туганакни нурлар ёрдамида ва ҳарорат таъсирида ишлов бериш, барвақт ва юза экиш, шу билан бир қаторда картошка ўсимлиги ер устки қисмларини барвақт ёки кимёвий моддалар ёрдамида йўқотиш кабиларни ўз ичига олади.

Аввалдан картошканинг вирус касалликларига қарши маълум кураш чоралари мавжудки, уруғлик туганак олиш учун соғлом ўсимликни танлаб олишда, вирусли касаллик аломатлари мавжуд бўлган ўсимликлар яроқсиз ҳисобланади.

Бугунги кунда вируслардан холи бўлган уруғлик материаллар олиш учун энг кенг тарқалган усулларга, клонларни визуал танлаш ва Х, S ва М вирусларга диагностика қилиш самарали қўлланиб келинмоқда. Питомникларда ўтказилган тажрибалар шуни кўрсатдики, биринчи йилдан бошлаб тўртинчи йилгача экилган клонлар соғлом туганак уруғлик олиш имконини беради. Бугунги кунда олимлар томонидан вируслар ва бошқа касалликлардан холи бўлган соғлом уруғлик олиш учун хемотерапия ва термотерапия усуллари билан биргаликда апикал меристема усули қўлланилиб келинмоқда (Макарова, 2017).

Картошкани контакт усулида вируслар билан касалланишини олдини олиш учун, ўсимликларнинг бир – бирига тегиши олдини олиш ҳамда иш қуроллари ҳамда иш қуроллари тегиб тарқалишининг олдини олиш зарур. Бу ўсимликларни вирус билан механик усулда касалланишини камайтиради. Гербицидларни қўллаш орқали механик ишлов беришнинг камайиши

натижасида картошка ўсимлигининг Х, S, M, Y-вируслар билан камайишини одатий агротехнологияга нисбатан 2-2,5 баравар камайишига олиб келади. Агар туганакларни экиш олдида кесиш зарур бўлса, ҳар бир кесишдан сўнг ишлатилган пичоқ лизол ёки тринатрийфосфат эритмаси билан дезинфекция қилишни талаб этади, бу картошка Х ва S вирусларининг тарқалишини олдини олишга сабаб бўлади.

ХОТИМА

Мазкур мавзуга оид тадқиқотларни олиб бориш натижасида картошка вирусларини диагностика қилишда ишлатиладиган бир қатор иммунологик усуллар, жумладан ИФА нинг «тўғри», «нотўғри» ва «сэндвич» каби вариантлари бир-бирига солиштирилди. Натижада, улардан энг сезгири ИФА нинг «сэндвич» варианты эканлиги аниқланди. Бу вариант ёрдамида картошка (*S. tuberosum* L.) навларида вирус турлари ва миқдори ҳамда бу вирусларнинг Самарқанд ва Тошкент вилоятларида тарқалиш даражаси 2007-2009 йиллар давомида аниқланди. Натижада мамлакатимизда Х, S, Y, М, А ва L-вирусларининг тарқалиш даражаси ва уларнинг мамлакатимиз иқлим шароитидаги сақловчи табиий-резерватор ўсимликлари аниқланди.

Уларнинг ичидан қишлоқ хўжалигига катта зарар келтирувчи КХВ нинг Ўзбекистонда тарқалган изоляти КХВ-Ўз илк бор ажратилиб, баъзи физик-кимёвий ва биологик хусусиятлари ўрганилди. Бунинг учун дастлаб дифференциатор ўсимликлардан фойдаланиб вирус ажратиб олинди ва аралаш вируслардан биологик тозалаш усули ишлаб чиқилди. Бунда дастлаб КХВ билан касалланган картошканинг Диёра навидан инокулум олиниб, бангидевона (*D. stramonium* L.) ўсимлигига ўтказилиб ажратиб олинди. Сўнгра бу ўсимликдан инокулум олиниб *G. globosa* ўсимлигига юктирилди ва бу ўсимликда қизил ҳалқали некроз сифатида пайдо бўлган некрозлар олиниб уч марта қайта шу ўсимликка юктирилиб мононекроздан ўтказилиб вирус биологик тозаланди. Ундан сўнг вирус яна изоляцияланган дўрмон (*D. stramonium* L.) ўсимлигига юктирилиб кўпайтириб олинди ва кейинги тозалаш учун сақлаб қўйилди.

КХВ нинг тоза препаратини олиш учун тозалашнинг оптимал варианты ишлаб чиқилди. Бунинг учун биологик усулда аралаш вируслардан тозаланган *D. stramonium* L. ўсимлигида кўпайтириб йиғиб олинган вирусли материал бир суткага (-4°C) музлатилгандан сўнг 0,02М ли фосфат буфери қўшилиб (1:1) гомогенизаторда 15-20 дақиқа давомида майдалаб олинди. Майдаланган массани тўрт қават докадан ўтказилди, сўнг хужайра

компонентларидан тозалаш мақсадида 20 дақиқа 5000 айл./дақ.да центрифуга қилиниб ЧУС олинди. Унга хлороформ солиб (8:1) 20 дақиқа чайқатилиб, яна аввалгидек муддат ва тезликда центрифуга қилиб ЧУС олинди. ЧУС га аммоний сульфат (25%) тузи солиниб, бир соат давомида совутгичда (+4°C) да сақлангандан сўнг яна 20 дақиқа 5000 айл./дақ.да центрифуга қилиниб, чўкма олинди. Чўкмага уни кўмгунча 0,02М ли фосфат буфери (рН 7,5) солиб эритилгандан сўнг 10 дақиқа 6000 айл./дақ.да центрифуга қилиниб, ЧУС олинди. Бу гелъфилтрация қилиш учун намуна, яъни қисман тозаланган вирус препарати бўлиб, уни хроматографик колонкага 2 мл солиб 0,05М ли калий хлор солинган элюент билан гелъфилтрация амалга оширилди, элюция тезлиги эса соатига 46 мл ни ташкил этди. Элюцияланган фракциялар 3 мл дан йиғиб олинди. Спектрофотометрия, индикатор ўсимликлар ва ИФА ёрдамида КХВ ни 9 ва 10 фракцияда чиқиши аниқлангандан сўнг шу фракциялар йиғиб олинди, 4% ли ПЭГ ва NaCl билан чўктирилди ва препаратнинг туздан холи бўлиши учун 2 соат дистилланган сувда диализ қилинди. Тоза вирус препарати спектрофотометрда УБ-нурини ютиш спектри аниқланди, препаратнинг 260/280 нисбати 1,2 ни, нур ютишининг максимал даражаси 260 нм ни, минимали эса 245 нм ни ташкил этди. Тозаланган вирус препарати электрон микроскопда негатив контрастлаш усули ёрдамида ўрганилганда, вирионнинг ипсимон кўринишда ҳамда ўлчами 515×13 нм эканлиги аниқланди. Тозаланган вирус препарати қуёнга юборилиб вирусга қарши специфик антизардоб тайёрланди ва бу антизардоб вирусни диагностика қилишда қўлланилди.

КХВ нинг биологик хусусиятлари, яъни вируснинг резерватор ўсимликлари, табиий циркуляцияси, тарқалиш даражаси, индикатор ўсимликлардаги келтириб чиқарадиган касаллик аломатлари аниқланди. Вируснинг ялпиз (*M. asiatica* Boriss.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), бодринг (*Cucumis sativus* L.), жингалак откулоқ (*Rumex crispus* L.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) каби бир қатор янги табиий резерваторлари аниқланди.

Академик Е.Н.Павловскийнинг «Трансмиссив касалликларнинг табиий ўчоқлари» ҳақидаги назариясига кўра вируснинг тарқалиш механизми касалликни «Маданий ўсимликлар ичида турғун айланиш циркуляциясига эга бўлган табиий ўчоқли касалликлар» типига мансублигини кўрсатди. Вирус дўрмон (*D. stramonium* L.) ўсимлиги баргида қорамтир системали мозаика, мингдевона (*Datura metel* L.) ўсимлигида эса системали яшил мозаика каби аломатларни келтириб чиқарса, *Chenopodium quinoa* Will. ўсимлигида 13-14 кунда, *Ch. amaranticolor* Coste et Reyn. да 10-12 кунда баргда йирик (3-4 мм) сариқ доғларни, оқ шўрада (*Ch. album* L.) эса улардан фарқли ўлароқ йирикроқ (4-5 мм) сариқ доғларни, думбил шўра (*Ch. murale* L.) ўсимлигида эса уларга нисбатан кичикроқ (1-2 мм) сариқ некрозларни келтириб чиқаради.

Шу билан бир қаторда картошка Х-вирусини ажратиш, тозалаш, антизардоб олиш ва иммунодиагностика қилишнинг лаборатория регламенти ишлаб чиқилди.

ХУЛОСАЛАР

1. Бир қатор иммунобиотехнологик усулларнинг сезгирлиги солиштирилди ва улардан энг сезгири ИФА усулининг «сэндвич» варианты эканлиги аниқланди, бу вариант КХВ ни 10^{-9} гача аниқлай олиши маълум бўлди.
2. ИФА усули ёрдамида Х, S, Y, M, A ва барг буралиши (L) вирусларининг тарқалиш даражаси аниқланди ва бу вируслардан Самарқанд вилоятида КУВ энг юқори даражада (93%), Тошкент вилоятида эса КSB юқори (51%) даражада тарқалганлиги ҳамда уларнинг ялпиз (*M. asiatica* Boriss.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), булғор қалампири (*Capsicum annuum* L.), итузум (*S. nigrum* L.) каби бир қатор табиий-резерватор ўсимликлари аниқланди.
3. КХВ ни тоза препаратини олишнинг модификацияланган оптимал варианты ишлаб чиқилди ва бу вариант ёрдамида 1 кг вирус билан касалланган бангидевона (*D. stramonium* L.) ўсимлигидан йиғилган вирусли намунадан 135 мг тоза вирус препарати ажратиб олинди.
4. Тоза КХВ препаратига специфик антизардоб тайёрланди. Унинг титри ИИД усулида текширилганда 1:16 ни ташкил этди ва олинган АЗ ИИД ҳамда ИФА усулларида ишлатилиб вируснинг бодринг (*Cucumis sativus* L.), жингалак отқулоқ (*Rumex crispus* L.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) каби бир қатор янги табиий резерваторларини ва табиатда айланиш доираси ҳамда «табиий ўчоқ» типини аниқлашда асос бўлди.
5. КХВ га чидамли нав ва клонлар аниқланди ва селекционерларга тавсия қилинди.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

1. Абдукаримов Д., Эргашев И.Т. Особенности развития полевых популяций тлей- переносчиков вирусов картофеля в условиях Узбекистана // Узбекский биологический журнал. –Ташкент, 1997. -№6, -С. 70-72.
2. Амбросов А. Л. Вирусные болезни картофеля и методы выращивания здоровых клубней. –Минск: Урожай, 1964. -199 с.
3. Атабеков И.Г. Иммунодиагностика вирусов растений резервные миллиарды в сельском хозяйстве // Биотехнология. -Москва, 1984. – С. –238.
4. Ваҳобов А.Ҳ. Умумий вирусологиядан амалий машғулотлар. I-жилд, –Тошкент: Университет, 2004. – 150 б.
5. Ваҳобов А.Ҳ. Ўсимлик вирусларини аниқлашда иммунология усулларини қўллаш. –Тошкент: ТошДД, 1991. – 36 б.
6. Вахабов А.Х. Характеристика наиболее распространенных фитовирусов в экологических условиях Узбекистана: Дис....доктор. биол. наук. – Киев: Институт Микробиологии АН УР, 1989. - 254 с.
7. Власов Ю.И., Ларина Э.И. Сельскохозяйственная вирусология. –М.: Колос, 1982. – 237 с.
8. Волков Ю.Г., Толкач В.Ф., Моисеенко Л.И., Какарека Н.Н. Вирус мозаики клевера горного – новый патоген из группы Potyvirus // Микробиологический журнал. –Владивосток, 1994. – №6. – С. 30–35.
9. Вейсман И.Л., Худ Л.Е., Вуд У.Б. Введение в иммунологию. – Москва: Высшая школа, 1983. –158 с.
10. Гнутова Р. В., Сибирякова И.И., Варицев Ю.Н., Корж В.Г. Антигенная характеристика Y- вируса картофеля (штаммовый состав) // Биологические науки. –Владивосток, 1992. - №5. - С. 42-49.
11. Гнутова Р.В. Таксономический статус фитопатогенных вирусов и их штаммов, идентифицированных на Российской азиатской территории // Дальний Восток. Ресурсный потенциал в начале III тысячелетия. - Владивосток. 2003. Часть 3. - С. 155-159.

12. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. – Москва: Мир, 1978. – 429 с.

13. Гнутова Р.В., Какарека Н.Н., Сибирякова И.И., Толкач В.Ф., Рублева Н.В., Козловская З.Н., Корж В.Г. Подходы к выявлению общих и индивидуальных детерминант потивирусов, идентифицированных на Дальнем Востоке. // Биол. науки. –Владивосток, 1990. - №10. - С. 20-26.

14. Гнутова Р.В., Какарека Н.Н., Сибирякова И.И., Харитоненков И.Г. Изучение антигенных свойств потивирусов, идентифицированных на Дальнем Востоке // Доклады ВАСХНИЛ: -Владивосток, 1992. - №7. -С. 16-20.

15. Гнутова Р.В., Какарека Н.Н., Иммунодиагностика вирусов поражающих сельскохозяйственные культуры. // Становление и развитие фитовирусологии на Дальнем Востоке. – Владивосток, 2002. - С. 193-202.

16. Гнутова Р.В., Сибирякова И.И., Корж В.Г. Штаммовый состав Y-вируса картофеля (иммунологическая характеристика) // Сборник научных трудов ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1990. -С. 50-58.

17. Гнутова Р.В., Сибирякова И.И., Радавский Ю.Л., Ярвекюльг Л.Я., Зайцева Л.С. Антигенная характеристика капсидных белков штаммов Y-вируса картофеля // Биол. науки. -Владивосток, 1991. - №11. - С. 35-36.

18. Гнутова Р.В., Толкач В.Ф. Таксономия семейства потивирусов. Критерии классификации вирусов // Сельскохозяйственная биология. – Владивосток, 2002. - №5. - С. 85-91.

19. Гнутова Р.В., Толкач В.Ф. Вирусы и их штаммы, поражающие овощные культуры (дальневосточные изоляты) // Агроэкологічний журнал: Спец. вып. –Владивосток, 2002. - С. 6-14.

20. Гнутова Р.В., Толкач В.Ф. Фитопатогенные вирусы и их штаммы, идентифицированные на азиатской территории России // Микробиологический журнал. –Москва. 2004.- Т. 66. - №4. - С. 48-55.

21. Гнутова Р.В., Толкач В.Ф., Чернявская Н.М. Штаммовое разнообразие вирусов, поражающих овощные культуры семейств

Cucurbitaceae и Solanaceae // Бюллетень Главного Ботанического Сада. - Вып. 185. –Владивосток, 2003. -С. 189-193.

22. Дьяконов К.П. Экологическая характеристика полевой популяции тлей (Homoptera, Aphididae), вредящих сое. // Аграрная наука-сельскохозяйственному производству Дальнего Востока: К 75 летию образования Россельхоз академии. - Владивосток. 2005. - С. 403-407.

23. Дьяконов К.П. Итоги изучения насекомых-переносчиков вирусов растений Дальнего Востока России (фундаментальные и прикладные аспекты исследований). // Становление и развитие фитовирусологии на Дальнем Востоке России. - Владивосток. 2002. - С. 155-174.

24. Дьяконов К.П. Трофические связи тлей (Homoptera, Aphidinea) как пример оптимального использования насекомыми кормовых ресурсов. // Чтения памяти А.И. Куренцова. – Владивосток, 2003. Выпуск XIII. - С. 53-60.

25. Дьяконов К.П. Роль массовых насекомых-вредителей в инвазии ряда фитопатогенных вирусов. // Чтения памяти А.И. Куренцова.. – Владивосток, 2000. Выпуск X. - С. 5-16.

26. Дьяконов К.П., Романова С.А., Леднева В.А. Новый интерес к большой картофельной тле // Защита и карантин растений. –Владивасток, 1994. - №5. -С. 40-41.

27. Егизбаева Т.К., Лесова Ш.Т., Жумагелданов Б.К. Получение устойчивых к стрессовым факторам внешней среды линий картофеля // Биотехнология в Казахстане: проблемы и перспективы инновационного развития: Дак. докл. – Алма-ата, 2008. – С. 84-87.

28. Жураева У.М. Выделение, очистка вирусов хлопчатника и их иммунодиагностика. Дис....канд. био. наук. –Ташкент: АНРУз., 1996. -129 с.

29. Золоторева Е.В., Ошлакова З.В., Гнутова Р.В. Возбудители и болезни овощных культур Дальнего Востока: - Хабаровск. 2006. -С. 56-58.

30. Зыкин А.Г. Вирусные болезни картофеля. –Л.: Колос, 1976. -151 с.

31. Испуллаев А.И. Сравнительный анализ тест систем РИД и ИФА в диагностике лейкоза крупного рогатого скота // Биотехнология в Казахстане:

проблемы и перспективы инновационного развития: Док. докл. – Алма-ата, 2008. – С. 331-333.

32. Какарека Н.Н., Костин В.Д. Волков Ю.Г., Романова С.А. Фитовирусы в естественных и искусственных растительных сообществах Дальнего Востока России // Международный форум по проблемам науки, техники и образования: Материалы.... - Москва. 2001. Том 3. - С. 45-46.

33. Мухаммедов И., Эшбоев Э., Зокиров Н., Зокиров М. Микробирология, иммунология, вирусология. –Тошкент: Миллий энциклопедия, 2002. - 519 б.

34. Мэтьюз Р. Вирусы растений. –М.: Мир, 1973. - 101 с.

35. Мирзаахмедов В. Влияние условия выращивания картофеля на динамику распространения S и X- вирусов в условиях Ташкентской области: Дис.... канд. биол. наук. – Ташкент: АНРУз. 1964. - 150 с.

36. Морозов С.Ю. Изучение структурных особенностей генома X-вируса картофеля. Автореф. дис. канд. биол. наук. – М.: МГУ, 1983. - 16 с.

37. Одинец А.Г. Разработка и применение иммуноферментного анализа для диагностики вирусных болезней цветочных культур. Дис.... канд. биол. наук. – М.: 1986. - 125 с.

38. Писецкая Н.Ф., Гафицкая И. В. Биотехнологические методы в семеноводстве картофеля на безвирусной основе. // Аграрная наука-сельскохозяйственному производству Дальнего Востока: К 75 летию образования Россельхоз академии. – Владивосток, 2005. - С. 46-48.

39. Романова С.А. Итоги изучения вирусных, виroidных и микоплазменных болезней картофеля на Дальнем Востоке России // Становление и развитие фитовирусологии на Дальнем Востоке России.– Владивосток, 2002. - С. 175-192.

40. Романова С.А., Волков Ю.Г., Леднева В.А. Результаты изучения вирусных болезней картофеля на Дальнем Востоке // Аграрная наука-сельскохозяйственному производству Дальнего Востока: К 75 летию образования Россельхоз академии. – Владивосток, 2005. - С. 387-390.

41. Рублева Н.В., Какарека Н.Н., Гнутова Р.В. Иммуная электронная микроскопия вирусов группы Potyvirus. // Фитовирусы Дальнего Востока. – Владивосток, 1993. - С. 150-156.

42. Сибирякова И.И., Гнутова Р. В. Иммунодиагностика штаммов Y-вируса картофеля // Микробиологические и биотехнологические основы интенсификации растениеводства и кормопроизводства: Всесоюзн. Конф. 12-14 ноября.1990. - Алма-Ата, 1990. -С. 95.

43. Сибирякова И., Коротаева С.Г., Романова С.А., Гнутова Р.В.. Электрофоретическое выявление вириона веретеновидности клубней картофеля // Сельскохозяйственная биология. – Москва, 1999. - №5. -С. 88.

44. Сиверс Н.А. Очистка X-вируса картофеля и изучение некоторых свойств его штаммов, выделенных на Украине: Дис.... канд. биол. наук. – Киев: Институт микробиологии и вирусологии им. акад. Д.К. Заболотного АН УР, 1970. -21 с.

45. Тальянский М.Э. Биотехнология и безвирусное растениеводство. // Биология наших дней. –М.: Знание, 1987. - 94. с.

46. Умарова Г.М. Ғалла ўсимликларини ажратиш, тозалаш ва уларни иммунодипгностикаси. Биол. фан. ном. дис... автореф. – Тошкент: ЎзФА Микробиология институти, 2009. -22 б.

47. Фримель Г., Тарасова А.П. Иммунологические методы. –М., Медицина, 1987. - 472 с.

48. Ҳамидов А., Набиев М., Одилов Т. Ўзбекитон ўсимликлар аниқлагичи. – Тошкент: Ўқитувчи, 1987. - 349 б.

49. Эргашев И.Т. Резерваторы вирусов // Сельского хозяйства Узбекистана. – Ташкент, 1993. -№ 3. - С. -22.

50. Эргашев И.Т. Роль биологических факторов в безвирусном семеноводстве картофеля // Узбекский биологический журнал. – Ташкент, 1998. № 6. - С. 14-16.

51. Эргашев И.Т. Безвирусные семеноводства картофеля. –Тошкент: Фан, 2007. – 139 с.

52. Эргашев И.Т. Зарафшон воҳаси шароитида картошканинг вируссиз уруғчилиги // Ўзбекистон қишлоқ хўжалиги журнали. – Тошкент, 1997. № 2 -Б. - 33 .

53. Эргашев И.Т. Трасмиссия вируса скручивание листьев картофеля посредством *Mezedes Persicae* Sulz // Проблемы биологии и медицины. – Ташкент, 1997. № 3, - С. 22-23.

54. Эргашев И.Т. Абдукаримов Б.Т., Остонақулов Т.Э. Картошканинг вируссиз уруғчилигига оид тавсиялар. –Тошкент: Фан, 2005, - 19 б.

55. Agindotan B.O., Shiel P.J., Berger P.H., Simultaneous detection of potato viruses, PLRV, PVA, PVX and PVY from dormant potato tubers by TaqMan^(R) real-time RT-PCR. J. Virol Methods. 142, 2007. – P. 1-9.

56. Adams M.J., Accotto G.P., Agranovsky A.A., Bar-Joseph M., Boscia D., Brunt A.A., Candresse T., Coutts R.H.A., Dolja V.V. & other authors. Genus Potexvirus. In Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2005. - P. 1091–1095.

57. Angell, S. M. & Baulcombe, D.C. Technical advance: potato virus X amplicon-mediated silencing of nuclear genes. Plant J. 20, 1999. –P. 357–362.

58. Atabekov J.G., Rodionova N.P., Karpova O.V., Kozlovsky S.V., Novikov V.K. & Arkhipenko M.V. Translational activation of encapsidated potato virus X RNA by coat protein phosphorylation. Virology 286, 2001. –P . 466–474.

59. Alvares J.M. and Srinivasan R. Mixed – viral infections (PVY-PLRV) affect the biology and preference of aphid vectors and consequently the epidemiology of potato viruses // 10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. - 22.

60. Andreeva I. V., Burtseva Yu. V., Malinovsky V. I., Zvyagintseva T. N. The effect of soybean mosaic virus on the activity of carbohydrases in leaves of sensitive and resistant soybean plants // Acta phytopathologia et entomologia Hungaria. 2002. - Vol. 37. N 4. – P. 335-345.

61. Balme-Sinibaldi V., Tribodet M., Croizat F., Lefeuvre P., Improvement of Potato virus Y (PVY) detection and quantitation using PVY^N - and PVY^O - specific real-time RT-PCR assays. *J. Virol Methods* 134, 2006. – P. 261-266.
62. Brunt A.A. Potyviruses. In: Loebenstein G., Berger, P.H., Brunt, A.A. and Lawson, R.H. (eds), *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001. – P. 77-86.
63. Blanco-Urgoiti B., Tribodet M., Leclere S., Ponz F., Perez de San Roman C., Legorburu F.J. and Kerlan C. Characterization of potato potyvirus isolates from seed potato batches. Situation of the NTN, Wilga and Z isolates. *Eur. J. Plant Path.*, 104: 1998. – P. 811-819.
64. Boonham N., Walsh K., Hims M., Preston S., North J. and Barker I. Biological and sequence comparisons of Potato virus Y isolates associated with potato tuber necrotic ringspot disease. *Plant Path.*, 51: 2002. – P. 117-126.
65. Boonham N., Walsh K., Preston S., North J., Smith P. and Barker I. The detection of tuber necrotic isolates of Potato Virus Y, and the accurate discrimination of PVY^O, PVY^N and PVY^C strains using RT-PCR. *J. Virol. Meth.*, 102: 2002. – P. 103–112.
66. Brunt A.A., Crabtree K., Dallwitz M.J., Gibbs A.J., Watson L. and Zurcher, E.J. (eds.) (1996 onwards). 'Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996.' URL.
67. Baratova L.A., Fedorova N.V., Dobrov E.N., Lukashina E.V., Kharlanov A.N., Nasonov V.V., Serebryakova M.V., Kozlovsky S.V., Zayakina O.V. & Rodionova N.P. N-terminal segment of potato virus X coat protein subunits is glycosylated and mediates formation of a bound water shell on the virion surface. *Eur. J. Biochem.* 271, 2004. – P. 3136–3145.
68. Basnayake V.R., Sit T.L. & Lommel S.A. The genomic RNA packaging scheme of red clover necrotic mosaic virus. *Virology* 345, 2006. – P. 539.
69. Batten, J. S., Yoshinari, S. Potato virus X: a model system for virus replication, movement and gene expression. *Plant Path.* 4, 2003. – P. 125–131.

70. Baulcombe D.C., Chapman S. & Santa Cruz S. Jellyfish green fluorescent protein as a reporter for virus infections. *Eur. Plant Path.* 7, 1995. – P. 1045–1053.
71. Bayne E.H., Rakitina D.V., Morozov S.Y. & Baulcombe D.C. Cell-to-cell movement of potato potexvirus X is dependent on suppression of RNA silencing. *Eur. J. Plant Path.* 44, 2005. – P. 471–482.
72. Bendahmane A., Kanyuka K. & Baulcombe D. C. The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell* 11, 1999. – P. 781–792.
73. Blevins T., Rajeswaran R., Shivaprasad P.V., Beknazariants D., Si-Ammour A., Park H.S., Vazquez F., Robertson D., Meins F.Jr. & other authors Four plant Dicars mediate viral small RNA biogenesis and DNA virus induced silencing. *Nucleic Acids Res.* 34, 2006. – P. 6233–6246.
74. Barker I., Gamarra A., Muller G. Risk of spread and vector relations of Potato yellow vein virus in the Andes //10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. - 24.
75. Bokx J.A., Van der Want J.P.H. Viruses of potatoes and seed potato production. - Pudon Wageningen. 1987. - 259 p.
76. Chapman S., Kavanagh T. & Baulcombe D. Potato virus X as a vector for gene expression in plants. *Eur. J. Plant Path.* 2, 1992. – P. 549–557.
77. Crosslin J., Hamm P., Shiel P., Hane D., Brown C. and Berger P. Serological and Molecular Detection of Tobacco Veinal Necrosis Isolates of Potato Virus Y (PVY^N) from Potatoes Grown in the Western United States. *Amer. J. Path. Res.*, 82: 2005. – P. 263-269.
78. Citovsky V. Transport of nucleic acids through membrane channels: snaking through small holes. *Annual Rev. Microbiol.* 47, 1993. – P. 167–197.
79. Citovsky V., Knorr D. & Zambryski P. Gene I, a potential cell-to-cell movement locus of cauliflower mosaic virus, encodes an RNA-binding protein. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 88, 1991. – P. 2476–2480.

80. Cowan G.H., Lioliopoulou F., Ziegler A. & Torrance L. Subcellular localization, protein interactions, and RNA binding of potato mop-top virus triple gene block proteins. *Virology* 298, 2002. – P. 106–115.
81. Doronin S.V. & Hemenway C. Synthesis of potato virus X RNAs by membrane-containing extracts. *Virology* 70, 1996. – P. 4795–4799.
82. Dunoyer P., Himber C. DICER-LIKE 4 is required for RNA interference and produces the 21-nucleotide small interfering RNA component of the plant cell-to-cell silencing signal. *Nat. Genet.* 37, 2005. – P. 56-60.
83. Fridborg I., Grainger J., Page A., Coleman M., Findlay K. & Angell S. TIP, a novel host factor linking callose degradation with the cell-to-cell movement of potato virus X. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16, 2003. – P. 40.
84. Fomitcheva V.W., Schubert J., Lindner K. Development of a diagnostic multiplex IC-RT-PCR system for the differentiations of Potato virus Y strains // 10th Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 Oct. India. 2007. – P. - 45.
85. Gray, S.M. Plant virus proteins involved in natural vector transmission. *Trends Microbiol.* 4: 1996. – P. 259-264.
86. Gnutova R.V., Tolkach V.F., Gnutova I.V., Spaar D. Viren als krankheitserreger bei gemusekulturen in sudden der Fernöstlichen region Russlands // *Phytopathologie und Pflanzenschutz*. 2001. - Vol. 35. – P. 7-21.
87. Gnutova R.V., Kakareka N.N. Potato virus A (Potyvirus). // *Plant viruses in Asia..* – Yogyakarta, 2002. - P. 1011-1014.
88. Ju, H. J., Brown, J. E., Ye, C. M. & Verchot-Lubicz, J. Mutations in the central domain of potato virus X TGBp2 eliminate granular vesicles and virus cell-to-cell trafficking. *Virol.* 81, 2007. – P. 1899–1911.
89. Gnutova R.V., Kakareka N.N., Pleshakova T.I., Sibiryakova I.I. Far Eastern strains bean common mosaic virus and methods of their immunodiagnostic // *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz*. 2000. - Vol. 33. – P. 207-217.
90. Gnutova R.V., Korzh V.G. Potato virus M(Carlavirus) // *Plant viruses in Asia..* - Yogyakarta. 1998. – P. 1014-1016.

91. Gnutova R.V., Sibiryakova I.I., Kakareka N.N., Rubleva N.V., Kozlovskaya Z.N. Immunological characteristics of potex-, poty- and cartaviruses // VII International congress of virology: Abstr. - Edmonton. 1987. – P. 1055.
92. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Taxonomy of the family Potyviridae // Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz. 1999. - Vol. 31. – P. 543-548.
93. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Pathogenic of viruses diseases of vegetable cultures on South Asian region of Russia // Bioresources and viruses: VIII Inter. Conf. (Kiev, 2001). - Киев. 2001. – P. 213.
94. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Taxonomy of the family Potyviridae // Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz. 1998. - Vol. 31. – P. 543-548.
95. Gnutova R.V., Tolkach V.F., Bogunov Yu.V. Criteria for identification of cauliflower mosaic virus's of the Far Eastern strains // Russian journal of cell biology. 2002. - T. 38. № 2. – P. 258-260.
96. Hamilton A.J. & Baulcombe D.C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. Science 286, 1999. – P. 950–952.
97. Hamilton A., Voinnet O., Chappell L. & Baulcombe D. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing. EMBO J. 21, 2002. – P. 4671–4679.
98. Haupt S., Cowan G.H., Ziegler A., Roberts A.G., Oparka K.J. & Torrance L. Two plant-viral movement proteins traffic in the endocytic recycling pathway. Plant Cell. 17, 2005. – P. 164–181.
99. Halbert S.E., Corsini D.L. Potato virus Y transmission efficiency for some common aphids in Idaho. Amer. J. Poth. Res., 80: 2003. – P. 87-91.
100. Howard A.R., Heppler M.L., Krishnamurthy K., Payton M.E. & Verchot-Lubicz J. Potato virus X TGBp1 induces plasmodesmata gating and moves between cells in several host species whereas CP moves only in *N. benthamiana* leaves. Virology 328, 2004. – P. 185–197.
101. Kamra Mahmud, Usman M. Correlations of environmental factors in relation to PVX and PVY disease severity and aphid population // 10th Inter. Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. 155.

102. Kakareka N.N., Kozlovskaya Z.N., Romanova S.A., Volkov Y.G., Pleshakova N.I. Strains as the basis for phytopathogenic viruses diversity. // Biodiversity and Dynamics of Ecosystems in North Eurasia: Mat. Inter. Symp. August 21-26. - Novosibirsk. 2000. Vol. 4. Issue 1. – P. 188-191.
103. Krečič-Stres H., Vučak C., Ravnikar M., Kovač M. Systemic Potato virus Y^{NTN} infection and levels of salicylic and gentisic acids in different potato genotypes. Plant Pathol., 54: 2005. – P. 441-447
104. Kalinina N.O., Rakitina D.V., Solovyev A.G., Schiemann J. & Morozov S.Y. RNA helicase activity of the plant virus movement proteins encoded by the first gene of the triple gene block. Virology 296, 2002. – P. 321–329.
105. Karpova O.V., Zayakina O.V., Arkhipenko M.V., Sheval E.V., Kiselyova O.I., Poljakov V.Yu., Yaminsky I.V., Rodionova N.P. & Atabekov J.G. Potato virus X RNA-mediated assembly of single-tailed ternary ‘coat protein–RNA–movement protein’ complexes. J. Gen. Virol. 87, 2006. – P. 2731–2740.
106. Kendall A., Bian W., Junn J., McCullough I., Gore D. & Stubbs G. Radial density distribution and symmetry of a Potexvirus, narcissus mosaic virus. Virology 357, 2007. – P. 158–164.
107. Kim K. H. & Hemenway C. L. Long-distance RNA–RNA interactions and conserved sequence elements affect potato virus X plus-strand RNA accumulation. RNA 5. J. Mol. Biol. 332, 1999. – P. 636–645.
108. Kim K.H., Kwon S.J. & Hemenway C. Cellular protein binds to sequences near the 5' terminus of potato virus X RNA that are important for virus replication. Virology 301, 2002. – P. 305–312.
109. Kiselyova O.I., Yaminsky I.V., Karpova O.V., Rodionova N.P., Kozlovsky S.V., Arkhipenko M.V. & Atabekov J.G. AFM study of potato virus X disassembly induced by movement protein. J Mol. Biol. 332, 2003. – P. 321–325.
110. Krishnamurthy K., Heppler M., Mitra R., Blancaflor E., Payton M., Nelson R.S. & Verchot-Lubicz J. The potato virus X TGBp3 protein associates with the ER network for virus cell-to-cell movement. Virol. 309, 2003. – P. -135.

111. Kang S.S., Ashok Kumar and Thiara S.K. Prevalence of potato viruses in Panjab state // 10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. 79.
112. Korzh V.G., Romanova S.A., Gnutova R.V. Potato virus S (Carlavirus) // Plant viruses in Asia.. - Yogyakarta. 1998. - P. 1016-1019.
113. Lorenzen J.H., Meacham T., Berger P.H., Shiel P.J., Crosslin J.M., Hamm P.B. and Kopp H. Whole genome characterization of Potato virus Y isolates collected in the western USA and their comparison to isolates from Europe and Canada. Arch. Virol., 151: 2006. – P. 1055-1074.
114. Lough T.J., Shash K., Xoconostle-Cázares B., Hofstra K.R., Beck D. L., Balmori E., Forster R.L.S. & Lucas W.J. Molecular dissection of the mechanism by which potexvirus triple gene block proteins mediate cell-to-cell transport of infectious RNA. Mol. Plant Microbe. Interact 11, 1998. – P. 801–814.
115. Lucas W.J. Plant viral movement proteins: agents for cell-to-cell trafficking of viral genomes. Virology 344, 2006. – P. 169–184.
116. Macdonald J.G. and Singh R.P. Host range, symptomology and serology of isolates of Potato virus Y (PVY) that share properties with both the PVY^N and PVY^O strain groups. Amer. Path. J., 73: 1996. – P. 309- 314.
117. Nikitin N.A., Arkhipenko M.V., Novikov V.K., Radionova N.P., Atabekov J.G. The new highly pathogenic of Potato virus X // 10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. 78.
118. Owens R.A. A new mild strain of potato spindle tuber viroid isolates from wild *Solanum* spp in India. Plant Disease 76, 1992. – P. 527-529.
119. Pompe-Novak M. Ultrastructure of chloroplasts in leaves of potato plants infected by potato virus Y^{NTN}. Phytopathology 41: 2001. – P. 215-226
120. Radcliffe E.B. Aphid-transmitted potato viruses: The importance of understanding vector biology. Amer. J. Pat. Res. 79: 2002. – P. 353-386.
121. Robert Y., Woodford J.A.T. and Ducray-Bourdin D.G. Some epidemiological approaches to the control of aphid-borne virus diseases in seed potato crops in northern Europe. Vir. Res. 71: 2000. – P. 33-47.

122. Sanford D., Nafus M. and Karash A. landscape patterns of aphid vectored viruses of pea in the Polouse region of Idaho and Washington: implications for viruses forecasting // 10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. 18.

123. Sapotsky M.V., Romanova S.A., Polyakova A.M., Malinovsky V.I. The correlation between severity of disease symptoms and the accumulation of viral antigen and acidic pathogenesis-related proteins in the leaves of thorn- apple plants infected with different isolates of potato virus X // Journal of phytopathology. 2005. - Vol. 153. N 7-8. – P. 440-444.

124. Sibiryakova I.I., Rubleva N.V., Gnutova R.V. Hydrangea ringspot virus (Potexvirus) // Plant viruses in Asia.. - Yogyakarta. 1998. – P. 1002-1004.

125. Sibiryakova I.I., Rubleva N.V., Gnutova R.V. Potato aucuba mosaic virus(Potexvirus) // Plant viruses in Asia.. - Yogyakarta. 1998. – P. 1008-1011.

126. Sibiryakova I.I., Rubleva N.V., Gnutova R.V. White clover mosaic virus (Potexvirus) // Plant viruses in Asia.. - Yogyakarta. 1998. – P. 1041-1044.

127. Tolkach V.F., Kakareka N.N., Gnutova R.V. Bean yellow mosaic virus (Potyvirus). // Plant viruses in Asia.. - Yogyakarta. 1998. – P. 990-994.

128. Tremblay M.H., Majeau N., Gagne M.E., Lecours K., Morin H., Duvignaud J.B., Bolduc M., Chouinard N., Pare C. & other authors. Effect of mutations K97A and E128A on RNA binding and self assembly of papaya mosaic potexvirus coat protein. FEBS J. 273, 2006. – P. 14–25.

129. Tsai M.S., Hsu Y.H. & Lin N.S. Bamboo mosaic potexvirus satellite RNA (satBaMV RNA)-encoded P20 protein preferentially binds to satBaMV RNA. J. Virol 73, 1999. – P. 3032–3039.

130. Trifonova E.A., Sapotsky M.V., Komarova M.L., Scherban A.B., Shumny V.K., Polyakova A.M., Protection of transgenic tobacco plants expressing bovine pancreatic ribonuclease against tobacco mosaic virus // Plant Cell Reports. 2007. - Vol. 26. N 7. - P. 1121-1126.

131. Ulrich Melcher, Yang Song. The Plant virus Ecology Research Coordinations Network // 10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. - 26.

132. Ward C.W. and Shukla D.D. Taxonomy of potyviruses: current problems and possible solutions. Intervirology, 32: 1991. – P. 269-296.

133. Volkov Y.G., Kakareka N.N., Kozlovskaya Z.N., Romanova S.A. Phytoviruses as a part of plant in the communities diversity of Far East. // Biodiversity and Dynamics of Ecosystems in North Eurasia:Mat. Inter. Symp.August 21-26.. - Novosibirsk. 2000. Vol. 4. Issue 1. - P. 195-197.

134.Verchot-Lubicz, J. A new model for cell-to-cell movement of potexviruses. Mol. Plant Microbe Interact. 18, 2005. – P. 283–290.

135. Van der Vlugt R.A.A., Verbek M., Piron P.G.M. Strains of Potato virus Y in Dutch affect the seed potato culture // 10th International Plant virus Epidemiology symposium. 15-19 October. India. 2007. – P. 53.

136. Welnicki M. Highly sensitive digoxigenin labeled DNA probe for the detection of potato spindle tuber viroid. J. Virol. Methods 39. 1992. - P. 91-99.

137. Yogita V., Shukla A., Paul Khurana S.M. Detection of spindle tuber viroid (PSTVd) using fluoresce in labelled probe. Potato Journal. India. 3-4, June-Desember, 2006. -P. 122-125.

МУНДАРИЖА:

КИРИШ.....	3-5
I БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ТАРҚАЛИШИГА ТАЪСИР ЭТУВЧИ БИОЭКОЛОГИК ОМИЛЛАР.....	6-17
1.1-§ Картошка ўсимлиги вирусларининг умумий характеристикаси.....	6-14
1.2-§ Картошка вирусларининг табиий резерваторлари....	14-15
1.3-§ Потексвируслар авлодига қисқача тавсиф.....	16-17
II БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИНГ ТОЗА ПРЕПАРАТИНИ ОЛИШ ВА УНИНГ ИДЕНТИФИКАЦИЯСИ	18-29
2.1-§ Картошка Х-вирусининг тоза препарати олиш усуллари.....	18-22
2.2-§ Специфик зардоб ва унинг ўзига хос хусусиятлари..	22-25
2.3-§ Иммунофермент анализи ва унинг турлари.....	25-29
III БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИ АНИҚЛАШ УСУЛЛАРИ ВА ШАРОИТЛАРИ.....	30-38
3.1-§ Тадқиқот ўтказилган жой, зарур ашё ва шароитлар.....	30
3.2-§ Тадқиқот манбалари.....	30-31
3.3-§ Тадқиқот услублари.....	31-38
IV БОБ. КАРТОШКА ВИРУСЛАРИ ДИАГНОСТИКАСИДА ИММУНОЛОГИК УСУЛЛАРНИНГ ҚЎЛЛАНИЛИШИ ВА УНИНГ АФЗАЛЛИКЛАРИ.....	39-62
4.1-§ ИФА вариантлари ва бошқа иммунологик усуллар сезгирлигини солиштириш.....	39-42
4.2-§ Картошка вирусларини ИФА нинг «сэндвич» варианти ёрдамида миқдорий аниқлаш.....	42-46
4.3-§ Тошкент ва Самарқанд вилоятларида картошка вирусларининг тарқалишини иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш.....	46-55
4.4-§ Картошка вирусларининг резерватор ўсимликларини иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш.....	56-62

V БОБ.	КАРТОШКА ВИРУСИНИ АЖРАТИШ, ТОЗА ПРЕПАРАТИНИ ОЛИШ ВА СПЕЦИФИК ЗАРДОБ ТАЙЁРЛАШ.....	63-95
5.1-§	КХВ ни ажратиш ва биологик тозалаш ҳамда кўпайтириш учун қулай хўжайин ўсимликни аниқлаш.....	63-69
5.2-§	КХВ нинг тоза препаратини олишнинг оптимал йўллари ишлаб чиқиш.....	69-76
5.3-§	КХВ нинг биологик хусусиятларини ўрганиш.....	76-84
5.4-§	КХВ нинг физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш.	84-89
5.5-§	Вирусга специфик антизардоб тайёрлаш.....	89-92
5.6-§	Картошканинг Х-вирусига чидамли нав ва клонларни аниқлаш.....	93-95
VI БОБ.	ВИРУСЛИ КАСАЛЛИКЛАРГА ҚАРШИ КУРАШ ЧОРА ТАДБИРЛАРИ.....	96-105
6.1-§	Вирусларга қарши кураш чоралари бўйича умумий маълумотлар.....	96-89
6.2-§	Вирусли касалликлар терапияси.....	89-100
6.3-§	Апикал меристема усули	100-103
6.4-§	Картошка ўсимлигини вирус ва вирусли касалликлардан ҳимоя қилиш йўллари.....	103-105
	ХОТИМА.....	106-108
	ХУЛОСАЛАР ВА АМАЛИЙ ТАВСИЯЛАР.....	109
	Фойдаланилган адабиётлар рўйхати.	110-123

В.Б. ФАЙЗИЕВ

**КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИНГ ЗАМОНАВИЙ ДИАГНОСТИКАСИ
ВА ИЛМИЙ АСОСЛАНГАН КУРАШ ЧОРАЛАРИ**

Наш лиц. АИ № 276, 15.06.2015
Босишга рухсат этилди: 07.12.2021 йил
Бичими 60x84 1/16. «Times New Roman»
гарнитуроюда рақамли босма усулда чоп этилди.
Шартли босма табоғи 7,8. Адади 400 . Буюртма № 07-12
Тел: (99) 832 99 79; (97) 815 44 54
“LESSON PRESS” МЧЖ нашриёти,
100071, Тошкент, Комолон кўчаси, 13.
«IMPRESS MEDIA» МЧЖ босмахонасида чоп этилди.
Тошкент шаҳри, Қушбеги кўчаси, 6-уй.