

**V.B. FAYZIYEV**

**KARTOSHKA X VIRUSINI AJRATISH,  
TOZA PREPARATINI Olish, SPETSIFIK  
ZARDOB TAYYORLASH VA VIRUS  
DIAGNOSTIKASIDA QO‘LLASHNING  
ILMIY ASOSLARI**

**KBK: 42.151**

**UO‘K: 635.21:632.38 (575.1)**

**F71**

Fayziyev V.B. Kartoshka X virusini ajratish, toza preparatini olish, spetsifik zardob tayyorlash va virus diagnostikasida qo‘llashning ilmiy asoslari //Monografiya. -Toshkent: “LESSON PRESS” nashriyoti, 2023. 88 bet.

Ushbu monografiyada kartoshka X virusini ajratish, toza preparatini olish, spetsifik zardob tayyorlash va diagnostikada qo‘llash imkoniyatlarini aniqlashtirish ustida olib borilgan ilmiy-tadqiqot natijalari keltirilgan. Shu bilan bir qatorda KXVga tayyorlangan spetsifik zardob kartoshkaning turli nav va namunlarining virusga chidamlilik darajasini aniqlash, virusning tabiiy rezervator o‘simliklarini aniqlash kabi tadqiqotlarda samarali foydalanishning ilmiy asoslari haqidagi ma’lumotlar keltirilgan.

Ushbu monografiya fitovirusologiya, biologiya, qishloq xo‘jaligi sohasidagi bakalavr, magistr, ilmiy-tadqiqotchilar hamda o‘simliklarni himoya qilish va karantin sohasida faoliyat yuritayotgan mutaxassislar uchun mo‘ljallangan.

**Ma’sul muharrir: b.f.d., prof. A.H. Vahobov**

**Taqrizchilar: b.f.f.d. S. Abdusamatov  
b.f.n. A.A. Temirov**

**ISBN 978-9910-05-018-3**

Monografiya Chirchiq davlat pedagogika universitetining 2023 yil 15 noyabrdagi 17-sonli bayoni qaroriga muvofiq nashr etishga tavsiya etilgan.

© V.B. FAYZIYEV  
© “LESSON PRESS” nashriyoti, 2023

## Qisqartma soʻzlar:

**AZ** - antizardob

**AG** – antigen

**AT** - antitana

**BFU** - bentonit flokullasiyasi usuli

**VBA** - virobakterial agglyutinasiya

**D** – Dalton

**JPMV** - joʻxori pakanaligi mozaikasi virusi

**HTFY** - harorat taʼsirida faolligini yoʻqotish darajasi

**IID** - ikkiyoqlama immunodiffuziya

**IFT** - immunoferment tahlili

**IEF** – immunoelektroforez

**IEM** - immunoelektron mikroskopiya

**IEN** - izoelektrik nuqta

**KXV** - kartoshkaning X-virusi

**KYV** - kartoshkaning Y-virusi

**KSV** - kartoshkaning S-virusi

**KMV** - kartoshkaning M-virusi

**KAVM** - kartoshkaning aukuba mozaika virusi (PAMV)

**KMTV** - kartoshkaning «mop-top» virusi (PMTV)

**KRV** - kartoshkaning «rattl virusi» (TRV)

**KSPV** - kartoshkaning sariq pakanaligi virusi (PYDV)

**KTDBV** - kartoshka tuganagining dugsimon boʻlishi viroidi (PSTV)

**KAV** - kartoshkaning A-virusi

**KLV** - kartoshkaning L-virusi

**kDa** – kilodalton

**LU** - lateks usuli

**MPR** - mikropretsipitasiya reaksiyasi

**MDU** - Moskva davlat universiteti

**m.m.** - molekulyar massa

**ng** – nanogram

**nm** – nanometr

**n** – nazorat

**NSM** - nitrotsellyuloza membrana

**OSD** - oxirgi suyulish darajasi

**ORFs** - Open reading frames

**PEG** - polietilenglikol

**PQHDV** - pomidorning qoramtir halqali dogʻlanishi virusi (TBRV)

**RID** - radial immunodiffuziya

**RIA** - radioimmunologiya analizi

**RdRp** - RNA-dependent+RNA polymerase

**RT-PCR** - Reverse Transcription –PCR

**SIP** - International Centre of Potato

**CP** - Coat protein

**TGAR** - teskari gemoagglyutinasiya reaksiyasi

**TU** - tomchi usuli

**TGB** - Triple gene block

**FB** - fosfat buferi

**EDTA** – Etilendiamin tetraatsetat

**CHUS** - choʻkma usti suyuqligi

## KIRISH

Bugungi kunda dunyoda qishloq xo'jaligi o'simliklarini kasallantiradigan qator fitopatogen viruslar aniqlangan bo'lib, ular yetishtirilayotgan mahsulotlarning miqdori va sifatiga salbiy ta'sir etib, katta iqtisodiy zarar etkazmoqda va bu zarar dunyo bo'yicha yiliga 60 mlrd AQSH dollarini tashkil etadi. Shuningdek, kartoshka o'simligini ham 50 ga yaqin fitopatogen viruslar kasallantiradi va virus turiga bog'liq holda hosildorlikni 10-87% gacha kamayishiga olib kelmoqda<sup>1</sup>. Shuning uchun kartoshka o'simligini kasallantiruvchi bunday fitopatogen viruslar ustida tadqiqotlar olib borish va qarshi kurash choralarini ishlab chiqish muhim ahamiyat kasb etadi.

Jahonda qishloq xo'jaligi o'simliklaridan kartoshka o'simligida uchraydigan - L (PLRV), -Y (PVY), - X (PVX), - S (PVS), - M (PVM), - A (PVA) kabi viruslarni ajratish, ularning keltirib chiqaradigan zararini kamaytirish hamda qarshi kurash choralarini ishlab chiqish bo'yicha keng ko'lamli ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Jumladan, ularning molekulyar-genetik xususiyatlarini tadqiq etish, filogenetik tahlil qilish, tozalangan preparatini olish, virus diagnostikasi uchun zardob tayyorlash, zardobdan immunoglobulinlarni ajratish, tozalash usullarini takomillashtirish, o'simliklarning ba'zi fiziologik xususiyatlariga virusning ta'siri va infeksiyaga chidamlilik genlari ekspressiyasi mexanizmlarini aniqlash hamda virusga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishni takomillashtirishni taqozo etmoqda.

Respublikamizda qishloq xo'jaligi o'simliklarini turli kasalliklar va zararkunandalardan himoya qilish borasidagi samarali chora-tadbirlarni ishlab chiqish va amaliyotga joriy qilish, fitopatogen viruslarni aniqlash, xususiyatlarini tadqiq etish bo'yicha qator ilmiy-tadqiqotlar olib borilib, muayyan natijalarga erishilmoqda. O'zbekiston Respublikasini rivojlantirishning 2017-2021 yillarga mo'ljallangan Harakatlar strategiyasida «...qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishini izchil rivojlantirish, mamlakat oziq-ovqat xavfsizligini yanada

---

<sup>1</sup>[https://ru.qwe.wiki/wiki/Plant\\_virus](https://ru.qwe.wiki/wiki/Plant_virus); <https://propozitsiya.com/virusnye-bolezni-kartofelya-i-borba-s-nimi>

mustahkamlash, aholini sifatli oziq-ovqat mahsulotlari bilan ta'minlash, meva-sabzavot, kartoshka va uzum ishlab chiqarish hajmlarini oshirish, ichki bozorda ularga bo'lgan narxlarning keskin oshishini oldini olish, agrar sektorning eksport salohiyatini oshirish; kasallik va zararkunandalarga chidamli, mahalliy ekologik sharoitlarga moslashgan qishloq xo'jaligi ekinlarining yangi navlarini ishlab chiqarishga joriy etish»<sup>2</sup> bo'yicha muhim vazifalar belgilab berilgan. Shuning uchun muhim qishloq xo'jaligi ekinlari hosildorligiga jiddiy zarar etkazadigan fitopatogen viruslar ustida ilmiy-tadqiqotlar olib borish muhim ahamiyat kasb etadi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son «O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida»gi Farmoni, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2018 yil 29 oktyabrdagi PF-5394-son «Qishloq xo'jaligi sohasini isloh qilishning qo'shimcha tashkiliy chora-tadbirlari to'g'risida»gi Farmoni, O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2017 yil 30 avgustdagi PQ-3249-son «O'simliklar karantini davlat inspeksiyasi faoliyatini tashkil etish to'g'risida»gi qarori hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Kartoshka viruslarini ajratish, xususiyatlarini o'rganish va identifikatsiya qilish bo'yicha qator xorijlik olimlar: M.J. Huisman (1988), S.Y. Kagiwada (2002), T. Yokota (2003), H.Vostan (2004), F. Rashid (1989), K.Tamura (2007), G.Abbas (2012), N.Ahmad (2011), B.A. Cox (2010), J.M. Cuevas (2012), B.Mandal (2012) kabi olimlar tomonidan olib borilgan.

MDH davlatlari olimlari MDUda akademik I.G.Atabekov rahbarligida S.YU. Morozov (2001), O.N. Karpova (2006), R.V. Gnutova (2011) va boshqa qator olimlar tomonidan KXV tuzilishi, xususiyatlari, ekologiyasi, shtammlari, immunodiagnostikasi va molekulyar-genetik xususiyatlariga doir tadqiqotlar olib borilgan; V.I.

---

<sup>2</sup>Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

Malinovskiy (2010) viruslarning o‘simliklar fiziologiyasiga ta’siri va infeksiyadan himoyalash mexanizmini aniqlash; M.R. Sparapova (2013) tomonidan o‘simliklarning infeksiyaga chidamlilik mexanizmlarini ta’minlovchi oqsillari aniqlangan.

Shu kabi tadqiqotlar mamlakatimiz olimlaridan Vlasov Yu.I. tomonidan (1960) O‘zbekistonda o‘simlik viruslarini o‘rganish bo‘yicha tadqiqotlari olib borilgan, A.H. Vaxobov (1964) O‘zbekiston iqlim sharoitida tarqalgan turli fitopatogen viruslarni aniqlash va diagnostika qilish, A.H. Vahobov rahbarligida Q.S. Davronov (1984) jo‘xori pakanaligi virusini ajratish, xususiyatlarini o‘rganish va diagnostika qilish, Z.N. Qodirova (2019) karamdoshlar oilasiga mansub bo‘lgan o‘simliklarni kasallantiruvchi viruslarni aniqlash, T.S. Xusanov (2019) virus infeksiyasining o‘simlikning ba’zi bir fiziologik xususiyatlariga ta’siri bo‘yicha tadqiqotlar olib borishgan. Kartoshka viruslarini o‘rganish bo‘yicha mamlakatimizda V.Mirzaaxmedov (1964) dastlab X va S-viruslar tarqalgan fonda virussiz kartoshka etishtirish, I.T. Ergashev (2007) tomonidan esa L-virusning ayrim xususiyatlari va kartoshka navlari seleksiyasi ustida ilmiy izlanishlar olib borgan.

### **Shuningdek ushbu monografiyada:**

KXVn izolyatini aralash infeksiyadan biologik tozalash va gomogen toza preparatini tayyorlash usullarini ishlab chiqish;

virusga poliklonal zardob tayyorlash va uning immunokimyoviy xususiyatlarini aniqlash hamda virus diagnostikasida qo‘llash;

immunologik usullar yordamida virusning ba’zi xususiyatlarini aniqlash;

immunologik usullar yordamida kartoshka turli nav va namunlarining virusga chidamlilik darajasini aniqlash, virusning tabiiy rezervator o‘simliklarini aniqlash kabi tadqiqotlarda qo‘llanilgan hamda ishonarli natijalar olishga erishilgan.

NSMda immunobloting usuli yordamida dastlabki tekshirishlarda noaniq bo‘lgan qator o‘simliklar qayta tekshirib chiqilgan va virusning olabuta (*Atriplex micrantha* C.A.Mey), ituzum (*Solanum nigrum*), dumbil sho‘ra (*Ch. murale*), oddiy sho‘ra (*Ch. quonea*), yovvoyi gultojixo‘roz (*Amaranthus retrofflexus*), burgon shuvog‘i (*Artemisia*

*annua*), ermon shuvog'i (*Artemisia vulgaris*), dala rango'ti (*Sinapis arvensis* L.), xartol karami (*Brassica juncea* (L) Czern) kabi IFA sezgirligidan chetda qolgan virusning yangi tabiiy rezervator o'simliklari aniqlangan;

kartoshka viruslari tarqalishini oldini olish, zararini pasaytirish va samarali qarshi kurash choralarini ishlab chiqishga qaratilgan hamda ilmiy asoslangan amaliy tavsiyalar ishlab chiqilgan.

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati KXV ni ajratish, tozalash va antizardob tayyorlash yo'llari ishlab chiqildi hamda shu asosda virusga spetsifik zardobi tayyorlandi. Tayyorlangan spetsifik zardob IFA, NSM va IID usullarida qo'llanildi va bu usullar yordamida virusga chidamli navlar hamda virusning mamlakatimiz iqlim sharoitida tarqalgan tabiiy-rezervator o'simliklarida aniqlash va Toshkent viloyati tumanlarida kartoshka X, Y-viruslarining tarqalish darajasi aniqlanishi bilan izohlanadi.

## **I-BOB. KARTOSHKA VIRUSLARINI AJRATISH, TOZA PREPARATINI OLISH, SPETSIFIK ZARDOB TAYYORLASH VA DIAGNOSTIKA USULLARI**

### **1.1-§. Toza virus preparati va ular asosida virusga spetsifik zardob tayyorlash usullarining xarakteristikasi**

Fitoviruslarni ajratish usullari bir nechta bosqichni o'z ichiga olib, dastlab viruslarni xo'jayin organizmidan ajratish va biologik usulda tozalash ishlari amalga oshiriladi. Buning uchun dastlab diferensial o'simliklar yordamida xo'jayin o'simlikdan virus ajratib olinadi hamda shu virusga spetsifik bo'lgan o'simlik yordamida biologik tozalanib, tozalik darajasi tekshirilgandan so'ng, aralash infeksiyadan tozalangan viruslar to'plovchi o'simlikda ko'paytiriladi. Maksimal darajada virus to'plangandan so'ng, undan virusning toza preparati olinadi, olingan preparatning tozalik darajasi o'rganiladi va spetsifik zardob olish uchun quyon, dengiz cho'chqasi, oq kalamush kabi tajriba hayvonlariga yuboriladi va ulardan hosil bo'lgan zardob ajratib olinadi. Tayyorlangan spetsifik zardob virus diagnostikasida ishlatiladi. Ushbu bobda fitoviruslarni ajratish, biologik tozalash, virusning toza preparatini olish, antizardob tayyorlash va diagnostika qilish usullari haqidagi nazariy ma'lumotlar keltirilgan.

#### **1.1.1. Kartoshka X-virusining toza preparatini olish usullarining o'ziga xos jihatlari**

Har qanday virusni o'rganish uning toza preparatini olishdan boshlanadi, chunki o'simlik hujayrasi komponentlari virusning to'liq xususiyatlarini o'rganishga monelik qiladi [2.2; 123-124-b; 2.25; 87-b]. KXV ni tozalashning bir nechta usullari mualliflar [2.2; 24-b; 2.12; 845-b; 2.46; 110-b] tomonidan ishlab chiqilgan bo'lib, bu usullar tozalash bosqichlarining turli-tumanligi va olinadigan virus preparatining miqdori hamda tozalik darajasiga qarab bir-biridan farq qiladi.

Virus tozalashning dastlabki bosqichi yig'ilgan virusli namunani gomogenizatsiya qilishdan boshlanadi. Bu jarayonda ishlatiladigan bufer turi va uning konsentratsiyasi virusni tozalashda muhim ahamiyat kasb etadi.



KXV ni tozalashda to'plangan virusli namunani gomogenizasiya qilishda pH 7,5 bo'lgan 0,1 M-li yoki tarkibida 0,01 M-li natriy tiosulfat va 0,01M-li EDTA bo'lgan 0,2 M-li fosfat buferidan (pH 7,5), ayrim hollarda tarkibida 0,01M li natriy askorbat bo'lgan 0,02 M-li natriy borat (pH 8,2) buferidan foydalaniladi [2.43; 550-b]. Keyingi bosqich virusni hujayradan chiqarish hamda hujayra devorini to'liq maydalash bo'lib, bunda ko'pchilik hollarda xloroform (1:8), triton X-100 yoki butanol kabi organik erituvchilardan, ba'zan suyuq azotdan foydalaniladi va 20 daqiqadan 1 soatgacha aralashtiriladi. Ayrim usullarda [2.45; 168-b] virusli namuna gomogenizasiya qilinib, to'rt qavat dokadan o'tkazilgandan so'ng, xloroform aralashtirishdan oldin uni 10 ming ayl./daq.da 20 daqiqa sentrifuga qilinadi. Bu o'z navbatida hujayra komponentlari qoldiqlaridan virusli shirani tozalashga yordam beradi [2.2; 25-26-b].

Tozalashning keyingi bosqichi virusli shirani hujayra komponentlaridan tozalash bo'lib, bu turli ayl./tez.da sentrifuga qilish orqali amalga oshiriladi. Masalan, Pfankuxe usulida virusli shira 3000 ayl./daq.da, qolgan usullarda esa 10 000 ayl./daq.da 20 daqiqa davomida sentrifuga qilinib, cho'kma tashlab yuboriladi va virus tutuvchi cho'kma usti suyuqligi (CHUS) olinadi [2.49; 980-981-b].

Undan keyingi bosqich virus konsentrasiyasini oshirish bo'lib, bu turli tuzlar, 4% li PEG va NaCl, 25% li sulfat ammoniy yordamida yoki IEN, ya'ni pH 4,0 da cho'ktirish orqali, ayrim hollarda 5 ml qalinlikdagi 10mM li tris-HCl va 1 mM li EDTA (pH 8,0) da tayyorlangan 30% li saxaroza qatlamidan R30 (Beckman) rotorining probirkasida 3 soat 27 000 ayl./daq.da sentrifuga qilish orqali amalga oshiriladi. Ko'pgina hollarda virus konsentrasiyasini oshirishda PEG va NaCl (4%) yoki ammoniy sulfat (25%) kabi tuzlar solib eritilgandan so'ng 1 soat, IEN da cho'ktirishda esa, virusli suyuqlikning pH 4,0 ga to'g'rilanib 5-10 daqiqa sovutgichda saqlanadi va 9-10 ming ayl./daq.da 20-30 daqiqa sentrifuga qilinib cho'kma olinadi. Virusni IEN da cho'ktirilganda yoki saxaroza yostiqchasidan o'tkazilganda ham xuddi yuqoridagi singari cho'kma olinib, CHUS tashlab yuboriladi [2.2; 34-36-b].

Keyingi bosqich virusni ekstraksiya qilish bo‘lib, bunda cho‘kma 0,05 M li (pH 7,5) (1:10), 0,3 mM li fosfat buferida yoki 10 mM li tris-HCl va 1mM li EDTA yordamida (1:10) eritiladi, ayrim hollarda kechasiga sovutgichda +4°C da qoldiriladi. Sovutgichdan olingan virusli eritma 35 000 ayl./daq.da 1,5-2 soat sentrifuga qilinib, virus tozalanadi yoki 10-15 ming ayl./daq.da 15-20 daqiqa sentrifuga qilingandan so‘ng 15 soat davomida dializ qilinib tozalanadi [2.58; 169-170-b]. Boshqa usulda esa CHUS 3% li granulalangan agar gelida gelfiltrasiya qilinib KXV ning tozalangan preparati olinadi [2.47; 1360-b].

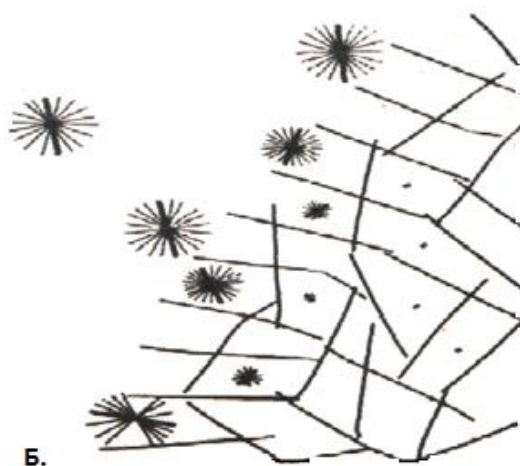
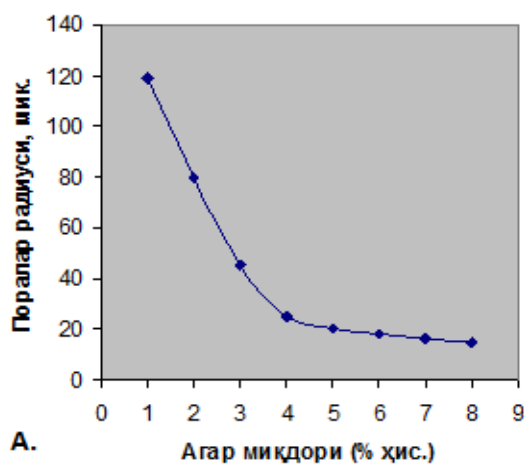
Gelfiltrasiya usuli boshqa usullar ichida viruslarni tozalashning kam xarajat ketadigan, ishonchli va yumshoq usul ekanligi bilan bir qator afzalliklarga ega. Bu usulda moddalarning ajralishi, ularning molekulyar og‘irligi va o‘lchamiga asoslangan bo‘lib, usul oqsillar, viruslar, gormonlar, antibiotiklar, lipidlar va boshqa biopolimerlarni o‘rganishda keng qo‘llaniladi. Virus tozalashda turli konsentratsiyadagi agar-agar geli ishlatilgan bo‘lib, ularning ichida 3-5% li eritmasidan tayyorlangan gellar viruslarni tozalashda va aralash viruslarni ajratishda yaxshi samara beradi [2.2; 45-46-b; 2.21; 546-b]. Gelda agar-agar miqdori oshgan sayin poralar o‘lchami kichrayib boradi (1.1.-rasm, A).

Bir qator mualliflar gelfiltrasiya usulidan foydalanib toza virus preparatini olishga erishgan, ammo ular kolonkani to‘ldirishda granulalangan agar gelidan hamda uzunligi 80 sm dan kam bo‘lmagan kolonkalardan foydalanib, tozalash ishlari olib borgan. Bu usulda kolonkaga joylanadigan modda, ya‘ni kolonka matriksining turi moddalarni ajratishda muhim hisoblanadi. Bugungi kungacha gelfiltrasiya uchun dekstranli gellar (sefadeks), poliakrilamid geli (biogel R), agar va agarozadan (sefaroza, segaroza, biogel A), oxirgi paytlarda esa har xil porali mayda shisha donalari va boshqalardan foydalanilib kelinmoqda [2.5; 234-b]. Bu moddalar bir-biridan moddalarning ajratish chegarasi bilan farq qilib, asosan ajratiladigan modda shakli va m.m.ga qarab tanlab olinadi. Masalan, sefadeksning G-200 turi 200 kD m.m.gacha bo‘lgan, agar-agar esa 1000 kDa gacha bo‘lgan makromolekulalarni ajratadi [2.2; 56-58-b].

Mualliflarning ma'lumotiga qaraganda, organik erituvchilar bilan ishlov berilib bir necha marta sentrifuga qilinib, tuz bilan konsentrlangan virus preparatida 50-60 kDa m.m.gacha bo'lgan makromolekulalar qolishini isbotlar bergan. Bundan ko'rinib turibdiki, sefadeks va agar-agar gellarini birga joylanishi kalta o'lchamli kolonkada ham toza virus preparatini olish imkoniyatini beradi. Bunda kolonkaning yuqoridagi ya'ni sefadeksdan iborat bo'lgan qismi 200 kDa m.m.gacha bo'lgan moddalarni ushlab qolib, undan yiriklarini o'tkazib yuboradi, kolonkaning agar-agardan iborat bo'lgan qismi esa 1000 kDa m.m.gacha bo'lgan makromolekulalarni ushlab qolib undan yiriklarini o'tkazib yuboradi. Bizga ma'lumki KXV ning m.m.si 35 000 kDa ni tashkil etib, u har ikkala qavatdan ham hech qanday to'siqsiz o'tib ketadi va dastlabki fraksiyalarda kolonkaning erkin hajmida filtrlanib chiqadi [3.2; 123-125-b].

Bu usulda moddalarning bo'linishi quyidagi qonuniyatga asoslanadi: kolonkadan moddalar o'tganda faqatgina filtrlanmasdan, balki molekulyar og'irligi, o'lchami va shakliga qarab ajraladi. Shuning uchun yuvuvchi suyuqlik (elyuent) miqdori o'rganilayotgan modda o'lchami va shakliga bog'liq bo'ladi. Agar gel ustiga yirik va kichik m.m. ga ega bo'lgan moddalar aralashtirib solinsa, turli o'lchamdagi molekulalar gelnı elyuent bilan yuvilish jarayonida fraksiyalarga ajraladi. Bir qator yirik molekulalar oldında, ya'ni kolonkaning erkin hajmi orqali harakatlansa, undan so'ng esa kichik o'lchamdagi moddalar harakatlanadi. Shuning uchun har bir molekula gel poralari orasiga kirib, har xil tezlikda harakatlanadi va bo'linib, kolonkani yuvuvchi elyuentining turli fraksiyalarida molekulyar massaning kamayishi tartibida yuvilib chiqadi [2.2; 67-69-b] (1.1-rasm, B).

Shu sababdan, yirik molekulalar «qoidadan tashqari», ya'ni gel poralari ichiga kirmaydi va ularning yonidan, granulalarni o'rab turgan suyuqlik orqali harakatlanadi, suyuqlik egallagan bu qism, kolonkaning erkin sig'imi ( $V_0$ ) hisoblanadi. Juda kichik molekulalar esa gel poralari ichiga kiradi hamda ichki va tashqi suyuqlikda erkin harakatlanadi (1.1-rasm, B) [3.1; 24-b].



**1.1-rasm. Geldagi agar miqdoriga bog'liq holda poralar o'lchami (A) va virusning gel orqali harakatlanish sxemasi (B) (Steere, 1964).**

Sefadeks suvda erimaydi, ammo ma'lum miqdorda suvni o'ziga shimib oladi. Uning granulari sharsimon shaklda bo'lib, suvda shimdirilgan sefadeks turiga qarab, gelfiltrasiyada 10-200 kDa m.m.gacha bo'lgan makromolekulalarni ajratishda yaxshi samara beradi. Uning bir qator turlari (G-10, G-15, G-50, G-100, G-200) ma'lum bo'lib, ular bir-biridan suv shimish miqdori va moddalarni ajrata olish chegarasi bilan farq qiladi [2.64; 170-b].

1961 yili Polson (Polson) gelfiltrasiya uchun agar gelini taklif qildi, bunda juda katta m.m. ega bo'lgan makromolekulalar, jumladan viruslar va hujayra qismlarini ham ajratish mumkinligini isbotladi. Gelfiltrasiya uchun ishlatiladigan agar-agar moddasi dengiz suv o'ti (laminariya)dan olingan. Agar-agar ikki qismdan: agaroz va agaropektindan iborat. Agaroz neytral polisaxarid, agaropektin zaryadli guruhlarga ega. Agaroz kabi agarni ham gelfiltratsiyada virus tozalashda ishlatilganda, elyuentga 0,1 M KCl qo'shib ishlatsa viruslar gelga adsorbsiyalanmaydi [3.2; 116-118-b]. Arakining aniqlashicha, toza holda ajratilgan agaroz bir qator polisaxaridlar: D-galaktoza va 6-6-angidro – L –galaktoza qoldig'idan iborat [2.2; 113-b].

Agar-agar qaynayotgan suvda juda tez suyuqlanadi, gidrofob muhitda (efir va suvda) esa sovutilganda eritmadagi agar miqdoriga qarab har-xil qattiqlikdagi va har-xil porali gel holatiga keladi hamda

viruslarni tozalashda yaxshi samara beradi, ayniqsa  $20-50 \times 10^6$  m.m.ga ega bo'lgan viruslarni toza preparatini olishda 3% granulalangan agar-agar, 5% gelda  $4 \times 10^6$  m.m.li viruslarni tozalashda, 1.5-2% lari esa tayoqchasimon viruslarni sortlarga ajratishda samarali qo'llash mumkin.

### **1.1.2. Spetsifik zardob olish usullari va ularning xususiyatlari**

Ko'pgina immunologik tadqiqotlar olib borish uchun maxsus spetsifik zardob zarur bo'ladi. Bunday zardoblar umurtqali hayvonlar, jumladan: quyon, kalamush, sichqon va bir qator hayvonlar organizmiga turli AG lar kirganda, ularga qarshi maxsus himoya, «immun tizim» sifatida paydo bo'ladi [2.4; 85-b]. Ularning immuniteti quyidagi ikki tizim orqali ta'minlanadi, «hujayraviy immunitet» va «gumoral immunitet». Immun tizimning bu ikkilik xarakteri organizmdagi ikkita bir-biriga o'xshash limfotsit hujayralar tomonidan ta'minlanadi.

1. Limfotsitlarning birinchi sinfi, ya'ni T-hujayra hujayraviy immun tizimni ta'minlaydi. Bu hujayra organizmga yot narsalar tushganda birinchi bo'lib tanib olib o'ziga biriktirib oladi va organizmdan yo'qotadi.

2. Limfotsitning ikkinchi sinfi, B-hujayra organizmda gumoral immun javobni shakllantiradi. Bundan tashqari bu hujayra organizmga tushgan AG ni tanish jarayonida u o'zidan antitana – deb nomlanuvchi AG bilan birikib uni yo'qota olishga qaratilgan reaksiyalarni shakllantiruvchi oqsillarning paydo bo'lishiga olib keladi [2.2; 43-b].

Tanib olingan begona agentlar «antigen» deb yuritiladi. AG ning AT ga birikadigan qismi antigen determinantlari deb yuritiladi. AT AG ni molekulyar komplementarlik prinsipi asosida tanib oladi va birikadi, hamda bir nechta nokovalent va kovalent bog'lar hosil bo'lishiga sabab bo'ladi [2.4; 54-b; 2.51; 212-b].

Hayvonlarda immun tizim shakllanishiga olib keluvchi immunogenlar turli makromolekulalar, jumladan, begona oqsillar, nuklein kislotalar va uglevodlar bo'lishi mumkin. Molekulyar og'irligi 5000 dan kichik bo'lgan molekulalar immunogen bo'la olmaydi va ular

«gaptenlar» deb yuritiladi. Ular yirik molekulali oqsil-tashuvchilar bilan kovalent bog' orqali bog'langandagina immunogen bo'la oladi. Masalan, 2,4-dinitrofenil gruppasi maxsus zardob albumini singari tashuvchi-oqsil bilan birikkandagina immunogen bo'lishi mumkin [2.2; 68-b].

Umuman hayvonlarni sun'iy immunizasiya qilish natijasida hosil bo'lgan zardob tarkibida paydo bo'lgan, AG ni taniy oladigan spetsifik oqsil, ya'ni AT lar immunoglobulinlar (IgG) sinfiga mansub bo'lib [2.48; 1055-b], immunologiya usullarida keng qo'llaniladi. Ularning asosiy strukturasi to'rtta zanjirdan iborat bo'lgan polipeptid kompleksidir. Ular bir-biri bilan disulfid bog'lar orqali birikkan ikkita bir xil «yengil» (kichik molekulyar og'irlikka ega bo'lgan) va «og'ir» (yirik molekulyar og'irlikka ega bo'lgan) zanjirlardan iborat. Zanjirlarning karboksil gruppasi (C-uchi) bilan tugagan uchi «konstanta» qismi deb yuritilib, bitta sinfga mansub AT larda o'xshash bo'ladi. Og'ir zanjirning karboksil gruppadan boshlab yarmigacha bo'lgan qismi F<sub>c</sub>-uchastka deb yuritiladi. Og'ir va engil zanjirlarining aminogruppa (N-uchi) bilan tugagan uchastkasining aminokislota ketma-ketligi turli spetsifiklikka ega bo'lgan AT larda farq qilib, og'ir va yengil zanjirlarda bu gruppasi bilan tugagan uchastkalar bir-biri bilan bog'lanadi va antigen bog'lovchi markazlarni hosil qiladi [2.59; 88-b; 2.61; 328-b].

Sut emizuvchilarni immunizasiya qilish natijasida paydo bo'lgan maxsus zardob tarkibidagi immunoglobulinlar og'ir zanjiri aminokislotalar ketma-ketligiga qarab beshta sinfga, ya'ni IgM, IgG, IgA, IgD va IgE larga bo'linadi. Ko'pgina standart antigenlarga zarur bo'lgan antizardoblar, masalan, inson IgG sotuvda mavjud, ammo boshqa AG lar, jumladan, o'simlik viruslariga zarur bo'lgan antizardobni laboratoriya sharoitida tayyorlash zarur. Bunday antizardoblarga qo'yiladigan talab – spetsifiklik va tarkibida etarlicha AT mavjud bo'lishidir. Bunday xususiyatga, ya'ni yuqori titrli AT ga ega bo'lgan antizardob olishda organizm immun sistemasining gumoral boshqaruvini hisobga olish zarur. Masalan, AG ning katta dozada yuborilishi AT ishlab chiqaruvchi supressor hujayralar paydo bo'lishini kamaytirishi yoki bu holat organizmdagi «immun xotira» fenomeni

vazifasini bajarib yuqori titrli zardob ajralishiga sabab bo'lishi mumkin. AG ning organizmga kiritilishi AT hosil bo'lishidan tashqari organizmda unga qarshi paydo bo'ladigan immun reaksiyani namoyon qiluvchi limfotsitlar «xotira hujayrasi» ning paydo bo'lishiga sabab bo'ladi. Bu hujayralar butun organizm bo'ylab tarqaladi va limfotsit ishlab chiqaruvchi organlar ishini kuchaytiradi. AG ning qayta yuborilishi, ya'ni «reimmunizatsiya» qilinishi birinchi immun reaksiyaga nisbatan organizmda sezilarli darajada AT ishlab chiqarilishini kuchaytiradi, paydo bo'lgan AT qon bo'ylab uzoq muddat aylanib yurib xizmat qiladi [2.2; 36-b]. Bir qator mualliflar ma'lumotiga qaraganda limfotsit «hujayra xotirasi» ning paydo bo'lishi uzoq muddatli jarayon bo'lib, unda birinchi va ikkinchi AG yuborilishi orasidagi muddat qisqa bo'lmasligi zarur. Bizga ma'lumki, sichqonlarda birinchi va ikkinchi AG yuborilishi orasidagi optimal muddat 90 kuni tashkil etadi [2.4; 145-b; 2.13; 191-b]. Organizmda «immunologik xotira» ning paydo bo'lishi AG tabiatiga ham bog'liq. Bir qator mualliflar olib borgan tadqiqotlar asosida kartoshkani kasallantiruvchi X, Y va L-viruslar yuqori AG xususiyatiga, M, S-viruslar esa past AG xususiyatiga ega. AG yuborilganda quyonlarda va dengiz cho'chqasida 6 haftada, sichqon va kalamushlarda 4 haftada, tuban umurtqalilarda esa 3 haftadan so'ng organizmida AG ga qarshi immunitet shakllanadi. Organizmdagi bunday «gumoral immun» javobni esa ad'yuvantlar yordamida kuchaytirish mumkin [2.47; 13-14-b]. Ulardan eng ko'p ishlatiladigani to'liq Freynd ad'yuvanti va alyuminiy gidrooksiddir, ammo oxirgi vaqtlarda ad'yuvant sifatida muramilpeptidlardan foydalanilmoqda. To'liq Freynd ad'yuvanti (TAF) tayyor holda sotuvda mavjud, uning tarkibiga mineral moy, emulgator va aktivligi yo'qotilgan tuberkulyoz bakteriyasi kiradi. TAF AG ning suyuq eritmasiga to'liq stabil aralashma hosil bo'lguncha yaxshilab aralashiriladi, chunki ad'yuvantning samarasi bu aralashmaga bog'liq [2.2; 58-b].

Ma'lumki ideal AT ni gibridoma hujayralaridan ham foydalanib olish mumkin. Bunda immunizatsiya qilingan hayvon limfotsitlari va rak hujayralaridan *in vitro* usulida gibrid olinadi, bu gibridoma hujayralaridan kerakli AT sintezlay oladigan hujayralar klonlanadi.

Bunday antitanalar monoklonal AT bo‘lib, bir xil spetsifiklikka ega ekanligi bilan poliklonal AT lardan farqlanadi [2.4; 90-b]. Ammo poliklonal AT lar esa turli spetsifiklikka ega bo‘lib, ijobiy reaksiya berishi bilan ajralib turadi.

## **1.2-§. Fitoviruslar diagnostikasida qo‘llaniladigan immunologik usullar va ularning tasnifi**

### **1.2.1. Immunologik usullar va ularning sezgirliги hamda fitoviruslar diagnostikasidagi roli**

Fitopatogen viruslarni diagnostika qilishda qo‘llaniladigan usullar ichida immunologik usullar bir vaqtning o‘zida bir qancha namunani tekshirishi, kam mehnat va vaqt talab qilishi bilan alohida o‘rin tutadi. Bu usullar antigen (AG) va antitananing (AT) o‘zaro ta‘siriga asoslangan bo‘lib, agglyutinasiya, pretsipitasiya, immunodiffuziya va nishonlangan moddalarga asoslangan usullarga bo‘linadi va o‘zining sezgirliги bilan bir-biridan farq qiladi [2.2; 102-b; 2.6; 200-b; 2.8; 35-b; 2.54; 213-b]. Usullarning sezgirliги darajasi 1.1-jadvalda keltirilgan.

Hozirgi vaqtda o‘simlik viruslarini diagnostika qilishda ishlatiladigan usullarni takomillashtirish sezgirlik darajasini oshirish hamda bu ishni bajarishga arzon yo‘llarini topish kabi dolzarb muammolar mavjud [2.50; 1013-b; 3.1; 23-24-b; 3.5; 12-b].

Bugungi kunda o‘simlik viruslarini diagnostika qilishda indikator o‘simliklar elektron mikroskopiya, kiritmalar asosida va immunologik usullardan foydalaniladi. Indikator o‘simliklar yordamida viruslarni diagnostika qilish usuli o‘simliklarni viruslarga beradigan reaksiyasiga (mozaika, nekroz) asoslangan bo‘lib, viruslarini past konsentrasiyada ham aniqlay oladi, bundan tashqari aralash kelgan viruslarni differensial indikator o‘simliklar yordamida tozalash hamda ularni shtammlarini aniqlash imkonini beradi [2.2; 39-b; 2.33; 94-b].

1.1-jadval



## Turli immunologik usullar sezgirligini solishtirish

Usullar nomi	Aniqlangan virus	Usul cezgirligi	Namunani tekshirish vaqti
TU	TMV	1-10 mkg/ml	30-60 min
MPR	KXV	0,5 mkg/ml	24 soat
LU	KXV, KSV	0,1-0,5 mkg/ml	10-60 min
PALLAS - test	KYV	0,01-0,5 mkg/ml	4-10 min
Indikator o‘simlik	TMV	0,5 mkg/ml	Bir necha kun
RID	KXV	1 mkg/ml	24-48 soat
IID	KXV	1-10 mkg/ml	24-48 soat
IEF	VTM	0,1-4 mkg/ml	48 soat
TGAR	XVK	0,075mkg/ml	-
BFU	TMV	0,1-0,5 mkg/ml	10-20 min
VBA	JPMV	0,2 mkg/ml	1-2 min
RIA	GKMV	10-300 ng/ml	1-2 soat
IFA	KXV	0,1-1 ng/ml	2-3 soat

P.G. Chesnokov (1961) A.YA. Komeraz (1959) va bir qator mualliflar o‘simliklar yordamida kartoshka viruslarini diagnostika qilish ustida ish olib borgan [2.18; 46-b; 2.27; 79-80-b; 2.55; 546-b]. Indikator o‘simliklarni etishtirish, o‘stirish ko‘p ishchi kuchini talab qilishi bilan birga virusni yuqtirish sharoiti va kasallik alomatlarini paydo bo‘lishi ancha vaqt talab qiladi [2.25; 17-b].

Hujayra kiritmalariga asoslangan diagnostika usuli bugungi kunda kam ishlatilib ular birinchidan ko‘p vaqt hamda ko‘p sarmoya, asbob uskunalar talab qilmasdan, usulning sezgirligi ham ancha past [2.2; 38-b; 2.32; 24-b; 3.1; 24-b].

Elektron mikroskopiya usuli bir qator qimmat asbob uskunalarni va yuqori malakali mutaxassislarni talab qiladi. Ammo usulni qulayligi

shundaki yangi o'rganilayotgan virus hamda ularni tuzilishini va shaklini ham aniqlab beradi [2.24; 95-b].

Viruslarni diagnostika qilishda qo'llaniladigan usullar ichida immunologik usullar bir vaqtning o'zida bir qancha o'simliklarni tekshirishi, kam mehnat va vaqt talab qilishi bilan alohida o'rin tutadi. Bu usullar antigen (AG) va antitana (AT) o'zaro ta'siriga asoslangandir. Tozalangan AG hayvon organizmiga (masalan quyon) yuborilganda unga qarshi maxsus (spetsifik) AT ning paydo bo'lishiga sabab bo'luvchi virus oqsili molekulasi bir bo'lagi hisoblanadi [2.20; 345-346-b].

Birinchi bo'lib M. Dvorak (1927) keyinchalik (1930) T.I. Fedotova va B.L. Matsulevich viruslarni ularning AT lari yordamida diagnostika qilishni aniqlashdi [2.1; 146-b].

Kartoshka X-virusiga qarshi birinchi bo'lib A. Gratia (1933) antizardob (AZ) tayyorlagan. Kartoshka viruslari AG aktivligi va oqsil tarkibi bilan bir biridan farq qiladi. Bir muncha aktiv AG xususiyati X – virusda, unga yaqin S va M, keyinchalik Y va oxirgi o'rinda A-virus hisoblanadi [2.2; 56-b; 3.2; 78-b].

Immunologiya usullari AG va ATning bir biri bilan o'zaro reaksiyaga kirish sharoitiga qarab aglyutinasiya, pretsipitasiya, immunodiffuziyaga va nishonlangan moddalarga asoslangan usullarga bo'linadi [3.1; 26-b]. Bu usullar o'zining sezgirligi bilan bir biridan farq qiladi.

Viruslar ham boshqa AG kabi turlicha antigen dterminantlarni o'z oqsil qavatida saqlaydi. Ular hayvon organizmiga kiritilsa, ularga qarshi hayvon qonida maxsus AT lar hosil bo'ladi, xuddi shunday xususiyatga virusdan ajratib olingan uning oqsil qismi ham egadir. Ularning antigen dterminantlari 3-5 aminokislota qoldiqlaridan iborat. Kimyoviy tabiati va fizik xususiyatlariga ko'ra AT lar oqsil zardobi globulinlar sinfiga kiradi. Ular o'z antigenlari bilan spetsifik munosabatda bo'lishi mumkin. Sun'iy ravishda hayvonlarni immunizasiya qilish natijasida hosil bo'lgan AT lar immunoglobulinlar (IgG) sinfiga kiradi [2.11; 50-b; 2.27; 323-325-b] va immunologiya usullarida keng qo'llaniladi. Immunologik usullarning bugungi kungacha pritsipitatsiyaga asoslangan, diffuziyaga

asoslangan, agglyutinasiya reaksiyalariga va nishonlangan moddalarga asoslangan usullarga bo‘linadi. Ulardan so‘ngi yillarda nishonlangan moddalarga asoslangan usullar fitoviruslar diagnostikasida keng ko‘lamda qo‘llanilib kelinmoqda. SHuning uchun ushbu usul haqida quyida ma‘lumotlar keltirib o‘tamiz.

Nishonlangan moddalarga asoslangan usullar AT yoki AG ni birorta modda (ferment, radiaktiv moddalar) bilan nishonlashga asoslangan bo‘lib, virus miqdori kam bo‘lgan hollarda ham aniqlay oladi. [2.27; 390-392-b] Usulning quyidagicha turlari mavjud:

Radioimmun analiz usuli (RIA). Bu usulda birorta virus AT si radioaktiv yod ( $I^{125}$  yoki  $I^{131}$ ) bilan nishonlanadi. Uning mohiyati quyidagicha: avval qattiq fazaga (polistrol platalarga) virus AT lari immobilizasiya qilinadi va undan so‘ng AG solinadi va ma‘lum vaqtdan so‘ng yod bilan nishonlangan AT lar solinadi. Bu usullarni birinchi bo‘lib fitovirusologiyada Boll 1973 yilda qo‘llagan. Usulning sezgirligi 0,5 mkg/ml dan to nanogrammagacha (1 ng - 0,000000001g) [2.19; 332-b].

Flyuorescent zondlash usuli. Bu usulda lyuminessent nishoni aniqlamoqchi bo‘lgan virus AT si tarkibiga kiritiladi va faqatgina virusning miqdorini aniqlashdan tashqari kasallangan o‘simlik to‘qimalarida joylashgan o‘rnini ham aniqlashi mumkin [3.3; 26-b].

Immunoferment analizi (IFA). Keyingi yillarda nishon sifatida biokatalizatorlar, ya‘ni fermentlar ishlatilmoqda. Bu ferment reaksiyaning molekulyar kuchaytirgich bulib xizmat qiladi. IFA mikroorganizmlarini, viruslarni, ayniqsa fitoviruslarni aniqlaydigan eng sezgir immunologik usul hisoblanadi [3.2; 67-b; 3.5; 24-b].

Shunday qilib bugungi kunda fitoviruslarni diagnostika qilishda ishlatiladigan indikator o‘simliklar, elektronmikroskopiya va immunologiya kabi usullar qo‘llaniladi. Bu usullar ichida sezgirligi, kam ishchi kuchi talab qilishi va bir vaqtning o‘zida bir qancha namunani tekshira olishi bilan immunologiya usullarining ichida IFA etakchi o‘rinni egallaydi.

IFA viruslarni, ayniqsa fitoviruslarni aniqlaydigan eng sezgir immunologik usul hisoblanadi. Usulni 70 yillarning boshlarida

Shvetsiyalik olim Engvell va Rerlmann, Gollandiyalik Schuur va van Weemen, AQSH lik olimlar Rubenstein lar hamkorlikda ishlab chiqishgan bo‘lib, AG va AT orasidagi munosabatga asoslangan [2.4; 34-b; 2.28; 237-b]. Keyinchalik (1976) Adams va Klark o‘simlik viruslarini aniqlashda birinchi bo‘lib qo‘llagan [2.2; 48-b]. Usulning sezgirligi juda yuqori, ya’ni viruslarni juda kam miqdorda ham aniqlash imkoniyatiga ega. IFA RIA usuliga o‘xshash, lekin bunda radioaktiv izotop o‘rniga ferment ishlatiladi [2.28; 90-b].

Hozir IFA ning gomogen va geterogen turlari yaratilgan bo‘lib, gomogen turi yordamida kichik molekulali moddalarni, ya’ni gaptenlarni aniqlash mumkin. Unda bu moddalarning fermentlar bilan birikishi natijasida bunday moddalar neytrallanadi. Ammo eritma ichidan erkin yoki birikkan AG ni ajratib olish qiyin. Bundan farqli ravishda IFA ning geterogen turida AG yoki AT qattiq fazaga fiksirlanadi, reaksiyaga xalaqit qiluvchi komponentlar yuvish orqali yo‘qotiladi [3.6; 13-b].

IFA ning geterogen turining ham ikkita, ya’ni raqobatga asoslangan va asoslanmagan turlari mavjud. Raqobatga asoslangan turida dastlab AT qattiq fazaga adsorbsiyalanadi hamda ortiqcha AT yuvib tashlangandan so‘ng AG va ferment solinib inkubasiyalanadi. Undan so‘ng reaksiyaga xalaqit beruvchi moddalar yuvib tashlanib ustidan substrat solinadi va reaksiyaning borish jarayoni kuzatiladi [2.2; 124-b]. Ikkinchi variantida esa dastlab AG qattiq fazaga adsorbsiyalanadi va ma’lum muddatdan so‘ng ortiqcha AG yuvib tashlanib ustidan AT va ferment bilan birgalikda standart yoki o‘rganilayotgan AG aralashtirib solinib inkubasiyalanadi hamda yuvilib ustidan substrat solinadi [3.1; 12-13-b].

IFA ning raqobatga asoslanmagan turining ham to‘g‘ri, noto‘g‘ri va «sendvich» kabi turlari mavjud bo‘lib, ulardan “sendvich” varianti yuqori sezgirligi bilan alohida ajralib turadi. «Sendvich» variantida dastlab AT qattiq fazaga adsorbsiyalangandan so‘ng ortiqcha AT yuvib tashlanadi. Uning ustiga AG immobillanadi, ma’lum muddat saqlangandan so‘ng ortiqcha AG yuvib tashlanadi va ustidan kon’yugat solinib 3-4 soat davomida immobillanadi. Ortiqcha kon’yugat ham

yuvib tashlangandan so'ng substrat solinib reaksiyaning borish jarayoni kuzatib boriladi. Bu usul buterbrodni eslatgani uchun «sandvich» (Sandivich) usuli deb ataladi [2.27; 168-b].

Bu usullarda AT yoki AG ni tashuvchisi sifatida organik tabiatli polistirol, polivinilxlorid, polipropilen kabi moddalar ishlatiladi. Shu bilan bir qatorda kon'yugat (lot. coniugatio - birlashish) va substrat ham ishlatiladi. Kon'yugat AT va ferment birikmasi bo'lib, unda fermentga spetsifik substrat ishlatiladi. Masalan, peroksidaza fermentiga  $H_2O_2$  orto-dianizidin yoki ortofenilendiamin, 2,2-azino-dietilbenziazolinsulfat (ABTS), ishqoriy fosfataza fermentiga p-nitrofenilfosfat, glyukozooksidaza fermentiga  $H_2O_2$  orto-dianizidin, D- $\beta$ -galaktozidaza fermentiga esa p-nitrofenilfosfat yoki D- $\beta$ -galaktozid ishlatiladi [2.4; 90-93-b; 2.10; 10-b; 2.13; 190-b].

Yuqori sezgirlikka asoslanganligi va bir vaqtning o'zida bir qancha namunani aniqlay olishi IFA ning boshqa analitik usullardan afzalligini ko'rsatib berdi. Shuning uchun bugungi kunda IFA meditsina, veterinariya, qishloq xo'jaligi, oziq-ovqat sanoati va ilmiy tadqiqotning bioximiya, hujayra fiziologiyasi, immunologiya, mikrobiologiya, virusologiya kabi bir qator yo'nalishlarida keng qo'llanilmoqda [2.2; 46-b].

Meditsina sohasida bu usul miokard infarkt, allergik, infeksiyon va parazitari kasalliklarni aniqlashda ishlatilmoqda. Miokard infarkti kreatinkinaza (KK) izofermenti miqdori asosida aniqlanadi. Sog'lom odam qonida bu ferment deyarli uchramaydi. Qon plazmasida ferment paydo bo'lishini ushbu usul yordamida aniqlab, miokard infarktning oldi olinmoqda [2.6; 200-b; 2.9; 88-89-b]. Shu bilan bir qatorda bu usul yordamida sifilis, OITS, gripp, virusli gepatit, herpes kabi infeksiyon kasalliklarni barvaqt fazalarda aniqlashga imkon yaratilmoqda. IFA usuli turli virusli kasalliklarning, jumladan, virusli gepatitning - A, B, C, D va E kabi turlarini differensial diagnostika qilish imkoniyatiga ega [2.2; 145-b].

Veterinariyada infeksiyon kasalliklarni, hayvon mahsulotlari tarkibidan turli zaharli moddalarni aniqlashda hamda bir qator ilmiy tadqiqot yo'nalishlarida, jumladan fitovirusologiyada IFA keng

qo'llaniladi. Bundan tashqari bugungi kunda turli qishloq xo'jalik ekinlarining, jumladan kartoshka o'simligidan apikal meristema usuli yordamida «virussiz o'simlik» yaratilmoqda va keng miqyosda virussiz urug' sifatida tarqatilmoqda. Bu jarayon bir necha bosqichdan iborat bo'lib, bir muncha uzoq vaqtni talab etadi. Bu vaqt davomida yaratilgan virussiz o'simlik virus bilan ikkilamchi zararlanmaganligi hamda virus kasalliklarining tarqalish areali, rezervator o'simliklarini va tabiiy o'choqlari IFA yordamida nazorat qilib borish bir qator qulayliklarni yaratadi [2.27; 450-b].

Umuman olganda bu usul o'zining tezkorligi, sezgirligi va bir vaqtning o'zida bir qancha namunani aniqlay olish kabi afzalliklarga ega. Shuning uchun bu usul bugungi kunda meditsina, xalq xo'jaligining turli jabhalarida va ilmiy tadqiqotning ko'pgina sohalarida keng qo'llanilmoqda.

## **II-BOB. TADQIQOTLAR UCHUN FOYDALANILGAN MATERIALLAR VA ISH USLUBLARI**

### **2.1-§. Tadiqoqot ishini bajarishda qo‘llanilgan materiallar, reaktivlar va o‘simliklar hamda ularni kasallantirish**

Ishdagi dastlabki monitoring ishlari uchun zarur reaktivlar, kartoshka viruslari antitanalari (AT (IgG)), kon'yugat (IgG +ishqoriy fosfataza) va polistrol planshetlar «International Center of Potato» CIP tashkilotidan olingan. Bundan tashqari ishda xloroform, polietilenglikol (m.m. 6000), etilendiamintetraatsetat (EDTA), natriy tiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + 5\text{H}_2\text{O}$ ), fosfat buferi ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$  va  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), tris-HCl (tris-oksimetilaminometan), benzidin gidroxlorid  $(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)_2 \times 2\text{HCl}$ , Natriy atsetat ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) tuzi kabi kimyoviy reaktivlardan va toza virus preparatini olishda ishlatilgan gelfiltratsiya usuli uchun esa «Difko» agari, sefadeks G-200 (Fine Chemicals AB, Sweden) kabi bir qator kimyoviy moddalar ishlatildi. Foydalanilgan barcha reaktivlar «kimyoviy toza» yoki «tahlillar uchun toza» belgisiga ega. Model tajribalarda ishlatilgan tamaki mozaika virusi *Nicotiana barley* tamaki o‘simligidan differensial sentrifugalash usuli bilan ajratildi. Asosiy tadqiqot ishlari kartoshkaning X va Y-viruslari ustida olib borilib, bu viruslarning ichidan asosiy tadqiqot ob’ekti sifatida KXV dan foydalanildi. Olingan natijalarning statistik tahlili esa «Microsoft Excel» kompyuter dasturining umumiy qabul qilingan uslublaridan foydalanib bajarildi.

#### **2.1.1. O‘simliklarga mexanik usulda virus yuqtirish**

Buning uchun dastlab virus bilan kasallangan o‘simlik a’zolaridan (barg, ildiz yoki poya) namuna olinib, chinni hovonchada 0,02M fosfat buferi qo‘shilib (1:1) maydalangandan so‘ng to‘rt qavat dokadan o‘tkazib virusli shira tayyorlab olindi. Tayyor bo‘lgan virusli shirani o‘simliklarga yuqtirish uchun alohida yopiq holatda o‘stirilayotgan o‘simliklarning barg ustiga korund (alyuminiy oksidi) yoki karborund (kremniy karbid) changlatilib, ikki-uch tomchi virusli shiradan tomizildi va yaxshilab yuvilgan qo‘l barmoqlari yordamida yoki shisha tayoqcha bilan ohista surtildi hamda o‘simlik 1-2 soat salqin joyda saqlandi.

Kasallantirilgan o‘simliklarga etiketkalar osilib va kasallik alomatlarining rivojlanishi kuzatib borildi.

### **2.1.2. O‘simliklarning kasallanish darajasini va virusning hosildorlikka zararini aniqlash**

a) O‘simliklarning kasallanish darajasini aniqlash uchun 1 ga maydondan diogonaliga bir-biri bilan kesishadigan chiziq bo‘ylab 20 ta 1 m<sup>2</sup> dan maydonchalar belgilanib olinib, ulardagi o‘simliklar tekshirib chiqiladi va kasallanish darajasi Yu.I. Vlasov usulida, ya’ni quyidagi formula asosida hisoblandi [2.3; 146-b].

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

Formuladagi: P – kasallanish darajasi (% - hisobida); n - kasal o‘simliklar soni; N- umumiy tekshirilgan o‘simliklar soni.

b) Viruslarining hosildorlikka ta’siri quyidagi formula yordamida hisoblandi [2.2; 68-b].

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

Formuladagi: V - ko‘rilgan zarari yoki nobud bo‘lgani hosil miqdori (%); A - sog‘lom o‘simlik hosili; a - kasallangan o‘simlik hosili.

## **2.2-§. Toza virus preparati va uning xususiyatlarini o‘rganish**

### **2.2.1. Kartoshka X virusini biologik tozalash**

Tabiatdan ajratib olingan virus namunasidan indikator o‘simliklar to‘plamini to‘g‘ri tanlab, agrotexnika shart-sharoitlariga va tozalikka rioya qilib, ularni inokulyatsiya qilinsa ma’lum muddatdan so‘ng virus yuqtirilgan o‘simlikda shu virusga xos bo‘lgan alomatlar hosil bo‘ladi [3.1; 12-b].

Har bir o‘rganilayotgan fitopatogen viruslar uchun shunday indikator o‘simliklar tanlash kerakki, o‘simlik bu virusga xos spetsifik simptomlar hosil qilishi kerak [2.9; 91-b]. Bir xil virusning har xil shtammlari indikator o‘simliklarda turli alomatlarni yuzaga keltirishi mumkin. Ularning xuddi shunday xususiyatlaridan hamda virus biologiyasini e’tiborga olgan holda biologik tozalash amalga oshiriladi



bu esa virusli namunani aralash infeksiyadan tozalash imkonini beradi. SHularni e'tiborga olgan holda KXV ni biologik tozalash quyidagi sxema bo'yicha olib borildi:

Namuna=>gomogen.=>*D.stramonium*=>*G.globosa*=> *D. stramonium*  
0,02 M FB, pH 7-8 (sis. mozaika) (nekroz) (sis.mozaika)

Xuddi yuqoridagidek sxemada virus uch marta tozalangandan so'ng, uning tozalik darajasi test-indikator o'simliklar yordamida o'rganilganildi va virus to'plovchi o'simlikka yuqtirilib ko'paytirildi, keyinchalik bu namunalardan toza virus preparatini olishda foydalanildi.

### **2.2.2. KXVning toza preparatini fizik-kimyoviy usullar yordamida olish**

KXV ning tozalangan preparatini olishda bir qator mualliflar [2.2; 78-79-b; 2.5; 345-346-b] ishlab chiqqan usullardan foydalanib, tozalash usuli modifikatsiya qilindi. Bu usul dastlab virusli namunani muzlatish, gomogenatni xloroform bilan ishlov berish oldidan sentrifuga qilinishi, virus konsentratsiyasini oshirishda ammoniy sulfat tuzidan foydalanish kabi tomonlari bilan farqlanadi. Bunda KXV bilan kasallantirilgan bangidevona (*D. stramonium*) bargi yig'ib olinib, -4°C da saqlandi, bu hujayra komponentlari va qobig'ining oson parchalanishiga yordam beradi. Olingan virusli namunaga 0,02M-li FB (pH 7.5) (1:1) qo'shib gomogenizatorida 15 daqiqa davomida maydalandi va hosil bo'lgan massa to'rt qavat dokadan o'tkazilgandan so'ng, gomogenat 4000 ayl./daq.da 20 daqiqa sentrifuga qilinib, cho'kma usti suyuqligi (CHUS) olindi va unga xloroform (8:1) solinib, 20 daqiqa chayqatilgandan so'ng yana 20 daqiqa 4000 ayl./daq.da sentrifuga qilindi. So'ngra CHUS ga 25% li ammoniy sulfat solib eritilib, 1 soat +4°C da saqlab, yana 5000 ayl./daq.da 20 daqiqa sentrifuga qilinib, virusli cho'kma ajratib olindi, CHUS esa tashlab yuboriladi. Cho'kma 0,02M-li (pH 7,5) FB da eritilib virus eritmaga o'tkazildi va yana 5-10 daqiqa 6000 ayl./daq.da sentrifuga qilinib virusning qisman tozalangan preparati olindi, uni butkul tozalash uchun esa gelfiltratsiya usulidan foydalanildi.

Gelfiltrasiya usulida virusni tozalash uchun dastlab 3% li agar-agar geli tayyorlab, sovutilgandan so'ng sovutgichda qoldirildi. Gel olinib gomogenizatorga FB bilan qo'shib 1 daqiqa davomida maydalandi. Maydalangan gel asosiy hajmiga nisbatan 2-3 marta ko'proq bufer solinib chayqatildi va 5 daqiqa tindirilib, ustki qismi rezina nay yordamida quyib olindi va shu vaqt davomida cho'kkan gel bo'lakchalari kolonkaga joylandi. Kolonkaga gel bo'lakchalari joylanayotganda undagi suv maksimal darajada kamaytirilib, shisha tayoqcha yordamida (orasiga havo kirib qolmasligi uchun) ohistalik bilan aralastirildi va o'lchami 2×20 sm bo'lgan xromatografik kolonka dastlab agar-agar geli (12-14 sm) va ustidan sefadeks G-200 (6-8 sm) bilan to'latildi. Gel ustiga filtr qog'ozi qo'yilib, tarkibida 0,01 M-li KCl bo'lgan 0,02 M li FB (pH 7,5) bilan kolonka 1 sutka davomida yuvilib, virusli namunani tozalash uchun tayyorlab qo'yildi.

TSK-75 geli ham 2x60 sm li xromatografik kolokaga xuddi yuqoridagidek joylandi va undan so'ng, 2 ml qisman tozalangan virus preparati joylanib gelfiltrasiya amalga oshirildi va toza preparat olindi.

### **2.2.3. Spektrofotometriya usulida virus preparatini analizi qilish**

Xromatografik kolonka yordamida tozalangan virus preparatining UB-nurini yutishiga qarab tozalik darajasi va tozalangan virus miqdori «Lomo-20» markali spektrofotometrda 220-310 nm to'lqin uzunligida o'lchanib aniqlandi [2.1; 145-146-b]. Virus miqdori ularning nur yutish ko'rsatkichi, ya'ni  $E_{260}^{0,1\%}$  1sm da UB-nurini yutish koeffitsenti asosida aniqlandi. KXV ning  $E_{260nm}^{0,1\%}$  1sm  $\approx 2,8$  ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni tashkil etadi [2.10; 10-b].

### **2.2.4. Elektron mikroskopiya usulida viruslarni aniqlash**

Tozalangan KXV preparati «Hitachi» markali elektron mikroskopda 50000× kattalashtirilib tekshirildi. Mis to'rning taglik pardasi sifatida kollodiy pardasi (amilatsetatda eritilgan 0,5% li kollodiy) yoki dixloretanda eritilgan 2% li formvar ishlatildi. Kontrastlovchi modda sifatida 2% fosforvolfram kislotasi (FVK) yoki

1% uranilatsetat ishlatildi. Virusni elektron mikroskopda aniqlash uchun tozalangan virus namunasidan 1 tomchi olinib kollodiy yoki formvar qoplangan mis to‘r ustiga tomizildi va ortiqchasi filtr qog‘oz bilan shimdirib olindi. Undan so‘ng kollodiy taglik ustidagi virus ikki daqiqa davomida 2% li fosforvolfram kislotasi yordamida kontrastlandi. Bunda virus zarrasining bo‘shliq qismlari FVK bilan to‘ladi, ya’ni negativ kontrastlandi. KXV ning elektron tasviri va morfologiyasini o‘rganish MDU ning «O‘simlik viruslari bioximiyasi» laboratoriyasi katta ilmiy xodimi b.f.n. V.K. Novikov bilan hamkorlikda bajarilgan. Buning uchun ushbu laboratoriya xodimlariga o‘z minnatdorchiligimizni bildiramiz.

## **2.3-§. Spetsifik zardob tayyorlash va uning xususiyatlarini o‘rganish**

### **2.3.1. KXVga spetsifik zardob tayyorlash**

KXV-O‘z ning toza preparati quyoning son mushaklari va kurak ostiga to‘liq Freynd ad’yuvanti bilan qo‘shib 5 marta yuborilib virusga spetsifik zardob tayyorlandi [3.1; 12-13-b]. Har bir yuborilganda esa 0,4 mg/ml dan virusni kunora 1 ml to‘liq Freynd ad’yuvanti bilan qo‘shib (1:1) yuborildi. Oxirgi in’eksiyadan 14 kun o‘tgandan so‘ng 10 ml dan hafta davomida 2 marta qon olindi va qon 2 – 3 soat termostatga 37°C da saqlanib, so‘ngra +4°C da 5 – 6 soat davomida sovutildi. Undan so‘ng denaturatsiyalangan qonning shaklli elementlaridan zardob qismi ajratib olindi. Zardobda qolgan shaklli elementlar (eritrotsitlar, leykotsitlar, trombotsitlar) 2000 ayl./daq.da 5 daqiqa sentrifuga qilinib tozalandi [2.23; 153-b]. Tozalangan zardob titri TU va IID usullari yordamida aniqlandi. Titri aniqlangan zardob solingan idishga uning titri, aniqlash usuli yozilib, 1 – 2 tomchi xloroform solib muzlagan holda saqlab qo‘yildi.

### **2.3.2. Ikkiyoqlama immunodiffuziya usuli yordamida zardob titrini aniqlash**

Tayyorlangan zardob Uxterloni ishlab chiqqan Zilber va Abelevlar tomonidan mikromodifikatsiya qilingan IID usuli yordamida aniqlandi. Bunda 1% «Difco» agarini 0,1 M fosfat buferida (pH 8,0) eritilib, 24 ml 60-65°C sovutilgan suyuq agarni «shayton» (suv tarozi) bilan gorizantal

joylashtirilgan, o'lchami 9×12 sm bo'lgan shisha plastinka ustiga quyildi. Agar-agar geli qotgandan so'ng, teshikchalar orasi 4 mm bo'lgan maxsus shtamplar yordamida yulduzchalar shaklidagi hamda to'g'ri chiziq bo'ylab chuqurchalar tayyorlandi va bu chuqurchalarga 80 mkl dan AG va zardob solingandan so'ng shisha plastinkalar maxsus moslamaga joylanib, tagiga 200 ml suv solingan eksikatorida 48 soat davomida saqlandi. Bu muddat davomida AG va AT diffuziyasi ro'y berib, ularning spetsifik to'qnashishidan pretsipitatsiya liniyalari hosil bo'ldi. Har bir reaksiya natijalari aks etgan agar bo'lakchalari yog'sizlantirilgan buyum shishasi ustiga joylashtirilib, xromatografik yoki filtr qog'oz bilan yopilgan holatda 20°C da 15-20 soat davomida quritildi. So'ngra suv tagida namlanib filtr qog'ozdan tozalandi. Tozalangan agar bo'lakchalari tarkibida 1% li amidoshvars, metanol, sirka kislotasi va suv (4:4:1) aralashmasidan iborat bo'lgan maxsus bo'yoqqa solinib 10 daqiqa davomida pretsipitatsiya chiziqlari bo'yaldi va undan so'ng preparat «yuvuvchi» suyuqlik (bo'yoqsiz metanol, sirka kislotasi va suv) bilan bir necha marta yuvildi. Quritilgandan so'ng reaksiya natijalari hisobga olindi.

IID yordamida tadqiq qilinadigan o'simlik namunasi quyidagicha tayyorlandi: o'simlik bargi hovonchada ezilib shirasi chiqarildi va 1:1 nisbatda 0,02M-li fosfat buferi (pH 7,5) bilan aralashtirildi, so'ng 8000 ayl./daq.da 10 daq. davomida sentrifuga qilingandan so'ng cho'kma usti suyuqligi olindi. CHUS AG sifatida ishlatildi [2.2; 27-b].

## **2.4-§. Immunologik usullar yordamida kartoshka viruslarini aniqlash**

### **2.4.1. Immunologik usullar sezgirligini qiyosiy o'rganish**

Buning uchun sentrifuga qilish yordamida turli aralashmalardan tozalangan virus AG bir xil  $10^{-10}$  darajagacha suyultirilib namuna tayyorlab olindi. Suyultirilgan AG tayyorlash quyida keltirilgan. Tayyor bo'lgan namunani immunologik usullar ya'ni IID, TU va IFA usulining "to'g'ri", "noto'g'ri" va "sendvich" variantlari hamda nitrotsellyulozada immunobloting usullari yordamida o'rganildi hamda natijalar asosida ularning sezgirlik darajasi qiyosiy o'rganib chiqildi.

#### **2.4.2. IFA uchun namuna yig'ish va o'simlik viruslarini diagnostika qilish**

Buning uchun kartoshka ekilgan maydonning 20 nuqtasidan, har bir nuqtadan 4 ta, jami 80 ta o'simlik bargi olinib alohida polietilen xaltachalarga joylanadi va IFA tekshirishlari uchun laboratoriya sharoitida sovutgichda (+4°C), dala sharoitida esa termos muzlatgichda saqlanadi. Yig'ilgan namunalar IFA yordamida tekshirilib o'simliklarning kasallanish darajasi aniqlandi. Ilmiy tadqiqotlar olib borishda asosan IFA ning uchta varianti ishlatildi. Ular quyidagicha bajarildi:

a) IFA ning «sendvich» varianti yordamida viruslarni diagnostika qilish uchun dastlab AT (IgG) tarkibida Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,2g), NaHCO<sub>3</sub> (0,44g), NaN<sub>3</sub> (0,03g) bo'lgan 2 ml suyultirish uchun ishlatiladigan bufer (№1) (bitta planshet uchun) va 8 ml distillangan suv bilan tayyorlangan aralashmaga 35 mkl dan solinib suyultirildi va polistirol planshetlarning har bir chuqurchasiga 100 mkl dan solinib polietilen xaltachalarga joylangandan so'ng 37°C da 3-4 soat davomida immobillandi. Ortiqcha AT ni yuvish uchun ishlatiladigan, 1l uchun tarkibida NaCl (8,0g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,2g), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1,15g), KCl (0,2g), NaN<sub>3</sub> (0,195g), distillangan suv va 0,5 ml (20 tomchi) tvin bo'lgan bufer (№2) yordamida yuvib tashlandi. Undan so'ng yig'ilgan namunalar yuvish uchun ajratilgan buferning 200 ml da tayyorlangan, tarkibida polivinilpirrolidin (PVP) (2,0g) va tuxum albumini bo'lgan ekstraksiya buferi (№3) (4:1) solinib, yaxshilab maydalanib o'simlik shirasi chiqarildi va bu shiradan 100 mkl dan olib polistirol planshetlarning chuqurchalariga solib, yuqoridagi kabi immobillandi. Ortiqcha AG yuvish uchun ajratilgan bufer (PBS-tvin) bilan uch marta yuvib tashlandi. So'ngra yuvish uchun tayyorlangan tarkibida PVP (0,4g) va tuxum albumini (0,04g) bo'lgan 20 ml buferda (№4) eritildi va unga 35 mkl kon'yugat (IgG+ishqoriy fosfataza) solinib suyultiriladi hamda polistirol planshetlarning har bir chuqurchasiga 90 mkl dan solinib, AT va AG kabi immobillanadi. Ortiqcha kon'yugat ham yuvish uchun tayyorlangan bufer yordamida uch marta yuvib tashlanadi.

So‘nggi bosqichda tarkibida dietanolamin (17,46 ml), 9,6 ml distillangan suv, HCl (2,4 ml) bo‘lgan substrat buferi (№5) dan har bir planshet uchun 2 ml va 8 ml distillangan suv aralashmasiga substrat tabletkasi (p-nitrofenilfosfat) solinib tayyorlangan substrat planshetlarning har bir chuqurchasiga 80 mkl dan quyilib 30-60 daqiqa davomida kuzatib boriladi.

b) IFA ning «to‘g‘ri» varianti yordamida kartoshka viruslarini diagnostika qilish uchun dastlab tekshiriladigan o‘simlik shirasi, ya‘ni AG polistirol plashkalarga 3-4 soat davomida 37°C da immobillanadi. So‘ngra ortiqcha AG yuvish uchun tayyorlangan bufer (№2) yordamida yuvib tashlanib, ustidan kon‘yugat solib xuddi yuqoridagidek sharoitda immobillanadi. Ortiqcha kon‘yugat ham yuvib tashlanib ustidan substrat solinib, 30-60 daqiqa davomida kuzatib boriladi.

s) Usulning «noto‘g‘ri» varianti yordamida viruslarni diagnostika qilish uchun dastlab polistirol planshetlarga tekshirilayotgan o‘simlik shirasi (AG) immobillanadi. So‘ngra ortiqcha AG yuvib tashlanib ustidan AT 3-4 soat davomida 37°C da immobillanadi, ortiqcha AT ham yuvib tashlanib, ustidan planshetlarga kon‘yugat yuqoridagidek sharoitda immobillanadi. Kon‘yugatning ham ortiqchasi yuvib tashlanib ustidan substrat solinib yuqoridagidek muddat davomida reaksiyaning borishi kuzatib boriladi va natijalar qayd etiladi.

### **2.4.3. IFA natijalarini qayd etish va virus miqdorini aniqlash**

a) IFA natijalari ikki usulda qayd etib boriladi, ya‘ni ko‘z bilan hamda «ELISA rayder» nomli maxsus qurilma yordamida. Natijalarning ko‘z bilan qayd etilishi asosan reaksiyaning rang o‘zgarishi bilan aniqlanadi. «ELISA reader» yordamida natijalarning qayd etilishi planshetlarga substrat solingandan 60 daqiqa o‘tgach aniqlanadi. Bunda planshetlar qurilmaga qo‘yiladi hamda planshet har bir chuqurchasining nur o‘tkazish ko‘rsatkichining son bilan ifodalanishiga qarab aniqlanadi. Ular quyidagicha belgilanadi: 0,500-0,799 nm «+» ni; 0,800-1,199 nm «++» ni; 1,200-1,499 nm «+++» ni; 1,500 nm va undan yuqori holatlar «++++» ni anglatadi. Qurilma yordamida qayd etilgan 0 va 0,499 nm

gacha nur sindirish ko'rsatkichiga ega bo'lgan planshet chuqurchalariga solingan namunalarda virus yo'q deb hisoblanadi.

b) IFA usuli yordamida virus miqdorini aniqlash uchun dastlab bir xil miqdorda virusli namuna olinib undan bufersiz 1 ml yuqumli shira tayyorlab olinib, uni  $10^{-10}$  gacha suyultiriladi va AT immobillanib yuvilgan planshet chuqurchalariga (ikki qaytarilishda) har probirkadagi namuna immobillanib «sendvich» varianti yordamida tekshiriladi. Bizga ma'lumki usulning bu varianti viruslarni 0,1 ng gacha aniqlay oladi [2.16; 234-235-b]. Shundan kelib chiqib eng oxirgi reaksiya bergan planshet chuqurchasidagi virus miqdorini 0,1 ng deb olinib, namuna suyulishiga teskari yo'nalishda 10 martadan ko'paytirilib virus miqdori hisoblab topildi. Uni quyidagicha tasvirlash mumkin:  $10^{-1}$  da 0,1 ng;  $10^{-2}$  da 1 ng;  $10^{-3}$  da 10 ng;  $10^{-4}$  da 100 ng;  $10^{-5}$  da 1 mkg;  $10^{-6}$  da 10 mkg;  $10^{-7}$  da 100 mkg;  $10^{-8}$  da 1 mg;  $10^{-9}$  da 10 mg;  $10^{-10}$  da esa 100 mg virus bor deb hisoblandi.

#### **2.4.4. Nitrotsellyuloza membranasida immunobloting usuli yordamida KXVni diagnostika qilish**

Buning uchun nitrotsellyuloza membranasiga yuqoridagidek holatda tayyorlab olingan virus AG va uning ustidan membrananing ochiq joylarini blakirovka qilish maqsadida maxsus oqsillar, jumladan polivinilpirrolidon (PVP) imobillandi. So'ngra uning ustidan virusga tayyorlangan antitana har bir namuna ustiga tomizab chiqildi va 30-40 daq. davomida termostatda  $37^{\circ}\text{C}$  da inkubatsiya qilindi yoki 3-4 soat davomida xona haroratida saqlansa ham bo'ladi. Undan so'ng har bir namuna ustiga konyugat quyib, uni ham xuddi yuqoridagidek inkubatsiya qilindi. Inkubasiyadan so'ng, substrat solingan idishga solib chayilgandan so'ng, suyuqlikdan olingan membranada reaksiyaning ketishi kuzatib borildi va natijalar hisobga olinadi. Natijalar membrana yuzasida rang o'zgarishi bilan boradi.

### **III-BOB. KARTOSHKKA X VIRUSINI AJRATISH, TOZA PREPARATINI OLISH VA SPETSIFIK ZARDOB TAYYORLASH**

#### **3.1-§. KXV<sub>n</sub> izolyatini ajratish va toza preparatini tayyorlash**

##### **3.1.1. Kartoshka X-virusini ajratish, biologik tozalash va konsentrlash**

Viruslarni toza preparatlarini olishni shartli ravishda ikki bosqichga ajratish mumkin. Birinchi bosqichda virusni biologik tozalash koʻzda tutiladi, yaʼni mazkur virusni indikator oʻsimliklar yordamida boshqa viruslardan, bakteriyalardan, zamburugʻlardan va mikroskopda koʻrinadigan biologik organizmlardan ajratib olinadi (ammo u gohida xoʻjayin oʻsimlikning nekrozidagi hujayralari ichida, gohida xoʻjayin oʻsimlik hujayrasida boʻladi). Bu ish avvaldan xususiyati aniq boʻlgan virusologiya amaliyotida ishlatilib kelinayotgan har bir virus uchun uning spetsifikligiga mos indikator (aniqlagich), differensiator (ajratuvchi) va toʻplovchi (virus bilan tizimli kasallanadigan) oʻsimliklardan foydalaniladi.

Kartoshkani kasallantiruvchi viruslarning har biri oʻsimlikda oʻziga xos kasallik alomatlarini, jumladan xol-xol mozaika (X), bargning mozaikali buralishi (M), bargning sargʻayishi (S), bargning burishishini (Y) keltirib chiqaradi [2.1; 100-101-b]. Koʻpgina hollarda bu viruslarning aralash holda kelishi natijasida oʻsimlikda kasallikning kuchayishiga va hosildorlikni kuchli darajada pasayishiga olib keladi [2.37; 360-b]. Bu holat viruslarning alohida xususiyatlarini oʻrganish va unga spetsifik zardob tayyorlash jarayonida bir qator qiyinchiliklarni keltirib chiqaradi. Shuning uchun ushbu ishda kartoshka X-virusini aralash infeksiyadan biologik tozalash asosiy maqsad qilib olindi. Virusni biologik tozalashda avvalo virusning yuqish yoʻllari, saqlanish darajasi, tashuvchilari kabi xususiyatlarini eʼtiborga olgan holda uni ajratish va koʻpaytirish uchun qulay xoʻjayin oʻsimlikni aniqlash muhim sanaladi.

Olib borilgan tajribalar va kuzatishlar natijasida, juda koʻp hollarda kartoshkaning X, S, M, A va Y-viruslarining aralash holda



kelib kasallikni yanada kuchaytirishi kuzatildi. Viruslarning bunday aralash kelishi aynan bir virusga spetsifik antizardob tayyorlash jarayonida bir qator qiyinchiliklarni keltirib chiqaradi. Chunki bu viruslarning xo‘jayin o‘simliklari aksariyat hollarda bir xil bo‘ladi.

Kartoshka o‘simligida xol-xol mozaika va bargning buralishi va barg plastinkasining kichrayishi, qoramtir mozaika kabi kasallik alomatlarini namoyon qilgan o‘simliklar kartoshkaning X va S-viruslari bilan, To‘yimli navida mozaika va bargning qayiqsimon buralishi kasallik alomati mavjud bo‘lgan o‘simliklar kartoshkaning L, X va M-viruslari bilan kasallik alomati bargning buralishi bo‘lgan Sante navi faqat kartoshkaning L-virusi bilan, Aqrab navi esa kasallik alomati bargning dag‘allashishi va mozaika sifatida paydo bo‘lgan o‘simliklar kartoshkaning X, S va Y-viruslari bilan kasallanganligi IFA yordamidagi olib borilgan dastlabki tekshirishlar natijasida aniqlangan [2.29; 135-b; 2.31; 24-25-b].

Viruslarni ajratish va biologik tozalashda mazkur virusni spetsifik nekroz hosil qiluvchi va tizimli kasallantiruvchi o‘simliklardan o‘tkazib boshqa virusdan tozalash ko‘zda tutiladi. Bu jarayonda virusning yuqish yo‘llarini ham hisobga olish yaxshi samara beradi. KXVni ajratish va biologik tozalash sxemasi quyida keltirilgan (3.1-rasm).

namuna => gomogen. => *D. stramonium* => *G. glabosa* => *D. stramonium*  
0,02 M FB, pH 7-8 (differensiator) (mononekroz) (to‘plovchi)

#### **1-passaj**

=> gomogenizasiya => *D. stramonium* => *G. glabosa* => *D. stramonium*  
0,02 M FB, pH 7-8 (tizimli mozaika) (mononekroz) (tizimli mozaika)

#### **2-passaj**

=> gomogenizasiya => *D. stramonium* => 72°C da 10 daq. => *N. tabacum*  
0,02 M FB, pH 7-8 (tizimli mozaika) (suv hammomi) (yashil mozaika)

#### **3-passaj**

### **3.1-rasm. KXV<sub>n</sub> izolyatini ajratish va biologik tozalash sxemasi**

Virusning KXV<sub>o</sub> izolyatini ajratish sxemasi dastlabki tadqiqotlarimizda ishlab chiqilgan edi [2.34; 48-b], bunda virusni

ajratishda asosiy tabiiy manba sifatida kartoshkaning Diyora navidan va differensiator o'simlik sifatida *Datura stramonium* o'simligidan foydalanilgan edi, KXV<sub>n</sub> izolyatining manbai sifatida esa kartoshkaning Umid navidan foydalanildi, faqatgina izolyatning HTFYDning KXV<sub>o</sub> izolyatidan yuqoriligini inobatga olib, suv hammomida 72°C 10 daqiqa davomida qizdirish amalga oshirildi, qolgan jarayonlar xuddi dastlabki biologik tozalash sxemasi singari amalga oshirildi. Izolyatni ajratishda dastlabki tadqiqotlardagi singari *Datura stramonium* o'simligidan foydalanildi, chunki bu o'simlik kartoshkani kasallantiruvchi viruslar ichida KXV dan tashqari faqatgina kartoshkaning L-virusi bilan kasallanadi, ammo bu virus mexanik usulda yuqmasligi, faqat payvandlash yoki hasharotlar yordamida yuqishi sababli tajribalarda o'simlikning bu virus bilan kasallanish xavfi bo'lmadi [2.1; 121-b; 2.42; 189-b].

*D. stramonium* o'simligida kasallik alomati uchki barglar nekrozi va sistemali mozaika sifatida paydo bo'lgandan so'ng, undan inokulum olinib *G.globosa* o'simligiga yuqtirildi, paydo bo'lgan yirik nekroz qirqib olinib 0,02 M-li FB (pH 7,5) qo'shib chinni hovonchada inokulum tayyorlandi va yana ikki marta mexanik usulda shu o'simlikdan virus mononekroz holida o'tkazilib biologik tozalanib olindi hamda virusni ko'paytirish uchun esa *Nicotiana tabacum* o'simligining *N.barley* naviga yuqtirilib ko'paytirib olindi.

Biologik tozalanganligini tekshirish maqsadida virusni bir qator indikator o'simliklari, jumladan: *D. stramonium* L., *D. metel*, *G. globosa*, *Ch. murale*, *Ch.amaranticolor* kabi o'simliklar kasallantirilib paydo bo'lgan alomatlari hamda IFA tekshirishlardan so'ng virusning biologik tozaligi aniqlandi va virus to'plovchi o'simliklarga o'tkazilib ko'paytirib olindi. Ammo virus va xo'jayin o'simlik turi kabilarga bog'liq holda bunday o'simliklarda viruslarning to'planish miqdori turli xil bo'ladi [3.7; 65-b]. Shuning uchun keyingi tadqiqotlarda qulay virus to'plovchi o'simlikni aniqlash maqsad qilib olindi. Dastlabki KXV<sub>o</sub> izolyatining qulay to'plovchi o'simligini aniqlash ustida olib borilgan tadqiqotlar natijasida bir qator o'simliklardagi virus miqdori aniqlab chiqilgan [2.33; 94-b]. Buning uchun virus bilan kasallantirilgan bir

o‘simliklardan bir xil miqdorda namuna olinib suyultirish orqali ulardagi virus miqdori aniqlandi. Namunalarning har biri bilan *G. globosa* o‘simligining bargi mexanik usulda kasallantirib paydo bo‘lgan nekroz soniga qarab natijalar aniqlandi. KXV<sub>n</sub> izolyatining ham to‘plovchi o‘simliklardagi miqdori ham xuddi shu tartibda aniqlab chiqildi hamda har ikkala izolyatning to‘plovchi o‘simliklardagi miqdori qiyosiy o‘rganib chiqildi (3.1-jadval).

Jadvaldan ko‘rinib turibdiki, kasallantirilgan barcha o‘simliklarda har ikkala izolyatlarning kasallik alomatlari 10<sup>-5</sup> da paydo bo‘lgan, ammo ulardan olingan bir xil «yuqumli shira» dan paydo bo‘lgan nekrozlar soni bilan farqlanadi. *Ch. quinoa* va kartoshka (*S. tuberosum*) o‘simliklaridan olingan namunadan nekrozlarning ko‘p paydo bo‘lganligi, ularda virusning ko‘p miqdorda to‘planishidan dalolat beradi, *Ch. amaranticolor*, *Datura stramonium* va *D. metel* kabi o‘simliklarda esa virus o‘rtacha darajada to‘planishi ma’lum bo‘ldi (3.1-jadval).

Ammo, kartoshka o‘simligi bargida mavjud bo‘lgan ayrim pigmentlar tozalash jarayoniga xalaqt berishi bilan bir qatorda, bu o‘simlikdan ko‘p virusli material yig‘ib olish biroz murakkabdir. *Ch. quinoa* va *Ch. amaranticolor* o‘simliklarida kasallik alomatlari xloritik sariq dog‘lar sifatida paydo bo‘lib, kasallantirilgan bargdan boshqasiga tarqalmaydi. Bir qator mualliflar [2.2; 76-77-b] takidlaganidek, virus to‘plovchi o‘simlik sistemali kasallik alomatlarini hosil qilsa, ulardan ko‘proq virusli material yig‘ib olishga imkon beradi. Virusning KXV<sub>o</sub> izolyati *Datura stramonium* va *D. metel* kabi o‘simliklarda sistemali kasallik alomatlarini keltirib chiqaradi va o‘simlikning butun vegetasiya davomida saqlanib turadi. Bundan tashqari, bu o‘simliklarning qulayligi shundaki, virus bilan kasallantirilgan *D. stramonium* bargi yig‘ib olinsa bir necha kundan so‘ng yana yangi barg chiqaradi va bu barglarda kasallik alomatlari doimo saqlanib turishi avvalgi tadqiqotlar natijasida aniqlangan [2.2; 76-77-b]. KXV<sub>n</sub> izolyati esa avvalgi izolyatdan farqli ravishda *D. stramonium* o‘simligida uchki barglar mozaikali burishishi va nekrozi sifatida paydo bo‘lib, o‘simlikning o‘sish va rivojlanishining sekinlashtirishi kabi alomatlarni keltirib chiqarsa, *D. metel* o‘simligini

**KXV ni to'plash va ko'paytirish uchun qulay xo'jayin o'simlikni aniqlash**

Tekshirilgan o'simliklar nomi	izolyatlar	Suyultirish darajasi, marta					
		n	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
		<i>G. globosa</i> o'simligida paydo bo'lgan nekrozlar soni, o'rtacha					
<i>Chenopodium quinoa</i> Will	KXV <sub>o</sub>	95,0±2,6	52,4±1,54	33,3±0,95	17,1±0,46	8,2±0,28	2,0±0,06*
	KXV <sub>n</sub>	103,0±2,8	67,2±1,62	37,1±0,99	15,2±0,43	4,4±0,18	2,0±0,06
<i>Solanum tuberosum</i> L	KXV <sub>o</sub>	96,1±2,41	77,3±2,13	59,3±1,65	17,2±0,43	6,2±0,17	1,2±0,03
	KXV <sub>n</sub>	85,4±2,21	68,1±2,02	49,2±1,44	26,2±0,73	8,2±0,19	2,4±0,06
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	KXV <sub>o</sub>	81,1±1,6	70,2±1,73	60,3±1,52	22,3±0,64	4,7±0,13	2,5±0,06
	KXV <sub>n</sub>	75,3±1,2	60,1±1,99	44,2±1,32	12,1±0,22	5,4±0,16	1,2±0,03
<i>Nicotiana tabacum</i> sort <i>N.barley</i>	KXV <sub>o</sub>	47,6±1,13	33,1±0,82	27,8±0,75	14,0±0,28	7,4±0,19	1,2±0,03
	KXV <sub>n</sub>	85,2±1,8	74,2±1,6	63,3±1,5	24,3±0,64	3,7±0,13	2,2±0,05
<i>Datura stramonium</i> L.	KXV <sub>o</sub>	55,1±1,56	46,4±1,28	23,1±0,64	14,3±0,39	5,4±0,15	2,0±0,06
	KXV <sub>n</sub>	30,2±0,98	25,1±0,75	10,4±0,32	8,1±0,15	4,6±0,12	2,4±0,09
<i>Datura metel</i> L.	KXV <sub>o</sub>	40,2±0,98	25,1±0,75	12,4±0,35	6,1±0,16	4,6±0,13	3,4±0,08
	KXV <sub>n</sub>	0	0	0	0	0	0

**Izoh:** jadvaldagi «0» - o'simlik virus bilan kasallanmaganligini anglatadi, «\*» - ushbu belgi bilan ajratilgan ko'rsatkichlardan keyingi suyultirish darajalarida virus yuqumliligi yo'qligini (0) bildiradi.

esa kasallantirmasli tadqiqotlar natijasida aniqlandi. Kartoshka va sho‘raning *Ch. quinoa* va *Ch. amaranticolor* kabi turlari bargi yig‘ishtirib olinsa, o‘simlik qurib qoladi. *D. stramonium* esa KXV<sub>o</sub> izolyatini ishlab chiqaruvchi haqiqiy biologik fabrikaga aylansa, bu o‘simlikdan KXV<sub>n</sub> izolyatini ko‘paytirish imkonini nekrotik alomatlarining va o‘simlik rivojlanishining sekinlashishi natijasida ko‘paytirish imkoni pasaytirishi aniqlandi. Shuning uchun ushbu izolyatni ko‘paytirishda *Nicotiana barley* o‘simligidan foydalanildi hamda virusli material to‘plab olindi.

Umuman olganda, sistemali kasallik alomatlarini keltirib chiqaradigan bangidevona va mingdevona, tamaki kabi o‘simliklardan esa ko‘p miqdorda va qayta-qayta virusli material yig‘ib olsa bo‘ladi. Bundan tashqari, ayrim o‘simliklarda taninsimon moddalar mavjud bo‘lib, ular virus tozalash jarayonida virus zarrasining toza holda olinishiga to‘sqinlik qiladi [2.15; 38-39-b; 2.39; 321-b]. Ayrim o‘simliklarda (masalan, kartoshkada) qiyin tozalanadigan moddalar bo‘lib, bu ham tozalash jarayonini bir qadar qiyinlashtiradi. Bangidevona, mingdevona va tamaki kabi o‘simliklardan virusni tozalash oson va yuqoridagi qiyinchiliklardan xoli bo‘ladi.

Olingan natijalar asosida quyidagicha xulosa qilish mumkin, demak, KXV<sub>n</sub> izolyati *D. stramonium* o‘simligi yordamida xo‘jayin o‘simligidan ajratib olindi va biologik tozalash uchun esa *G. globosa* o‘simligida paydo bo‘ladigan mononekrozdan foydalanildi. Virusning eng qulay to‘plovchi o‘simligi sifatida esa dastlabki izolyatdan farqli ravishda tamakining *Nicotiana barley* turidan foydalanishi yaxshi samara berishi aniqlandi. Bu o‘simliklardan ko‘p miqdorda virusli namuna yig‘ish va tozalash jarayonida oson maydalanishi va ko‘p miqdorda virus tozalab olish imkonini beradi.

### **3.1.2. KXV<sub>n</sub> izolyatini ajratish va uning tozalangan preparatini tayyorlash**

Viruslarning toza va faolligini saqlagan holda ajratib olish, ularning xususiyatlarini chuqurroq va atroflicha kengroq o‘rganishga, kurash choralarini ishlab chiqishga imkon yaratadi. Virus zarrasi o‘ta

kichik o'lchamli (angstrom yoki nanometrlar bilan o'lchanadi) biopolimer (m.m.  $4 \cdot 10^6$ - $50 \cdot 10^6$  va undan yuqori Dalton) bo'lgani uchun ularni tozalash va o'rganishda boshqa fanlar (biokimyoviy, molekulyar biologiya, immunologiya, biotexnologiya, fizik-kimyoviy, kristallografiya, kimyoviy fizikasi) metodlaridan keng va unumli foydalaniladi. Tozalangan virus preparatlarini tozaligini va gomogenligini (bir jinsli) hamda haqiqatdan ham ajratilgan bu preparat o'z yuqumliligini saqlab qolganligini bildiruvchi omillar bor [2.2; 106-107-b].

Toza holda ajratilgan virus zarrasini morfologiyasi, strukturasi, kimyoviy tarkibi, antigenligi, oqsil va nuklein kislotasi va boshqalarining xususiyatlari o'rganiladi, ammo viruslarning xususiyatini o'rganishda eng qiyin ishlardan biri bu - ularni tozalangan holda ajratib olish hisoblanadi [2.2; 88-b]. Dastlab biologik tozalangan viruslarni keyingi, ya'ni fizik-kimyoviy usullar – sentrifugalash, kimyoviy moddalar ta'sirida o'simlikning normal komponentlarini denaturatsiyaga uchratib tozalab olinadi, chunki toza virus preparatida faqat virus zarrasigina qolishi zarur. Turli viruslarning toza preparatini ajratib olish usullari bir-biridan farq qilib, bir virusni ajratish usuli ikkinchi virusni ajratishga qo'l kelmaydi [3.2; 126-b]. Shuning uchun tozalash usuliga ayrim o'zgartirishlar kiritiladi.

Bu virus mahalliy izolyatlarning toza preparatini olish uning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish kabi preparativ, spetsifik antizardob tayyorlash va diagnostika usullarini ishlab chiqish kabi amaliy muammolarni hal qilinishida muhim hisoblanadi [2.34; 48-b; 2.42; 124-b]. Viruslarni ajratish va tozalashda ularning biologik, fizik-kimyoviy xususiyatlariga, asosan uning yuqish yo'llariga, o'lchami, harorat ta'sirida inaktivatsiya nuqtasi kabi xususiyatlariga e'tibor berish zarur. Chunki ko'pgina fitoviruslar xo'jayin o'simlikda juda kam miqdorda to'planishi bilan bir qatorda, ayrim o'simliklarda mavjud taninsimon moddalar virusning toza preparatini olishga xalaqt beradi [2.3; 93-95-b].

KXVni tozalashning bir qator mualliflar tomonidan ishlab chiqilgan usullari mavjud bo‘lib, bu usullarda bosqichlarning ko‘pligi hamda bu bosqichlarda tozalashning “beayov” usullaridan foydalanish, yoki bo‘lmasa izoelektrik nuqtada, PEG va NaCl, ammoniy sulfat kabi tuzlar yordamida cho‘ktirish virus zarralarini ma’lum darajada agregatsiyaga uchrashiga sabab bo‘ladi [2.7; 53-b]. Shuning uchun bu bajarilgan ishda KXVning O‘zbekistonda tarqalgan mahalliy izolyatning toza preparatini tayyorlashda “yumshoq”, ya’ni gelxromatografiya usulidan foydalanildi. Kartoshka hosildorligi va sifatiga zarar keltiradigan bunday viruslarni ajratish va toza preparatni olish, ularga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishda muhim ahamiyatga ega.

Virusni ajratish uchun dastlab virus bilan kasallangan kartoshka o‘simligini IFA usulining “sendvich” varianti yordamida aniqlangandan so‘ng, bu o‘simlikdan namuna 0,02M li fosfat buferi (pH 7,5) bilan yuqumli shira tayyorlandi. Tayyorlangan yuqumli shira differensiator o‘simlik bo‘lgan *Datura stramonium* o‘simligiga yuqtirilib, virus ajratib olindi. Ushbu o‘simlikdan virusli namuna olinib, tamakining *Nicotiana barley* yuqtirilib, ko‘paytirib olindi va 20 kun o‘tgandan so‘ng virusli namuna polietilen xaltachalarga 250 g dan solinib, -4°C da muzlatib qo‘yildi. Bu hujayra komponentlari va qobig‘ining oson parchalanishiga yordam beradi.

Gelfiltrasiya uchun namuna quyidagicha tayyorlandi, buning uchun olingan virusli namunaga 0,02M li fosfat buferidan (f.b.) (pH 7,5) 1:1 nisbatda qo‘shilib, gomogenizatorida 15 daqiqa davomida maydalandi va hosil bo‘lgan massa to‘rt qavat dokadan o‘tkazilgandan so‘ng, gomogenat 5000 ayl./daq.da 20 daqiqa sentrifuga qilinib, cho‘kma usti suyuqligi (CHUS) olindi. CHUSga xloroform (8:1 nis.) solinib, 20 daqiqa davomida chayqatilgandan so‘ng, yana xuddi yuqoridagidek muddatda va tezlikda sentrifuga qilinib, CHUS olindi. CHUSga 25% li ammoniy sulfat tuzidan solib eritilib, 1 soat davomida +4°C saqlandi. So‘ngra yana 5000 ayl./daq.da 20 daqiqa davomida sentrifuga qilinib, virusli cho‘kma olindi, CHUS esa tashlab yuborildi. Cho‘kma 0,02M li (pH 7,5) f.b.da eritilib, virus eritmaga o‘tkazilgandan so‘ng, 5-10 daqiqa davomida 6000 ayl./daq.da sentrifuga qilinib CHUS

olindi. Bu virusning qisman tozalangan preparati bo'lib, uni butkul tozalash uchun esa gelxromatografiya usulidan foydalanildi.

Virus KXV<sub>0</sub> izolyatining tozalanganda preparatni olish ustida olib borilgan dastlabki tadqiqotlarimizda gelxromotografik kolonkaga joylanadigan gel quyidagicha tayyorlangan: dastlab 3% li agar-agar geli tayyorlanib sovutilgandan so'ng, sovutgichda qotirildi. Qotgan gel olinib, f.b. bilan 1 daqiqa davomida gomogenizatorida maydalandi. Maydalangan gel asosiy hajmiga nisbatan 2-3 marta ko'proq bufer solinib chayqatildi va 5 daqiqa davomida tindirilib, ustki qismi rezina nay yordamida quyib olindi. Shu vaqt davomida cho'kkan gel bo'laklari bilan xromatografik kolonka to'latildi. Kolonkaga gel bo'lakchalari joylanayotgan vaqtda undagi suv maksimal darajada kamaytirilib, shisha tayoqcha yordamida ohistalik bilan (orasiga havo qolmasligi uchun) aralashtirildi va o'lchami 2×20 sm bo'lgan xromatografik kolonkaga dastlab agar-agar geli (12-14 sm) va ustidan sefadeks G-200 granulari (6-8 sm) joylandi. Gel ustiga filtr qog'oz qo'yilib, tarkibida 0,01 M-li KCl bo'lgan 0,02 M li f.b. (pH 7,5) bilan kolonka 1 sutka davomida yuvilgandan so'ng, 2 ml qisman tozalangan virus preparati solinib, gelfiltrasiya amalga oshirildi [3.7; 74-76-b].

Materiallar va ish uslubi bo'limida keltirilgandek virusning qisman tozalangan preparati olinib, o'lchami 14×2 sm bo'lgan maydalangan 3% li agar-agar to'latilgan kolonkada gelfiltrasiya qilindi va fraksiyalarga ajratildi. Olingan fraksiyalar spektrofotometriya va indikator o'simliklar usullari yordamida tekshirib chiqilganda, virus va kichik o'lchamdagi organik birikmalar juda yaqin fraksiyalarda chiqishi ma'lum bo'ldi. Shuning uchun kolonkadagi gel ustiga 8 sm qalinlikda sefadeks G-200 ning suvdagi ivitilgan granulari joylashtirildi va bir necha soat davomida tarkibida 0,01 M li KCl bo'lgan 0,02 M li f.b. (pH 7,5) yordamida yuvildi [3.7; 74-76-b].

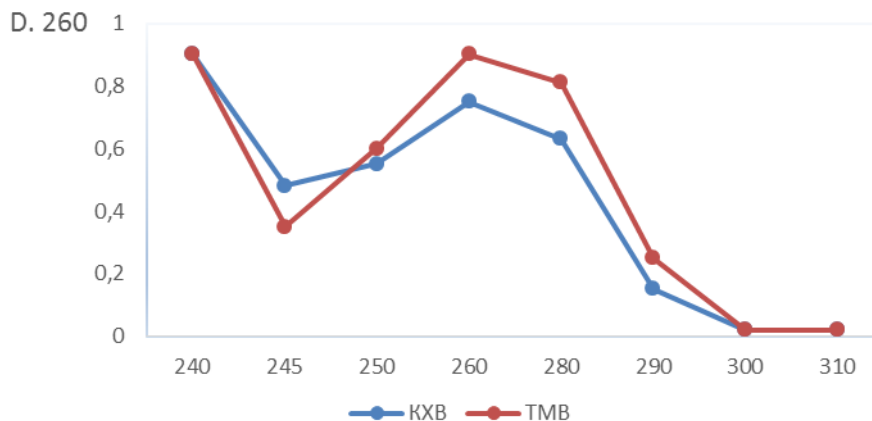
Xromatografik kolonkaga solish uchun virusli namuna materiallar va ish uslubida keltirilgandek tayyorlandi va unga oz (0,2-0,3 mg) miqdorda saxaroza solinib eritilgandan so'ng, preparat kolonkadagi bufer ostiga solinib, gelfiltrasiya amalga oshirildi. Ajralib chiqqan fraksiyalar 3 mldan alohida-alohida yig'ib olindi, elyusiya tezligi soatiga



35 ml ni tashkil etdi. Ammo ushbu yo‘nalishda olib borilgan keyingi tadqiqotlarda virus KXV<sub>n</sub> izolyatining tozalangan preparatini olishda gelfiltratsiya qilish uchun TSK (75) geli qo‘llanildi va buning natijasida elyutsiya tezligini soatiga 35 ml dan 50 ml ga oshirishga hamda 1 kg virusli namunadan olinadigan toza virus preparatini miqdorini esa 150 mg gacha oshirishga erishildi.

O‘tkazilgan tajribalar natijasida shu narsa aniqlandiki, virus kompleks kolonkada oltinchi fraksiyadan boshlab filtrlanib chiqib, 10 fraksiyaga kelib esa eng maksimal darajani namoyon qilib, undan so‘ng pasayib borgan, 12 fraksiyadan boshlab esa hujayra komponentlari chiqa boshlaganligi aniqlangan edi [2.67; 48-b]. Gelfiltratsiya jarayonida TSK gel qo‘llanilganda esa virus ajralib chiqishining dastlabki nuqtasi 10 fraksiya bo‘lib, 14 fraksiyada maksimal, 18 fraksiyada esa minimal elyusiyani namoyon qilgan bo‘lsa, o‘simlik hujayra komponentlarining 19 fraksiyadan boshlab chiqa boshlaganligi fraksiya rangi va spektrofotometrik tekshirishlar natijasida aniqlandi. Virusning elyusiyalanishining 10-16 fraksiyada ekanligi *G. globosa* o‘simligiga mexanik kasallantirish yordamida tekshirilganda unda paydo bo‘lgan nekrozlar asosida o‘z tasdig‘ini topdi. Shuningdek, fraksiyalar IFA usuli yordamida tekshirilganda ham xuddi shu fraksiyalarda (10-16) KXV borligini ko‘rsatdi. Virus ajralib chiqqan fraksiyalarning spektrofotometrik tahlili, preparat nur yutishining eng yuqori cho‘qqisi, ya’ni maksimal darajasi 260 nm ni, minimali esa 245 nm ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni tashkil etdi (3.2-rasm).

Ajratib olingan virus miqdori  $E_{260}^{0,1\%} \approx 2,8$  ga asoslanib hisoblab topildi. Modifikatsiyalangan usul yordamida 1 kg virusli materialdan 150 mg toza virus preparati ajratib olindi va yuqumlilik xususiyati *Gomphrena globosa* test-indikator o‘simligiga mexanik inokulyasiya qilish orqali hosil bo‘lgan nekroz yordamida aniqlandi. Usulning bajarilish ketma-ketligi sxematik ravishda rasmda keltirilgan (3.3-rasm).



**Izoh:** Virus toza preparatini olishda kolonka kalibrovkasi uchun TMVdan foydalanildi.

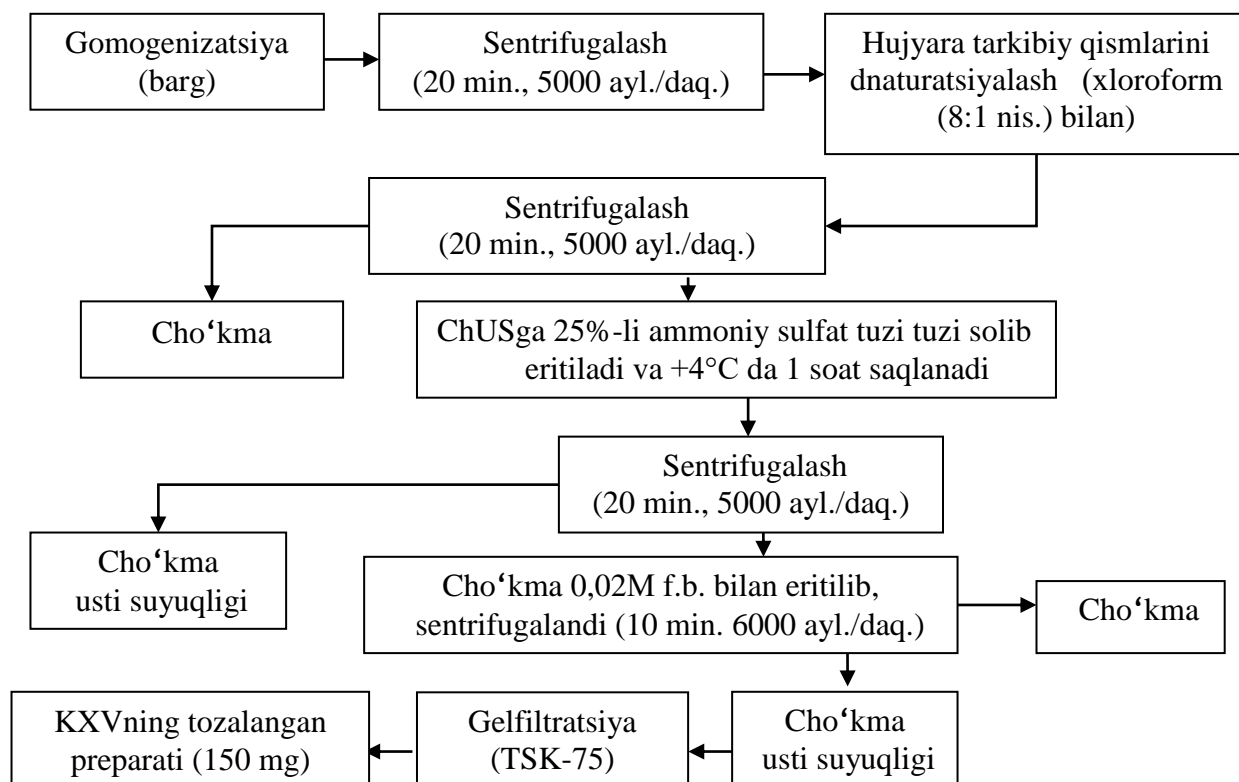
### 3.2-rasm. KXV toza preparatining spektrofotometrik tahlili

Tozalash sxemalari bosqichlarining soni va etaplari hamda unda qoʻllanilgan fizik-kimyoviy usullarning xilma-xilligi bilan bir-biridan farqlanadi. Ayrim tozalash usullarida virusni izoelektrik nuqtada choʻktirish, spirt yordamida choʻktirish yoki boʻlmasa ammoniy sulfat, polietilenglikol kabi qator tuzlar yordamida konsentrlash amalga oshirilsa, ayrim hollarda amalga oshiriladigan yuqori aylanishli ultratsentrifugalash usullarining qoʻllanilishi virus zarrasining denaturatsiyaga uchrashiga olib keladi [3.7; 23-25-b]. Shuning uchun ushbu ishda virus tozalashda gelfiltratsiya kabi yumshoq tozalash usullarining qoʻllanilishi fizik virus zarrasining parchalanishini oldini oladi va virusli materialdan koʻproq virus preparatini olish imkonini beradi.

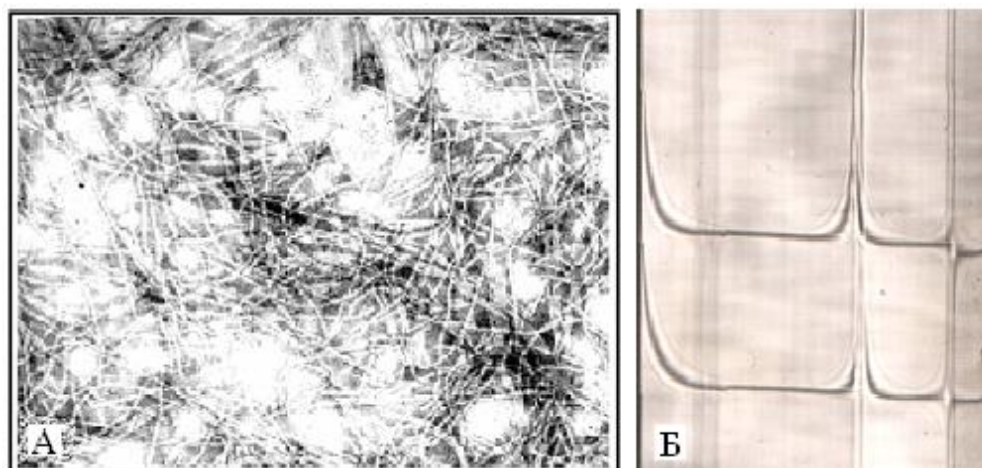
Kompleks kolonka yordamida gelfiltratsiya qilish yordamida olingan fraksiyalarni elektron mikroskopda kuzatish, 9-10 fraksiyalarda gomogen, toza preparat ajratilganligini koʻrsatdi hamda virus preparatini gomogenligini analitik ultratsentrifugada tahlili, preparat yagona “pik” bilan choʻkishi aniqlandi [2.34; 48-b] va quyida keltirilgan (3.4-rasm).

Virus toza preparatini olish uchun ishlab chiqilgan dastlabki qoʻllanilgan sefadeks va agar-agar gelidan iborat boʻlgan

gelxromatografik kolonkaning virus va boshqa makromolekulalarni fraksiyalarga ajralish prinsipini quyidagicha tushuntirib berish mumkin.



**3.3-rasm. KXVning toza preparatini olish sxemasi**



**3.4-rasm. KXV ning elektron mikroskopdagi ko‘rinishi (A)** (kontrastlash 1% li uranil atsetat yordamida amalga oshirilgan, kattalash. 50 000×) **va preparatning sedimentogrammasi (B).** Rasm sentrifuganing tezligi 24410 ayl./daq. ga etganda 19 daqiqadan so‘ng olingan: yuqoridagisi - virusning differensial ultratsentrifuga yordamida tozalangan; pastdagisi – gelfiltratsiya usulida tozalanib, IEN da konsentrlangan preparati (kons. 2 mg/ml) [3.12; 76-78-b].

Gelxromotagrafiya uchun olingan kolonkani to'ldirishda boshqa mualliflardan farqli ravishda ikki xil, ya'ni dastlab quyi qismida 3% li agar-agar (maydalangan), ustidan esa sefadeks (G-200) bilan to'latilgan edi [3.7; 76-78-b].

Bir qator adabiyotlarda sefadeks G-200 poralarining o'lchami 40-120 mkm bo'lishi va bu molekulyar massasi (m.m.) 200 kDgacha moddalarni ajratishi, undan yuqori m.m. ega bo'lgan moddalarni ajrata olmasligi keltirilgan [2.41; 70-b; 3.2; 145-b]. Agar-agar gelining foiz miqdori oshirilgan sayin uning poralar o'lchami kichrayib boradi, 3% li agar-agar poralarining o'lchami 35-40 mkm ni tashkil etadi. Bu 1000 kDgacha bo'lgan yirik makromolekulalarni ajratish imkonini beradi [3.2; 45-46-b]. Bundan tashqari ayrim mualliflar fikricha, yirik m.m. va shaklga ega bo'lgan moddalar esa poralar ichiga kirmasdan kolonkaning erkin hajmidan harakatlanadi. Boshqa bir qator mualliflar fikricha [2.5; 234-235-b], bir necha marta ishlov berish orqali qisman tozalangan virusli preparat tarkibida faqat 50-60 kD m.m.ga ega bo'lgan makromolekulalar hamda bir qator hujayra komponentlari qoladi, ular gel granulalari, jumladan, sefadeks G-200 granulalariga diffuziyalanib ushlanib qoladi, undan yirik makromolekulalar esa ajralib, kolonkaning agar-agar to'latilgan qismiga o'tib, yana xuddi yuqoridek, m.m. 1000 kDa gacha bo'lgan makromolekulalar agar-agar poralari ichiga diffuziyalanib, undan yiriklari, jumladan, virus zarralari, kolonkaning erkin hajmi orqali yuvuvchi suyuqlik (elyuent) bilan kichik molekularli moddalardan oldin yuvilib chiqadi va birinchi elyusiya cho'qqisini hosil qildi [2.2; 57-b]. TSK gel yordamida ham virus tozalash prinsipi ham xuddi yuqoridagidek amalga oshadi, ammo gel poralarining o'lchami o'zgargan sari uning makromolekulalarini ajratish darajasi farqlanadi, TSK-75 geli 1000000-3000000 D gacha bo'lgan makromolekulalarni ajratish imkoni berishi uni viruslarning toza preparatini olishda ishlatish mumkinligini ko'rsatdi [2.40; 58-b]. KXVn izolyatining toza preparatini olishda avvalgi tadqiqotlardan farqli ravishda TSK-75 geli qo'llanildi va bu bilan dastlabki tadqiqotlarda gelfiltratsiya jarayonida duch kelingan elyusiya tezligining juda pasayib ketishi hamda toza virus miqdorining oshirilishi kabilarga erishildi.

Umuman olganda, gelfiltratsiya usulini qo'llanib olingan preparat virus preparati tozalik darajasiga qo'yilgan quyidagi mezonlar asosida tekshirildi:

1. Preparatning yuqumliligi, *Gomphrena globosa* o'simligiga mexanik inokulyasiya qilish yo'li bilan tekshirildi va ijobiy natija olish bilan tasdiqlandi.

2. Tozalangan virus preparati elektron mikroskopda tekshirilganda, preparat faqat virus zarralaridangina iboratligi ya'ni gomogenligi va agregatlaridan xoli ekanligidan olingan mikrotasviri asosida aniqlandi.

3. Tozalangan virus preparati spektrofotometrda tahlili qilinganda UB-nurini maksimum 260 nm da yutishi, hamda preparat UB-nurining 230 nmdan – 320 nm to'lqin uzunligida virus spektrini o'lchanganda ham 260 nm da cho'qqisining hosil bo'lganligi, 260/280 nisbati 5-6% nuklein kislota tutuvchi viruslarda xos bo'lib, 1,2 ni ya'ni KXVga xos ekanligi tasdiqlandi.

4. Virus preparatining gomogenligi immunologik tahlil qilinganda IID usulida bitta pretsipitatsiya liniyasini namoyon qildi.

Olingan dastlabki natijalar asosida "kompleks" gellardan tayyorlangan kolonka hamda TSK (75) gelini qo'llab gelxromatografiya qilish orqali KXV toza preparati olindi. Preparat nur yutishining maksimal darajasi 260 nm ni, minimali esa 245 nm ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni, ya'ni spirall simmetriya asosida tuzilgan viruslarga xos ekanligini namoyon qildi. Preparatning tozalik darajasi va miqdori spektrofotometriya usuli, indikator o'simliklar, IID usuli yordamida aniqlandi. KXVning  $E_{260nm}^{0,1\%} 1sm \approx 2,8$  ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni tashkil etdi [2.11; 48-b].

## **3.2-§. KXV<sub>n</sub> izolyatiga poliklonal antitana tutuvchi zardob tayyorlash va xususiyatini o‘rganish**

### **3.2.1. Virusga spetsifik zardob tayyorlash va immunokimyoviy xususiyatlarini o‘rganish**

Hayvonlarga ishlab chiqilgan sxema asosida antigenni yuborish jarayoni immunizatsiya, immunizatsiyalangan hayvon qon zardobi esa zardob deb ataladi [2.27; 155-b]. Adabiyotlarda antigen strukturasi, uning miqdoriga, hayvon turiga va boshqalarga bog‘liq bo‘lgan turlicha immunizatsiya usullari keltirilgan, shu sabablarga ko‘ra immun zardoblarni olish sharoitlari empirik tarzda tanlanadi. Shunga qaramay, yuqori faollikga ega zardoblarni olish sharoitlarini tanlab olishga yordam beruvchi umumiy qonuniyatlar mavjudir [2.55; 544-b; 2.63; 79-b].

Moddaning immunogenligi ular m.m.ga bog‘liq: m.m. qanchalik yuqori bo‘lsa, immunogenlik ham shuncha yuqori bo‘ladi. Bu muhim amaliy ahamiyat kasb etib, biopolimerlarning o‘zaro (oqsil, polisaxaridlar) va boshqa oqsillar bilan immunogenligini oshiradi [2.27; 167-170-b; 2.34; 48-b]. Immunogenlikning m.m.ga bog‘liqligi quyidagi sabablari bilan belgilanadi: birinchidan, organizmda antigenning bo‘lishi vaqtining uzayishi bilan uning molekulyar og‘irligining ortishi; ikkinchidan, yuqori molekulyar antigenlarda makrofaglar bilan o‘zaro ta’sirlashuv xususiyati sezilarli ortadi; uchinchidan m.m.sining ortishi bilan, antigen determinantlar umumiy soni bilan bir qatorda ularning turli-tumanligi ortadi, bu antigenlarni B-limfotsitlar kabi T-limfotsitlar bilan ham o‘zaro ta’sirlashuvi samarasini oshiradi [2.5; 187-190-b; 2.8; 35-36-b].

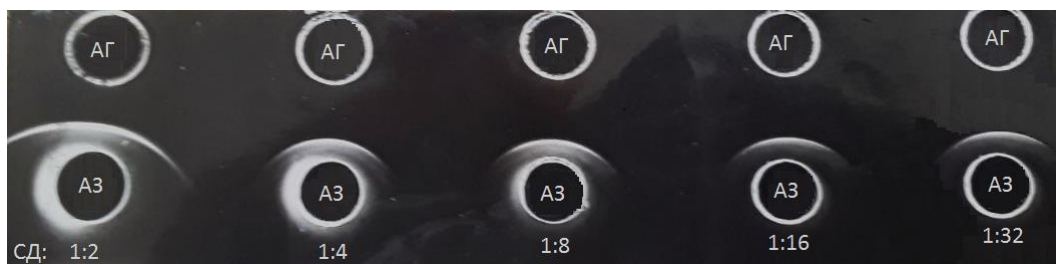
Bugungi kunda tayyorlanadigan diagnostikumlar oldiga qo‘yilgan asosiy: murakkab qurilmalar va qimmat reaktivlar talab etmasligi, diagnostika muddatining qisqaligi, bir vaqtning o‘zida bir qancha namunani tekshirish imkonining bo‘lishi hamda bajarishning soddaligi kabi talablar qo‘yadi. Bunday talablarga javob beradigan usullarga immunologik usullarni kiritish mumkin [2.27; 59-60-b]. Immunologik usullarning sezgirlik darajasi esa antizardob tayyorlanayotgan virusning antigen xususiyati, ya’ni immunokimyoviy xususiyatiga bog‘liq bo‘ladi

[2.51; 215-b]. Shuning uchun ushbu ishda KXVni ajratish, tozalash, spetsifik zardob tayyorlash va uning immunokimyoviy xususiyatlarini o‘rganish asosiy maqsad qilib belgilandi.

Buning uchun KXV xo‘jayin o‘simlikdan indikator o‘simliklarga mexanik inokulyasiya qilish yordamida ajratib olindi. Virusni aralash infeksiyadan tozalash uchun yuqorida keltirilgandek differensiator o‘simliklardan foydalangan holda, virusning fizik-kimyoviy xususiyatlarini ya’ni uning harorat ta’sirida inaktivatsiyaga uchrash nuqtasini inobatga olib, ya’ni 70-72°C 10 daqiqa davomida qizdirilib tozalab olindi [2.2; 87-b]. Aralash infeksiyadan tozalanganlik darajasi IFA usulining “sendvich” varianti va indikator o‘simliklar yordamida aniqlandi.

Virusga spetsifik antizardob tayyorlash bir necha bosqichni o‘z ichiga oladi. Buning uchun yuqoridagi boblarda keltirilganidek “biologik” va fizik-kimyoviy yo‘llar yordamida tozalangan gomogen virus preparati 4 mg/ml dan quyoning son muskullariga va kurak terisi ostiga kunora, jami 5 marta yuborildi. Har bir yuborilganda 1 ml virus preparatiga 1 ml dan Freynd ad’yuvanti qo‘shilib, stabil emulsiya paydo bo‘lguncha ohistalik bilan aralashtirilgandan so‘ng, quyon organizmiga immunizatsiya qilindi. Oxirgi immunizatsiyadan 14 kun o‘tgandan so‘ng quyon quloq venasidan birinchi marta 10 ml, uch kundan so‘ng esa yana 10 ml qon olindi. Olingan qon 1 sutka davomida xona haroratida qoldirilgandan so‘ng, sekin qon zardobi quyib olindi va qolgan qonning shaklli elementlaridan tozalash uchun 2000 ayl./daq.da 5 daqiqa davomida sentrifuga qilinib cho‘kma usti quyib olindi va zardobning titri IID va tomchi usullari yordamida uning immunokimyoviy xususiyatlari o‘rganildi (3.5-rasm).

Ushbu yo‘nalishda olib borilgan dastlabki tadqiqotlarda virusning  $X_0$  izolyatiga tayyorlangan zardobning titri 1:16 ekanligi IID yordamida o‘rganilgan [3.7; 93-95-b], keyingi tadqiqotlarda esa virusning  $X_n$  izolyatiga poliklonal AT tutuvchi zardob tayyorlandi va bu zardobning titri 1:32 ekanligi aniqlandi (4.11-rasm).



**Izoh:** rasmdagi AG – KXV<sub>n</sub> izolyati bilan kasallangan *Nicotiana barley* o‘simligi virusli shirasi ya’ni AG; AZ – toza virus preparatini quyonga yuborish orqali olingan virusga qarshi zardob; CD - esa suyultirish darajasini angalatadi.

### **3.5-rasm. KXV<sub>n</sub> - izolyatiga tayyorlangan zardobning IID usuli yordamida aniqlangan titri**

Titri aniqlangan zardob alohida flakonlarga, 0,6 ml AZ va 1-2 tomchi xloroform solib yaxshilab berkitilgandan so‘ng -4°C da saqlab qo‘yildi. Ajratilgan zardob miqdori birinchi olingan qonda 5 ml, ikkinchi olingan qonda esa 7,5 ml ni, jami 20 ml olingan qondan 12,5 ml ni tashkil etdi. Agar IFA usulida bitta namunani tekshirish uchun 10 mkl suyultirilmagan zardob sarflansa, 100 mkl 10 ta namunaga, 1 ml esa 100 ta namunani tekshirishga, 12,5 ml suyultirilmagan holatdagi AZ 1250 ta namunani tekshirishga etadi.

Antigen yuborilgan organizmda paydo bo‘ladigan zardobning titri antigen yuzasida antigen determinantlarining joylashish zichligi va miqdori ham muhim ahamiyatga ega. Bu ko‘rsatgichlar ortishi bilan immunogenlik ham avval ortadi, keyin esa kamaya boshlaydi. Dinitrofenil gaptentli guruhlar uchun ko‘rsatilishicha, qora mol albumini molekulasida 3, 16 va 25 guruhlar tutuvchi kon’yugatlar ichidan gaptentning 16 ta molekulasini tutuvchi kon’yugat maksimal antigenlikka ega bo‘lgan. Bunday samaraning sabablari hujayralararo kooperasiyaning murakkabligi bo‘lishi mumkin. Xususan, qaytariluvchi antigen determinantlarga ega (polisaxaridlar, sun‘iy antigenlar) antigenlarga qarshi immun javob berishda faqatgina B-limfotsitlar ishtirok etadi, ular T-limfotsitlarga bog‘liq emas antigenlar deb ataladi. Bu antigenlar uchun, masalan, D-aminokislotalar polimerlari uchun ham organizmda metabolizm tezligini pasaytirishi xosdir [2.5; 145-148-b].

Immunizasiyaning 2-bosqichida hayvonlar 1 oy dam olgandan so‘ng 45, 46, 47 kundagi sxemalar bo‘yicha reimmunizatsiya amalga



oshirildi. IFA amalga oshirish uchun yetarlicha titrdagi zardoblarni olish uchun, ko‘pincha immunizatsiya sikllari 4-5 marta qaytarildi va qon namunasi oxirgi ineksiyadan keyingi 7-9 kuni olindi. Bu o‘z navbatida immun javobning uzayishiga olib keladi.

Zardobni vakuum ostida ampulalarda liofillangan holatda saqlash qulaydir. Quruq holda antizardob xona haroratida o‘z immunologik faolligini 1-2 yil davomida saqlab qoladi. Muzdan eritilgan yoki suyultirilgan quruq zardobni eritmada +4°C da 1 hafta davomida saqlash mumkin, unga konservantlardan xloroform (1:10), 0,1%-li natriy azidi yoki 0,01% mertiolat solib saqlanadi. Shuni nazarda tutish kerakki, konservantlar immunoferment tahlilida marker-fermentlarning ingibitorlari bo‘lishlari ham mumkin (masalan, natriy azidi peroksidaza uchun) [2.52; 213-b].

Shunday qilib,  $X_n$  izolyatiga yuqori titrli spetsifik zardob tayyorlandi.  $X_0$  ga tayyorlangan zardobning titri 1:16 ni,  $X_n$  izolyatiga quyov quloq venasidan virus preparatini yuborish orqali tayyorlangan zardobning titri esa 1:32 ni tashkil etganligi aniqlandi. Zardobning titrini 1:32 ekanligini hisobga olsak va uni titrga muvofiq ravishda suyultirilsa, uning miqdori 62,5 ml ni tashkil etadi va bu 6255 ta namunalardan KXVni IFA va IID usuli yordamida aniqlash imkonini beradi. Umuman olganda ishning iqtisodiy samaradorligini hisoblanganda, bu virus kartoshka hosildorligini 10-59% gacha pasaytirishi qator mualliflar [2.22; 47-b; 2.65; 340-341-b] tomonidan ta’kidlab o‘tilgan. Shundan kelib chiqib, virusga tayyorlangan poliklonal AT tutuvchi zardobni ishlatib, ekish materiallarini ya’ni tuganaklarni tekshirilib hosildorlikni minimal 10% oshirishga erishildi. Kartoshkaning hosildorligini gektariga o‘rtacha 193,2 s/ga ni tashkil etishini e’tiborga olib [<https://agro-olam.uz/kartoshka-yetishtirish-texnologiyasi/>], gektariga hosildorlik (10%) 19,32 s/ga ya’ni 1932 kg ga oshadi, buni iqtisodiy tomondan hisoblanadigan bo‘lsa, 1 kg kartoshkani o‘rtacha 2000 so‘mdan hisoblansa, har gektaridan 3864000 so‘m iqtisodiy samaradorlikka erishiladi. Bundan tashqari fitopatogen viruslar diagnostikasi uchun ishlatiladigan zardob va uni ishlatishdan kelib chiqadigan iqtisodiy samaradorlik hisoblab topildi (3.2-jadval).

### Mahalliy zardob ishlab chiqarish va qo'llashning iqtisodiy reglamenti

№	Zardob tayyorlash uchun sarflangan ashyolar	Nomlanishi	Sarflangan miqdori	Narxi, so'm hisobida	Zardob narxi	Zardob sotib olishdan iqtisod qilingan daromad	Zardob qo'llanilmagan sharoitda olingan mahsulot, s/ga	Zardob qo'llanilgan sharoitda olingan mahsulot, s/ga	Farq, s/ga	Iqtisodiy samaradorlik, 1 ga/s-sum	Jami daromad, valyuta \$ hisobida
1.	Kimyoviy reaktivlar va ashyolar	Fiziologik eritma, 0,9%	5 ml	400	Mahalliy zardob, so'm hisobida 593542	562423 so'm	173,9	193,2	19,3	3860000 so'm/ga	374,3
		Freynd ad'yuvanti, to'liq	5 ml	227865							
		*Gomogen virus preparati	20 mg	120 000							
		Shprints, 2 ml li	5 ta	1500							
2.	Texnik va boshqa xarajatlar	Quyon, Shinshilla zotli	1 ta	75 000	Xorijiy import zardob, valyuta \$ hisobida 112	Daromad /54,4 \$	Daromad / 34 780 000 so'm	Daromad / 38 640 000 so'm	3860000 so'm/ga		
		Elektr toki	375 Vt	168750							
		Suv	50 l	27							

**Izoh:** <sup>\*</sup> - gomogen virus preparatining narxi preparat tayyorlash uchun ketgan reaktivlar, elektr toki, suv va boshqa xarajatlarni o'z ichiga oladi.

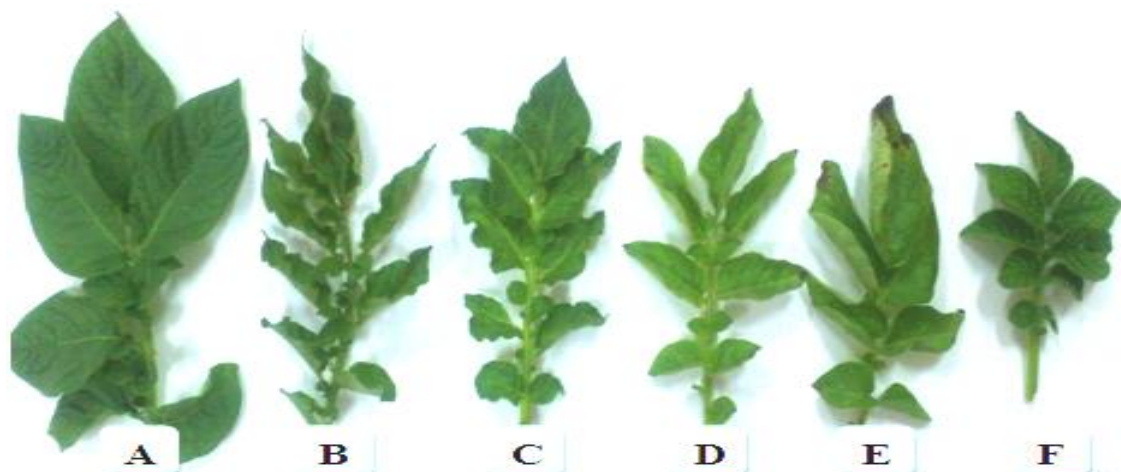
Xulosa qilib aytganda, yuqoridagi usul yordamida tayyorlangan zardob KXVni diagnostikasida, ayniqsa virus sirkulyasiyasi va tabiiy rezervator o'simliklarni aniqlash hamda virusga chidamli nav va namunalarni aniqlashda ishlatildi. Shu bilan bir qatorda zardob ishlab chiqarish va uni qo'llashning iqtisodiy samaradorligi aniqlandi.

### **3.2.2. KXV<sub>n</sub> izolyatiga tayyorlangan zardobning virus diagnostikasida qo'llanilishi**

Bugungi kungacha fitoviruslariga qator mualliflar tomonidan zardob tayyorlangan bo'lib, virusning turli xususiyatlarini aniqlashda qo'llanilgan [3.7; 26-28-b]. Kartoshka viruslariga spetsifik AT tutuvchi zardob tayyorlash ustida tadqiqotlar olib borgan mualliflar virus turi, shtammlariga bog'liq holda tayyorlangan zardob titri farqlanishini tajribalar yordamida aniqlab berishgan [2.53; 1055-b]. Mamlakatimizda ham qator fitoviruslarga mualliflar tomonidan zardob tayyorlangan va amaliyotda qo'llanilgan [2.34; 48-b; 3.2; 168-b; 3.3; 18-b; 3.6; 15-b]. Kartoshka viruslari ustida olib borilgan ushbu yo'nalishdagi dastlabki tadqiqotlarda KXV<sub>o</sub> izolyatiga spetsifik AT tutuvchi zardob tayyorlangan va amaliyotga qo'llanilgan hamda olib borilgan tadqiqotlar asosida virusga chidamli kartoshka klonlari aniqlangan [3.7; 97-99-b]. Ushbu tadqiqotlar uchun asosiy tekshirish obektlari sifatida "Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik" ITI tajriba dalasida ekilayotgan klonlar IID va IFA usullari yordamida tekshirilgan va virusga chidamliligi bo'yicha farqlanuvchi klonlar ajratilgan. O'tkazilgan tadqiqotlar asosida KXVga immun va amaliy chidamli klonlar aniqlanmagan, ammo K-1, K-2, K-3, K-6, K-10, K-11, K-27, K-29 esa kuchsiz kasallanuvchi navlar aniqlangan hamda bu klonlardan kelajakda seleksionerlar yangi nav va namunalarni yaratish uchun seleksionerlarga tavsiya qilingan [3.7; 97-99-b].

Keyingi ushbu yo'nalishda olib borilgan tadqiqotlar natijasida KXV<sub>n</sub> izolyatiga tayyorlangan yuqori titrli zardob vizual asosida aniqlangan kasallik alomatlari mavjud o'simliklardan virusni diagnostika qilishda qo'llanildi, kartoshka o'simligini monitoringi

natijasida o‘simliklarda aniqlangan ushbu virusli kasalliklarga xos bo‘lgan alomatlar rasmlarda keltirilgan (3.6-3.7-rasmlar).



**3.6-rasm. KXV<sub>n</sub> izolyatiga tayyorlangan poliklonal AT tutuvchi zardob yordamida virus diagnostika qilingan kartoshka o‘simligidagi kasallik alomatlari:** A-sog‘lom o‘simlik bargi (nazorat); B-barg plastinkasining to‘lqinsimon jingalaklanishi; C-bargning mozaikali dag‘allashi; D-bargning mozaikali buralishi; E-bargning qayinsimon buralishi; F-barg kichrayishi va pakanaligi.

Immunologik diagnostika qilingan o‘simliklar ichida qoramtir yoki xol-xol mozaika alomatlari mavjud kartoshka o‘simligi kartoshkaning X virusi bilan kasallanganligi spetsifik AT tutuvchi zardob yordamida aniqlandi (3.7-rasm).



**3.7-rasm. Virusga tayyorlangan zardob yordamida KXV diagnostika qilingan qoramtir mozaika alomatlari mavjud kartoshka o‘simligi**

Keyingi tadqiqotlarda tayyorlangan zardob yordamida kartoshka navlarining virusga chidamliligi IID va IFA usullari yordamida aniqlandi. Kartoshka o‘simligining chidamli nav va klonlarini aniqlash

qishloq xo‘jaligi, seleksiya sohasida hamda viruslarga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishda muhim sanalanadi. Bunday navlar o‘simliklarning viruslar bilan kasallanish darajasiga qarab aniqlanadi va immun - kasallanish darajasi 0%, amaliy chidamli – kasallanish darajasi 10% gacha, kuchsiz kasallanuvchi - kasallanish darajasi 25% gacha, o‘rtacha kasallanuvchi – kasallanish darajasi 50% gacha, chidamsiz – kasallanish darajasi 50% dan yuqori, kabi guruhlarga bo‘linadi [2.17; 18-20-b; 2.26; 76-b].

Buning uchun O‘zR Qishloq xo‘jaligi vazirligiga qarashli “Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik” instituti kartoshka kolleksiyasida ekiladigan 30 dan ortiq kartoshka navlaridan namunalar olinib virusga tayyorlangan zardob yordamida laboratoriya sharoitida IID va IFA usullari yordamida tekshirib chiqildi va navlarning chidamlilik guruhlari aniqlandi. Olingan natijalar jadvalda keltirilgan (3.3-jadval).

Jadvaldan ko‘rinib turibdiki, kartoshka navlarining KXV bilan eng past kasallanish darajasi Kondor va Kurado navlari bo‘lib, ularda kasallanish darajasi 5-10% ni tashkil etsa, Virgo, Nevskiy, Sarnov kabi navlarda esa kasallanish darajasi 15,3-24,7%, Diamond, Guliver, Rozara-Agate, To‘yimli, Kordinal, Armada, Aqrab, Ditte, Dezeriya, Romano kabi qator navlarning kasallanish darajasi 30-48,7% gacha ekanligi aniqlangan bo‘lsa, Red-skarlet, K-10 (Qizg‘aldoq), Fresko, Liniya (O‘zbekiston), Umid, Raduga, Alvara kabi navlarning esa kasallanish darajasi 54,2-66,7% gacha ekanligi o‘tkazilgan tekshiruvlar natijasida aniqlandi (3.3-jadval).

O‘rganilgan nav va namunalarning 73,3% Gollandiya, Germaniya va Rossiya kabi davlatlardan keltirib iqlimlashtirilgan navlar bo‘lsa, qolgan qismini mahalliy nav va namunalar tashkil etadi, ularning tabiiy holda kasallanish darajasi chidamlilik guruhlarga ajratishga asos bo‘lib xizmat qiladi. Immunologik tekshirishlar natijasida, avvalgi shu yo‘nalishda olib borilgan tadqiqotlardagi singari ushbu virusga chidamli bo‘lgan kartoshka navlari aniqlanmadi [3.7; 98-99-b], faqatgina Kondor va Kurado navlari amaliy chidamli ekanligi, Virgo, Nevskiy, Pikasso va Sarnov kabi navlar KXV bilan kuchsiz kasallanuvchi guruhga

mansubligi, o‘rtacha kasallanadigan navlarga Ditta, Romano, Arnova, Miryam, Marfona, Piskom, Diomand, Guliver, Rozara-Agate, Kordinal kabi qator navlar mansubligi aniqlangan bo‘lsa, chidamsiz navlarga esa Red-skarlet, K-10 (Qizg‘aldoq), Umid, Raduga, Alvara kabilar mansubligi aniqlandi (3.4-jadval).

3.3-jadval

**Kartoshka navlari va klonlarining KXV bilan kasallanish darajasini aniqlash**

Kartoshka nav va namunalari		kasallanish darajasi, % his.	Kartoshka nav va namunalari		kasallanish darajasi, % his.
nomi	nav yaratilgan davlat		nomi	nav yaratilgan davlat	
Pikasso	Gollandiya	23,0	Ditte	Gollandiya	35,2
Red-skarlet	Gollandiya	68,4	Deziriy	Gollandiya	45
Diomand	Gollandiya	45	Sante	Gollandiya	56,3
K-10 (Qizg‘aldoq)	O‘zbekiston	72,2	Kurado	Gollandiya	10,0
Fresko	Gollandiya	66,7	Romano	Gollandiya	30,0
Liniya	O‘zbekiston	52,9	Arnova	Gollandiya	30,0
Guliver	Gollandiya	38,7	Miryam	Germaniya	30,4
Umid	O‘zbekiston	63,2	Virgo	Germaniya	20,2
Rozara-Agate	Germaniya	48,7	Marfona	Germaniya	40,5
To‘yimli	O‘zbekiston	30,5	Nevskiy	Rossiya	15,3
Kordinal	Gollandiya	47,8	Kondor	Gollandiya	5,0
Armada	Rossiya	40	Piskom	O‘zbekiston	40,6
Raduga	Rossiya	54,2	Serhosil	O‘zbekiston	62,7
Alvara	Germaniya	66,7	Sarnov	O‘zbekiston	24,7
Aqrab	O‘zbekiston	32,9	Diyora	O‘zbekiston	61,2

**Kartoshka nav va namunalarining KXV ga chidamlilik  
guruhlari**

<b>Chidamlilik guruhlari</b>				
<b>Immun</b>	<b>Amaliy chidamli</b>	<b>Kuchsiz kasallanuvchi</b>	<b>O‘rtacha kasallanuvchi</b>	<b>Chidamsiz</b>
<b>Guruhlarga ajratish chegaralari, kasallanish darajasi bo‘yicha</b>				
0%	10%	25%	50%	50% dan yuqori
-	Kondor, Kurado	Virgo, Nevskiy, Pikasso, Sarnov	Ditte, Romano Arnova, Miryam Marfona, Piskom, Diomand, Guliver, Rozara- Agate, Kordinal, Armada, Aqrab, Deziriya, To‘yimli	Red-skarlet, K-10 (Qizg‘aldoq), Liniya, Umid, Raduga, Alvara, Sante, Serhosil, Diyora

Foiz hisobida ko‘rsatadigan bo‘lsak, birinchi guruhga (chidamli) mansub nav va namunalar aniqlanmadi, ikkinchi guruhga (amaliy chidamli) 6,6% nav mansubligi aniqlandi. Uchinchi, ya’ni kuchsiz kasallanuvchi guruhga 13,3% nav mansubligi, to‘rtinchi guruhga (o‘rtacha kasallanuvchi) 46,06% nav mansubligi aniqlangan bo‘lsa, beshinchi guruhga (chidamsiz) esa 30% nav to‘g‘ri keldi. Tekshirishlar natijasida shu narsa aniqlandiki, chidamlilik guruhlarining amaliy chidamli navlar ichida mahalliy navlar uchramadi, kuchsiz kasallanuvchi navlarning 25% mahalliy navlar tashkil qilgan bo‘lsa, o‘rtacha kasallanuvchi navlarning 21,4% mahalliy navlar ekanligi aniqlandi.

Bundan kelib chiqib shuni aytish mumkinki, chidamlilik guruhlari aniqlangan asosan, amaliy chidamli va kuchsiz kasallanuvchi navlardan kelgusida virusga chidamli navlar yaratishda foydalanilsa maqsadga muvofiq bo‘lar edi.

KXV ga tayyorlangan spetsifik AT tutuvchi zardob virus diagnostikasida qo'llanildi va vizual usulda kuzatilgan kasallik alomatlari ichidan KXVga xos bo'lgan alomatlar immunologik usul yordamida aniqlandi. Shu bilan bir qatorda tayyorlangan zardob yordamida turli kartoshka navlari virusga chidamlilik guruhlariga ajratil, bu kelajakda virusga chidamli navlarni yaratishga asos bo'lib xizmat qiladi.



## **IV-BOB. KXVNI IMMUNOLOGIK VA MOLEKULAR-GENETIK USULDA DIAGNOSTIKA QILISH HAMDA UNING FILOGENETIK TAHLILI**

### **4.1-§. Turli immunologik usullar sezgirligini KXV antigeni asosida aniqlash**

Bugungi kungacha fitoviruslar diagnostikasida qator sezgir va zamonaviy usullar qo'llanilayotgan bo'lib, ularning ichidan immunologik va molekulyar-genetik tekshirish usullari o'zining sezgirligi va fitoviruslarni nanogram miqdorda aniqlash qobiliyati mavjudligi bilan alohida ajralib turadi [2.26; 2746-b; 2.37; 359-360-b]. Ushbu bobda KXVni diagnostika qilishda qo'llanilgan qator immunologik usullarning sezgirligini aniqlash virus antigeni asosida olib borilgan. Shu bilan bir qatorda ushbu bobda virus diagnostikasida PZR usulining qo'llanilishi va mamlakatimizda tarqalgan izolyatning filogenetik tahlili bo'yicha olingan tadqiqot natijalari keltirilgan.

Bugungi kungacha o'simlik viruslarini diagnostika qilishda indikator o'simliklar, kiritmalarga asoslangan, elektronmikroskopiya va immunologik kabi bir qator usullar qo'llanilib kelinmoqda, ularning ichida immunologiyaga asoslangan usullar o'zining sezgirligi, tezkorligi va bir qator qulayliklari bilan alohida ajralib turadi [2.18; 145-b], ammo oxirgi yillarda biotexnologiyaning, ayniqsa analitik biotexnologiyaning rivojlanishi natijasida immunologik usullarning sezgir va tezkor turlari yaratilmoqda [2.30; 152-b]. Bu usullar bir vaqtning o'zida bir nechta namunani aniqlay olishi va tezkorligi, sezgirligi bilan boshqa usullardan ajralib turadi. Bunday usullar qatoriga IFA va NSMda immunobloting usullarini kiritishimiz mumkin, usulning bugungi kungacha ishlab chiqilgan bir qator turlari mavjud bo'lib, ularning ichida oxirgi yillarda viruslarni diagnostika qilishda qo'llanilib kelinmoqda [2.23; 95-b; 2.27; 345-346-b]. Bu variantlar va ba'zi immunologik usullar sezgirligini solishtirish hamda ularning ichidan eng sezgir va qulayini aniqlash muhim masalalardan biri hisoblanadi. Buni aniqlash maqsadida suyultirish orqali tayyorlangan AG namunasi olinib IFA variantlari hamda IID va TU usullarining sezgirligi avvalgi tadqiqotlarda tekshirilib solishtirilgan

edi [2.33; 94-b]. Keyingi olib borilgan tadqiqotlarda esa NSMda immunobloting usulining sezgirliги ham solishtirildi (4.1-jadval).

#### 4.1-jadval

### IFA variantlari va boshqa immunologik usullar sezgirliğini aniqlash

IFA variantlari va usullar	Suyultirish darajasi, marta										
	N	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>
	Reaksiya ko'rsatkichlari										
Tomchi usuli	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IID	++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
«noto'g'ri»	++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
«to'g'ri»	++++	++++	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-
«sendvich»	++++	++++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	-
NSM IB*	++++	++++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+

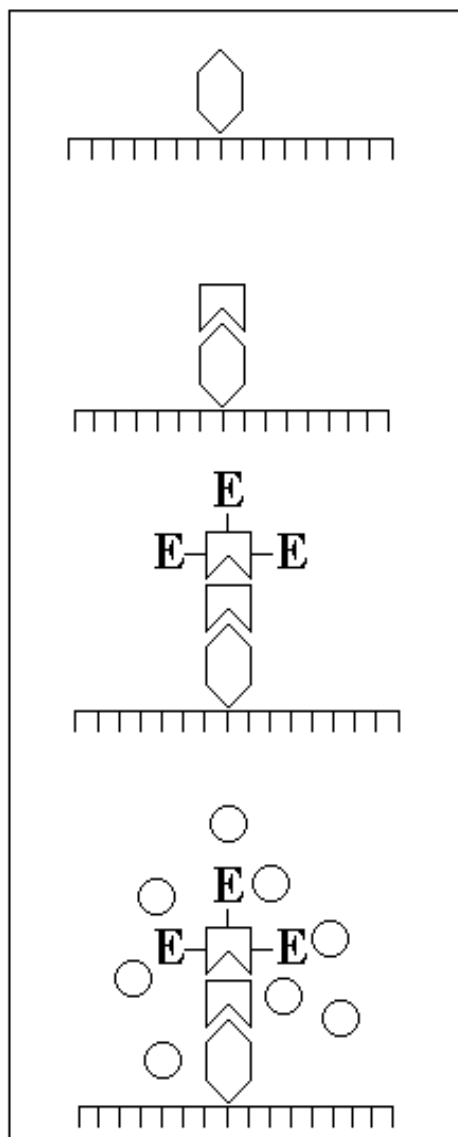
**Izoh:** jadvaldagi «+» - reaksiya ko'rsatkichi och sariq rangda, «++» - sariq, «+++» - to'q sariq, «++++» - o'ta to'q sariq rangda, «-» -rang o'zgarmaganligini, NSM IB – nitrotsellyulozada immunobloting usulini anglatadi.

O'tkazilgan tadqiqotlar natijasida NSMda immunobloting usuli KXVni 10<sup>-10</sup> va undan yuqori suyultirish darajasida ham aniqlay olishi ma'lum bo'ldi, shuning uchun keyingi tadqiqotlarda IFA variantlari sezgirligidan chetda qolgan ilmiy tadqiqot ishlarida qo'llash yaxshi natijalarga erishishga olib keladi (4.1-jadval). NSMda immunobloting usuli yordamida virusni aniqlash bosqichlari quyida keltirilgan (4.1-rasm).

Rasmdan ko'rinib turibdiki, NSMda immunobloting usulining IFAning «sendvich» varianti singari bosqichlar amalga oshiriladi, ammo bu usulda dastlab AT emas balki AG membranaga imobillanadi, yana bir farqli tomoni membrananing ochiq joylari polivinilpirrolidon (PVP), tuxum albumini yoki yog'sizlantirilgan sut oqsili kabilar bilan bloklanadi. NSMda immunobloting usulining IFA variantlardan farqli tomonlaridan teskari sendvich varianti amalga oshiriladi.

Jadvaldan ko'rinib turibdiki KXV IFA ning «to'g'ri» varianti yordamida diagnostika qilinganda, variant namunani 10<sup>-7</sup> gacha, «noto'g'ri» variantda tekshirilganda esa xuddi shu namunani 10<sup>-4</sup> gacha, «sendvich» varianti yordamida tekshirilganda esa namunani 10<sup>-9</sup>

gacha aniqlay oldi. Shu bilan bir qatorda KXV dan tayyorlangan namuna tomchi va IID yordamida ham tekshirilib usul sezgirligi taqqoslandi.





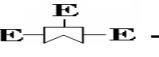

AG ni NSM ga imobillash  
Membrananing ochiq joylarini  
blokirovka qilish

ATni imobillash

Kon'yugatni immobillash

Substrat solish

SHartli belgilar:  nitrotsellyuloza membranasi – NSM

 - AG,  - AT,  - kon'yugat, substrat, 

#### 4.1- rasm. Viruslarni nitrotsellyuloza membranasida immunobloting usulida diagnostika qilish sxemasi

Tomchi usuli virusni  $10^{-1}$  gacha, IID esa namunani  $10^{-4}$  gacha aniqlay olishi qayd etilgan [3.6; 16-b]. NSMda immunobloting usulining KXVni aniqlay olish darajasi jadvalda keltirilgan (4.1-jadval).

Olingan natijalardan ko‘rinib turibdiki, KXVni diagnostika qilishda ishlatilgan IFA variantlari ichidan «sendvich» variantining sezgirliги yuqori ekanligi o‘tkazilgan dastlabki tadqiqotlarda aniqlangan edi, undan keyingi o‘rinda esa IFA ning «to‘g‘ri» varianti ekanligi va uning sezgirliги  $10^{-7}$  gacha ekanligi ma‘lum bo‘ldi, ammo bu variantning ham o‘ziga xos qulaylik tomonlari ham mavjud. Bunda birinchi navbatda qattiq fazaga AT immobillanmasdan to‘g‘ridan-to‘g‘ri AG immobillanadi va ustidan kon‘yugat adsorbsiyalanadi, bu o‘z navbatida bir qancha vaqt va AT ning tejalishiga sabab bo‘ladi, diagnostika qilish uchun ketadigan umumiy vaqt esa 9 soatu 40 daqiqani tashkil etsa, «sendvich» va «noto‘g‘ri» variantlari uchun ketadigan vaqt 14 soatni tashkil etadi, ammo «to‘g‘ri» variantning aniqlik darajasi va sezgirliги «sendvich» variantidan past ekanligi ma‘lum bo‘ldi [2.30; 152-b].

Immunobloting usulini virusologik tadqiqotlarda ishlatgan mualliflar ma‘lumotiga asosan, usulning sezgirliги PZR usuliga yaqin ekanligi keltirib o‘tilgan [3.6; 15-b].

Olib borgan tadqiqotlarda esa undan farqli o‘laroq, VBA emas balki TU ning, shu bilan bir qatorda IFA variantlari va NSMda immunobloting usullarining sezgirliги taqqoslandi va bu usulning sezgirliги IFA variantlari ichida «sendvich» variantidan ham yuqori ekanligi ma‘lum bo‘ldi. SHuning uchun ushbu usulni IFA usuli yordamida hal qilinishi qiyin bo‘lgan tadqiqotlarda qo‘llash yaxshi natijalarga erishishga sabab bo‘ladi.

#### **4.2. Kartoshka X va Y-viruslarining ba’zi hududlarda tarqalish darajasini aniqlash**

Kartoshkaning X va Y virusi dunyoning ko‘pgina kartoshka ekiladigan mintaqalarida keng tarqalgan viruslardan bo‘lib, kartoshka o‘simligida xol-xol mozaika kabi kasallik alomatlarini keltirib chiqarib, hosildorlikni 10-59% gacha pasaytirsam [2.11; 76-b], Y virusi esa o‘simlikda mozikali burishish, chiziqli mozaika kabi alomatlarni keltirib chiqarib, hosildorlikni 30-90% pasaytiradi [2.22; 47-b]. Bu viruslarning qishloq xo‘jaligi va kartoshkachilikka xavfli tomoni shundan iboratki, ular mexanik usulda, tuganak orqali va tashuvchi hasharotlar yordamida

juda keng tarqalish xususiyatiga egaligidir. Kartoshka Y virusining  $Y_o$ ,  $Y_n$ ,  $Y_c$  kabi shtammlari aniqlangan, ularning ichidan eng keng tarqalgani  $Y_o$  hisoblanadi [2.60; 446-b]. So‘nggi yillarda bu virusning  $Y_{ntn}$  shtammi aniqlangan bo‘lib, u tuganak nekrozi alomatini keltirib chiqaradi va qishloq xo‘jaligiga katta zarar keltiradi [2.40; 335-337-b; 2.57; 75-b]. Mamlakatimizda mozaikali kasalliklar ustida tadqiqot olib borgan mualliflar, N.N. Babrishev va boshqalarning olgan ma‘lumotiga ko‘ra *L. esculentum* and *C. annuum* kabi poliz ekinlarining X virusi bilan kasallanish darajasi yuqori ekanligi haqida ma‘lumotlar keltirilgan [2.18; 90-91-b].

KYB tuganak orqali ham avloddan-avlodga uzatilib, boshqa madaniy va yovvoyi o‘simliklarni ham kasallantiradi. Shu bilan bir qatorda, tadqiqotlar asosida bu virus qator tabiiy-rezervator o‘simliklarga ega ekanligi va o‘simlik shira bitlarininig 10 dan ortiq turi yordamida, jumladan *Myzus persicae* orqali aktiv tarqalish xususiyatiga ega [2.26; 160-b]. Bunday patogen viruslarga qarshi kurashish uchun asosiy e‘tiborni ularning tarqalishi va “tabiiy o‘choqlari”ni yuqori sezgirlikka ega bo‘lgan usullar yordamida aniqlash va yo‘q qilishga qaratish lozim [2.3; 210-211-b; 2.28; 143-b]. Turli xil kasallangan o‘simliklar va tuproqda qolgan o‘simlik a‘zolarining qoldiqlari bu viruslarning “tabiiy o‘choqlari” vazifasini bajarishi mumkin va virusning tarqalishida muhim ahamiyat kasb etadi [2.34; 48-b]. Viruslarning tarqalish darajasini IFA usuli yordamida o‘rganib chiqish, avval sezgirligi ancha past bo‘lgan usullar yordamida olingan ma‘lumotlarni qayta ko‘rish imkonini beradi. Shuning uchun kartoshka X va Y viruslarning tarqalish darajasi asosiy maqsad qilib olindi.

Buning uchun namunalar Toshkent viloyatining Qibray, Parkent, Toshkent va Zangi-ota tumanlaridan, har bir tumandan to‘rttadan, jami 15 ta jamoa xo‘jaligidan alohida-alohida yig‘ib olinib, laboratoriya sharoitida IFA usuli yordamida tekshirib chiqildi va olingan natijalar jadvalda keltirildi (4.2-4.3-jadvallar).

**X virusning Toshkent viloyati tumanlarida tarqalishini  
ELISA usuli yordamida o‘rganish**

Tumanlar	Fermar xo‘jaligi nomi	Birinchi tekshirish			Ikkinchi tekshirish		
		Kartoshka navlari	Er may. ga	Kasal. dar., %	Kartoshka navlari	Er may. ga	Kasal. dar., %
Qibray	Qibray agrokompleks	Ditte	6,0	5,0	Dezire	4,0	90,0
	Jaydakbaev Edil	Disera	3,5	0	Disera	1,0	70,4
	Qibray	Ditta	1,0	0	Ditta	8,0	5,4
Parkent	Boyqozon Jam-plyus	Sante	0,7	10,2	Sante	1,0	0
	Boyqozon Volid plyus	Sante	1,0	20,3	Sante	0,5	0
	Boyqozon tarnovi	Ramona	1,5	5,0	Sante	1,5	0
	Oqul Orzu rivoji	Ditta	1,0	35,0	Ditta	1,0	0
Toshkent	Abduraxmon	To‘yimli	1,5	15,5	Marfona	3,0	0
	Gulnoza Fayz-baraka	To‘yimli	1,0	5,4	To‘yimli	2,0	15,0
	Murod agro-plyus	To‘yimli	2,0	30,0	Nevskiy	3,0	15,7
	Batko agro-plyus	To‘yimli	7,0	50,0	Nevskiy	3,5	5,4
Zangi-ota	Do‘stov	To‘yimli	2,0	10,3	To‘yimli	3,0	20,5
	Yo‘ldosh						
	Yo‘lchi Hamid	Ramona	1,0	0	To‘yimli	4,0	20,3
	YUnusov	To‘yimli	1,0	50,0	To‘yimli	1,5	55,2
	Baxrom						
	Oqul Orzu riv.	To‘yimli	1,5	30,6	Nevskiy	1,5	25,0

**Izoh:** jadvaldagi “0” virus bilan kasallanishning aniqlanmaganligini bildiradi.

Qibray tumanidan olingan namunalarni dastlabki tekshirish natijasida bu hududda PVXning tuman bo‘yicha tarqalish darajasi maksimal 5% ni tashkil etgan bo‘lsa, ikkinchi, ya‘ni oradan ikki yil o‘tgandan so‘ng o‘tkazilgan tekshiruvlar natijasida virusning tarqalish darajasi 5% dan 90% gacha oshganligi aniqlandi. Parkent tumanida o‘tkazilgan tekshiruvlar natijasida dastlab virusning bu hududda tarqalish darajasi 5-20% tashkil

etgan bo'lsa, keyingi tekshiruvlar natijasida esa virus umuman aniqlanmadi. Toshkent tumanida esa dastlabki tekshiruvda virus tarqalishi 5-50% tashkil etgan bo'lsa, oradan ikki yil o'tgandan keyingi tekshiruv natijasida esa tarqalish darajasining 5-15% gacha pasayganligi aniqlandi. Zangi-ota tumanida har ikkala tekshiruvda ham virus tarqalishining deyarli o'zgarmaganligini kuzatishimiz mumkin (4.2-jadval).

Shu olingan natijalar asosida viloyat tumanlarida virusning o'rtacha tarqalish darajasi aniqlandi va gistogramma shaklida berildi (4.2-rasm). Rasmdan ko'rinib turibdiki, viloyatning Qibray tumanida dastlabki tekshirish natijasiga nisbatan keyingi tekshirishda virus tarqalishini keskin, ya'ni 50% oshganligi aniqlandi. Shu yo'nalishda ilmiy tadqiqot olib borgan bir qator mutaxassislarning fikricha [2.40; 33-b] virus bilan kasallangan tuganakning yillar davomida ekilishi virusning bir maydonda keng mashstabda tarqalishiga olib keladi. Bu tumanda ham xuddi shunday holatni, ya'ni uch yil davomida bir xil Ditta, Dezire kabi navlarning (4.2-jadval) qayta-qayta ekilishi virusning bu jamoa xo'jaliklarda keng masshtabda tarqalishiga sabab bo'lgan. Virus tarqalishi pasaygan tumanlar Parkent va Toshkent tumanlarida esa kartoshka dalalarida fitosanitariya ishlarining o'z vaqtida olib borilganligi va har yili kartoshka urug'ining yangilanganligi bilan izohlanadi (4.1-rasm). Toshkent viloyatida tekshirilgan umumiy (31,7 ga) maydonning 50,4% (16,1 ga) da mahalliy To'yimli navi, qolgan 40,6% ga Ditte, Dezire, Ramona kabi chet mamlakatlardan keltirilgan navlar ekilganligi ma'lum bo'ldi. Dastlabki tekshirishlar natijasida shu narsa ma'lum bo'ldiki, Zangi ota tumanining «Yo'lchi Hamid» (Ramona navi) va Qibray tumanining «Ismat Jumadillaev» (Ditta navi) xo'jaliklarida kartoshka o'simligining KYB bilan kasallanmaganligi (0%), Parkent tumanining «Orzuqul Orzu rivoji» (Ditta navi), Zangi ota tumanining «Yusupov Baxrom» fermer xo'jaliklarida (To'yimli navi) kartoshkaning virus bilan kasallanish darajasi 5,3-5,4% ni tashkil qilgan bo'lsa, qolgan «Qibray agrokompleks», «Boykazon Jam plyus» kabi bir qator fermer xo'jaliklarda virus bilan kasallanish darajasi 10-20% gacha ekanligi aniqlandi (4.3-jadval). Keyingi o'tkazilgan monitoring, ya'ni oradan ikki yil o'tgandan keyingi tekshiruvda ham aynan shu tuman va fermer xo'jaliklaridan namunalar yig'ib olinib, IFA usuli yordamida tekshirib chiqildi.

## 4.3-jadval

**Y virusning Toshkent viloyati tumanlarida tarqalishini  
ELISA usuli yordamida o‘rganish**

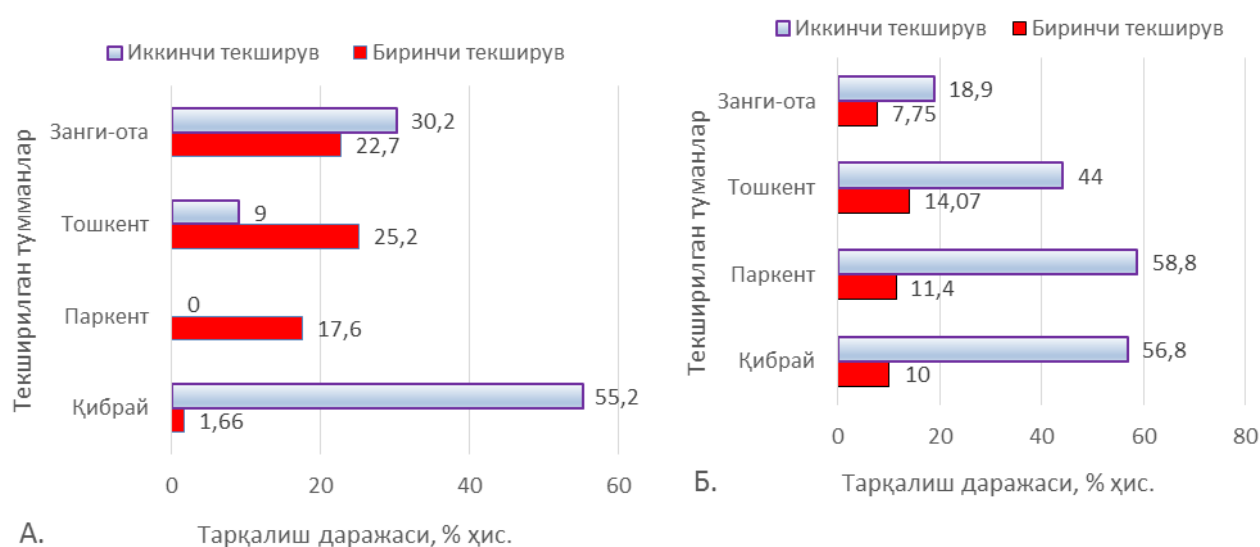
Tumanlar	Fermar xo‘jaligi nomi	Birinchi tekshirish			Ikkinchi tekshirish		
		Kartoshka navlari	Er may. ga	Kasal. dar., %	Kartoshka navlari	Er may. ga	Kasal. dar., %
Qibray	Qibray agrokompleks	Ditte	6,0	10,0	Dezire	4,0	100
	Jaydakbaev	Disera	3,5	20,0	Disera	1,0	35,3
	Edil Qibray	Ditta	1,0	0	Ditta	8,0	35,2
Parkent	Boyqozon Jam-plyus	Sante	0,7	10,2	Sante	1,0	30,0
	Boyqozon Volid plyus	Sante	1,0	20,1	Sante	0,5	80,0
	Boyqozon tarnovi	Ramona	1,5	10,0	Sante	1,5	60,3
	Oqul Orzu rivoji	Ditta	1,0	5,4	Ditta	1,0	65,0
Toshkent	Abduraxmon	To‘yimli	1,5	10,6	Marfona	3,0	70,0
	Gulnoza Fayz-baraka	To‘yimli	1,0	10,4	To‘yimli	2,0	40,1
	Murod agroplyus	To‘yimli	2,0	15,2	Nevskiy	3,0	60,2
	Batko agroplyus	To‘yimli	7,0	20,1	Nevskiy	3,5	5,7
Zangi-ota	Do‘stov	To‘yimli	2,0	10,2	To‘yimli	3,0	5,2
	Yo‘ldosh	Ramona	1,0	0	To‘yimli	4,0	45,0
	Yo‘lchi Hamid	To‘yimli	1,0	5,3	To‘yimli	1,5	15,4
	YUnusov Baxrom	To‘yimli	1,5	15,5	Nevskiy	1,5	10,0
	Oqul Orzu rivoji						

**Izoh:** jadvaldagi “0” virus bilan kasallanishning aniqlanmaganligini bildiradi.



Olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, faqatgina Zangi-ota tumanining «Ismat Raxmatillaev» (To'yimli va Nevskiy navlari) va «Do'stov Yo'ldosh» (To'yimli navi) hamda Toshkent tumanining «Batko agro plyus» (To'yimli va Nevskiy navlari) fermer xo'jaliklarida kasallanish darajasining pasayganligi, qolgan barcha fermer xo'jaliklarda esa virus tarqalishining dastlabki tekshirishga nisbatan bir necha barabar oshganligi aniqlandi.

Masalan, Qibray tumanining «Qibray agrokompleks» f/xda virus tarqalishining 10-100%, Parkent tumanining «Boyqozon Volid plyus» f/xda esa 20,1-80% gacha oshganligi ma'lum bo'ldi (4.2-jadval). Tekshirishlardan olingan natijalar tahlili asosida KYBning Toshkent viloyati tumanlarida o'rtacha tarqalish darajasi aniqlandi (4.2-rasm).



#### 4.2-rasm. Toshkent viloyati tumanlarida X va Y virusning o'rtacha tarqarqalish darajasi

Rasmdan ko'rinib turibdiki, dastlabki tekshirishda virus viloyatning Zangi-ota tumanida eng kam (7,75%), Toshkent tumanida esa tekshirilgan tumanlar ichida eng yuqori, ya'ni 14,07% tarqalganligi aniqlangan bo'lsa, keyingi monitoring natijasida Qibray tumanida 56,8%, Parkent tumanida 42,5%, Toshkent tumanida esa 44,0% tarqalganligi, ya'ni dastlabki tarqalish darajasidan bir necha baravar oshganligi ma'lum bo'ldi (4.2-rasm). Virus tarqalishining bunday darajada keskin oshib ketishi uning virulentligi, tashuvchilari, tabiiy-

rezervator o‘simliklari va ekologik sharoitga, ayniqsa shu hududdagi virus saqlovchi rezervator o‘simliklar hamda tashuvchilarga bog‘liq bo‘ladi.

### **4.3. KXVning tabiiy-rezervator o‘simliklarini NSMda immunobloting usuli yordamida aniqlash**

Kartoshka virus kasalliklarining dunyo bo‘yicha 20 dan ortiq turi XX-asr oxirlarigacha aniqlangan bo‘lsa, so‘nggi yillarda bu o‘simlikni kasallantiruvchi viruslarning 50 dan ortiq turi aniqlangan va ular o‘simliklarni turli darajada kasallanishiga sabab bo‘ladi va hosildorlikni pasaytirib qishloq xo‘jaligiga katta zarar keltiradi [2.7; 145-147-b; 2.11; 200-201-b; 2.72; 340-345-b].

Bu virus kasalliklardan biri kartoshkada xol-xollik (krapchatost) va o‘shish nuqtasi nekrozi (nekroz verxushki) kabi kasallik belgilarini kelib chiqishiga sabab bo‘luvchi kartoshkaning X-virusidir (KXV). Kartoshkaning ayrim navlarida bu kasallik belgilari umuman namoyon bo‘lmasdan yashirin holatda o‘tishi mumkin, shuning uchun X-virusni “sog‘lom kartoshka virusi” ham deb yuritiladi. Ko‘rinishi ipsimon shaklda bo‘lgan bu virusning o‘lchami  $450 \times 10$  nm dan  $600 \times 12$  nm gacha bo‘lishi mumkin [2.80; 2747-2749-b].

Kartoshkaning X-virusi sog‘lom o‘simlik organlarining kasallangan o‘simlik organlariga tegishi orqali, o‘simliklarga agrotexnik ishlov berish jarayonida va kalarado qo‘ng‘izi vositasida sog‘lom o‘simlikka o‘tadi [2.117; 1350-b], hamda hosildorlikni 10-51% gacha kamaytiradi [2.35; 45-b].

Kartoshka X-virusining tabiatda aylanishini o‘rganishda uning tashuvchi hasharotlari va rezervator o‘simliklarini aniqlash bugungi kunda muhim amaliy va nazariy ahamiyat kasb etadi. Shuning uchun ushbu o‘tkazilgan tadqiqotlarda O‘zbekiston iqlim sharoitida yovvoyi va madaniy holda o‘sadigan o‘simliklardan kartoshka X-virusining rezervatorlarini immunologik usullar yordamida aniqlash asosiy maqsad qilib olindi.

Buning uchun dastlabki olib borgan tadqiqotlarda tekshiruv ob’ektlari sifatida Toshkent viloyati iqlim sharoitida o‘sovchi kasallik alomatlari mavjud yoki hech qanday kasallik alomatlari bo‘lmagan 16

oilaga mansub 37 tur madaniy va yovvoyi o‘simliklar IFA yordamida tekshirilib virusning Toshkent viloyati hududida tarqalgan tabiiy rezervator o‘simliklari o‘rganilgan edi (Fayziev, 2009) va ushbu tadqiqotlarda reaksiya ko‘rsatkichlari noma’lum ( $\pm$ ) bo‘lgan qator o‘simliklar aniqlangan bo‘lib, keyingi tadqiqotlarda dastlabki tekshirilgan o‘simliklar bilan bir qatorda ushbu o‘simliklarni NSMda immunobloting usuli yordamida tekshirildi. Immunobloting usulini virusologik tadqiqotlarda qo‘llagan mualliflarning fikricha usulning sezgirligi yuqori bo‘lib, PZR usuliga yaqinligi qayd etib o‘tilgan [3.6; 15-b]. Olingan natijalar jadvalda keltirilgan (4.4-jadval).

#### 4.4-jadval

#### YOvvoyi va madaniy o‘simliklarda KXVni immunologik usullar yordamida aniqlash

O‘simlik oilasi va turining nomlanishi	KXVning spetsifik antizardobi	
	Reaksiya ko‘rsatkichlari	
	IFA	NSM IB*
<b>Ituzumdoshlar (<i>Solanaceae</i>)</b>		
Kartoshka ( <i>S. tuberosum</i> ) Diyora navi	+	++++
Kartoshka ( <i>S. tuberosum</i> ) Umid navi	+++	++
Kartoshka ( <i>S. tuberosum</i> ) To‘yimli navi	$\pm$	+++
Kartoshka ( <i>S. tuberosum</i> ) Sante navi	++++	+
Baqlajon ( <i>S. melon-gana</i> )	++++	++++
Ituzum ( <i>Solanum nigrum</i> )	$\pm$	++
Do‘rmon ( <i>Datura stramonium</i> )	+	++++
Mingdevona ( <i>Datura metel</i> )	$\pm$	-
Petuniya ( <i>Petunia hybrida</i> )	+++	++++
Pomidor ( <i>Luopersicum esculentum</i> Mill)	+++	++++
<b>SHo‘radoshlar (<i>Chenopodiaceae</i>)</b>		
Olabuta ( <i>Atriplex micrantha</i> C.A.Mey)	$\pm$	++
Dumbil sho‘ra ( <i>Ch. murale</i> )	$\pm$	+++
Oddiy sho‘ra ( <i>Ch. quonea</i> )	$\pm$	+

YOvvoyi gultojixo‘roz ( <i>Amaranthus retrofflexus</i> )	±	++
Qizil boshli sho‘ra ( <i>Ch. amaranticolor</i> )	±	+++
<b>Boshoqdoshlar (<i>Gramineae</i>)</b>		
Ajriq ( <i>Cynodon daktulon</i> (L) Pers)	-	-
Jo‘xori ( <i>Zea mays</i> )	±	-
Qayrilgan tulkiqyruq ( <i>Alopecurus geniculatus</i> )	±	-
G‘umay ( <i>Sorghum helepense</i> )	-	-
<b>Hiloldoshlar (<i>Cyperaceae</i>)</b>		
Salomalik ( <i>Cyperus rotundus</i> )	±	-
<b>Murakkabguldoshlar (<i>Compositae</i>)</b>		
Qo‘ytikan ( <i>Xanthium strumarium</i> )	-	-
Burgon shuvog‘i ( <i>Artemisia annua</i> L.)	±	+
Ermon shuvog‘i ( <i>Artemisia vulgaris</i> L.)	-	++
<b>Dukkakdoshlar (<i>Leguminoseae</i>)</b>		
Beda ( <i>Medicago sativa</i> L.)	-	-
Yantoq ( <i>Alhagi Adans</i> )	-	-
<b>Semizo‘tdoshlar (<i>Portulacaceae</i>)</b>		
Semizo‘t ( <i>Portulica oleraceae</i> L.)	-	-
<b>Qovoqdoshlar (<i>Cucurbitaceae</i>)</b>		
Bodring ( <i>Cucumis sativus</i> L.)	++++	++++
<b>Krestguldoshlar (<i>Cruciferae</i>)</b>		
Dala rango‘ti ( <i>Sinapis arvensis</i> L.)	±	+++
Xartol karami ( <i>Brassica juncea</i> (L) Czern)	±	++
<b>Zubturmudoshlar (<i>Plantaginaceae</i>)</b>		
Nayzabarg zubturmudosh ( <i>Plantago lanceolata</i> L.)	±	-
<b>Onagradoshlar (<i>Onagraceae</i>)</b>		
Ikki yillik onagra ( <i>Onagra biennus</i> Scop)	±	-
<b>Pechakdoshlar (<i>Convolvulaceae</i>)</b>		

Pechak ( <i>Convolvulus arvensis</i> L.)	+++	++++
<b>CHirmovuqdoshlar (<i>Cuscutaceae</i>)</b>		
Zarpechak ( <i>Cuscuta approximata</i> Babing)	±	-
<b>Labguldoshlar (<i>Labiatae</i>)</b>		
YAlpiz ( <i>Mentha asiatica</i> Boriss)	+	++
Rayhon ( <i>Ocumus basilicum</i> )	-	-
<b>Gulxayridoshlar (<i>Malvaceae</i>)</b>		
Gulxayri ( <i>Althaea officinalis</i> L.)	++++	++++
Tugmachagul ( <i>Malva neglecta</i> Wall)	+++	+++
Dag'alkanop ( <i>Abutilon theophrasti</i> Medic)	±	-
<b>Otquloqdoshlar (<i>Poiygonaceae</i>)</b>		
Otquloq ( <i>Rumex crispus</i> L.)	+++	+++
Suriya otqulog'i ( <i>R. syriacus</i> Meisn)	-	-

**Izoh:** "-"-reaksiya umuman yo'q; "±"-reaksiyaning bor yo'qligi mavhum;"+" -reaksiyaning o'tishi o'ta och sariq rangda; "++" - reaksiyaning o'tishi sariq rangda; "+++"- reaksiyaning o'tishi to'q sariq rangda; "++++"- reaksiyaning o'tishi o'ta to'q sariq rangda ekanligini; NSM IB nitrotsellyuloza membranasida immunobloting ususlini anglatadi.

Jadvaldan ko'rinib turibdiki, X-virus kartoshkadan tashqari bodring (*Cucumis sativus* L), ituzum (*Solanum nigrum* L), jingalak otquloq (*Rumex crispus* L), do'rmon (*Datura stramonium*), baqlajon (*Solanum melon - gana* L), petuniya (*Petunia hybrida*), xartol karam (*Brassica juncea* (L) Czern), qo'ypechak (*Convolvulus arvensis* L), dorivor gulxayri (*Althaea officinalis* L), pomidor (*Lycopersicum esculentum* Mill), tugmachagul (*Malva neglecta* Wall) kabi o'simliklarda saqlanishi aniqlandi. Ajriq (*Cynodon daktulon* (L) Pers), qo'ytikan (*Xanthium strumarium*), g'umay (*Sorghum helepense*), bulg'or qalampiri (*Capsicum annum* L), rayhon (*Ocumus basilicum* L) kabi o'simliklarda virusning yo'qligi IFA tekshirishlari va keyingi NSMda immunobloting usuli yordamida o'tkazilgan tekshirishlar natijasida ham o'z tasdig'ini topdi (4.4-jadval).

IFA usuli yordamida o'tkazilgan tekshirishlar natijasida olabuta (*Atriplex micrantha* C.A. Mey), sho'ra (*Chenopodium quinoa*),

salomaleykum (*Cyperus rodundus*), mingdevona (*Datura metel*), oq sho‘ra (*Amaranthus retroffexus* L), rango‘t (*Sinapsis arvensis* L) kabi o‘simliklarda virus bor yo‘qligi noma‘lum, ya‘ni reaksiya ko‘rsatkichi “+” ni namoyon qilgan edi [2.30; 152-b; 2.32; 24-29-b]. Keyingi tadqiqotlarda NSMda immunobloting usuli yordamida ushbu o‘simliklar tekshirib chiqildi va virusning olabuta (*Atriplex micrantha* C.A.Mey), ituzum (*Solanum nigrum*), mingdevona (*Datura metel*), dumbil sho‘ra (*Ch. murale*), oddiy sho‘ra (*Ch. quonea*), yovvoyi gultojixo‘roz (*Amaranthus retroffexus*), burgon shuvog‘i (*Artemisia annua*), ermon shuvog‘i (*Artemisia vulgaris*), dala rango‘ti (*Sinapis arvensis* L.), xartol karami (*Brassica juncea* (L) Czern) kabi IFA sezgirligidan chetda qolgan virusning yangi tabiiy rezervator o‘simliklari aniqlandi (4.4-jadval).

Yuqoridagi ma‘lumotlarga asoslanib shuni ta‘kidlash lozimki, kartoshkaning X-virusi ituzumdoshlar (*Solanaceae*), gulxayridoshlar (*Malvaceae*), butguldoshlar (*Cruciferae*), gultojixo‘rozdoshlar (mochindoshlar) (*Amaranthaceae*), murakkabguldoshlar (*Compositae*) oilasiga mansub bir va ko‘p yillik o‘simliklarni kasallantiradi va ularda turli miqdorda to‘lanadi (3+,4+). Demak, bu o‘simliklar shubhasiz kartoshka X-virusining rezervator o‘simliklari bo‘lib xizmat qiladi.

Kartoshkaning virus kasalliklari Kvayner, Botes, SHulsem, Folsom, Kassanis, Martin, Yora, Morel, Ambrosovlar tomonidan 1916 yildan buyon Angliya, Gollandiya, AQSH, Germaniya, Rossiya, Estoniya kabi mamlakatlarda o‘rganib kelingan [2.5; 326-b; 2.18; 104-b; 2.42; 145-b]. Ammo O‘zbekiston sharoitida qilingan ishlar sezgirligi indikator o‘simliklar, tomchi usuli yoki ABV-test sezgirligi darajasidagina (0.2 mkg/ml) amalga oshirilgan. Ko‘pgina rezervator o‘simliklar, kartoshka navlaridagi oz miqdordagi viruslar uslub sezgirligi darajasidan chetda qolavergan. Mazkur ishda biz sezgirlik darajasi 0.01ng miqdorda bo‘lgan va o‘ta spetsifik, yuqori titrli antizardoblardan foydalandik [2.2; 123-b; 3.1; 24-b; 3.4; 156-b; 3.7; 66-b].

Ko‘pgina o‘simliklar esa simptomtsiz va birinchi marta tahlil qilinmoqda. Masalan, birinchi marta o‘rganilgan o‘simliklar quyidagilar, bodring (*Cucumis sativus* L), jingalak otquloq (*Rumex*

*crispus* L), xartol karam (*Brassica juncea* (L) Czern), dorivor gulxayri (*Althaea officinalis* L), tugmachagul (*Malva neglecta* Wall) dan tashqari virusni yashirin holda saqlovchi olabuta (*Atriplex micrantha* C.A.Mey), ituzum (*Solanum nigrum*), mingdevona (*Datura metel*), dumbil sho‘ra (*Ch. murale*), oddiy sho‘ra (*Ch. quonea*), yovvoyi gultojixo‘roz (*Amaranthus retroflexus*), burgon shuvog‘i (*Artemisia annua*), ermon shuvog‘i (*Artemisia vulgaris*) kabi tabiiy rezervator o‘simliklar aniqlandi. Demak, hech qanday shubha yo‘qki, bu o‘simliklar fitovirusologiyada birinchi marta rezervatorlar qatoriga kiritilmoqda.

## XOTIMA

Mavzuga oid olib borilgan tadqiqotlar natijasida KXVning Umid navida qoramtir sistemali mozaika alomatlarini keltirib chiqaruvchi “nekrotik” ( $KXV_n$ ) izolyati ajratildi va dastlabki olib borilgan tadqiqotlar natijasida “Diyora” navida xol-xol mozaika kasallik alomatlarini keltirib chiqaradigan “oddiy” izolyati bilan solishtirildi va izolyatlarning test-indikator o‘simliklardagi kasallik alomatlari o‘rganildi. Buning uchun laboratoriya sharoiti va tajriba maydonida o‘stirilgan beshta oila, 16 turga mansub, dastlabki tadqiqotlarda foydalanilgan test-indikator o‘simliklar mexanik inokulyasiya qilinib, ularda kasallik alomatlari paydo bo‘lish hamda alomatlaridagi o‘xshashlik va tofovutlar o‘rganildi.

Demak, olib borilgan tadqiqotlar natijasida mamlakatimiz iqlim sharoitida tarqalgan, kartoshka o‘simligining Umid navida tizimli qoramtir mozaika alomatlarini keltirib chiqaruvchi, *Datura stramonium*, *Ch. murale*, *G. globosa* kabi o‘simliklarda yirik nekrozlarni paydo bo‘lishiga olib keluvchi “nekrotik”  $KXV_n$  izolyati ajratildi va Diyora navida xol-xol mozaika, *D. stramonium* o‘simligida esa odiy tizimli mozaika alomatlarini keltirib chiqaruvchi virusning “oddiy”  $KXV_o$  izolyati bilan solishtirib, test-indikator o‘simliklari yordamida identifikatsiya qilindi va kasallik alomatlari o‘rganib chiqildi.

Bundan tashqari virusning o‘simlikdagi peroksidaza fermenti miqdoriga ta’sir darajasi ham o‘rganildi. Buning uchun  $KXV_n$  izolyati bilan kasallangan va sog‘lom *D. stramonium* o‘simligida peroksidaza dinamikasi o‘rganildi. Olingan natijalar asosida shu narsa ma’lum bo‘ldiki, nazoratga nisbatan kuchsiz kasallangan o‘simlikda peroksidazaning eruvchan shakli sog‘lom o‘simlikka nisbatan oshganligi, ya’ni 21,0 mmol/ml ni, o‘rtacha darajada kasallangan o‘simlikda ferment faolligi 12,5 mmol/ml ni, kuchli darajada kasallangan o‘simlikda esa uning faolligi ikki baravar pastligi, ya’ni 7,4 mmol/ml ekanligi ma’lum bo‘ldi. Hujayra devori bilan kuchsiz bog‘langan ferment turining faolligi sog‘lom o‘simlikda ferment faolligi 9,75 mmol/ml ni tashkil etgan bo‘lsa, kuchsiz darajada kasallangan o‘simlikda 14,0 mmol/ml ni, o‘rtacha kasallangan o‘simlikda 8,0



mmol/ml ni, kuchli darajada kasallangan o‘simlikda esa 24,0 mmol/ml ni tashkil etdi.

KXV<sub>n</sub> izolyatini ajratish, biologik tozalash sxemasi ishlab chiqildi. Buning uchun izolyatning tabiiy manbai sifatida kartoshkaning Umid navidan, differensiator o‘simlik sifatida *D. stramonium* o‘simligidan foydalanildi. Virusni boshqa viruslardan biologik tozalashda esa *G. globosa* o‘simligidan mononekroz holida o‘tkazilib biologik tozalanib olindi. Virusni aralash infeksiyadan tozalash maqsadida, virusli shira 72°C da 10 daqiqa davomida ushlab turildi va tamakining *Nicotiana barley* navida ko‘paytirilgan virusli namuna polietilen qopchalarga 250 g dan joylandi va toza preparat olish uchun muzlatilgan holatda saqlab qo‘yildi.

KXV<sub>n</sub> izolyatining tozalangan preparati virusli namunani 0,02M li FB (pH 7.5) solinib gomogenizatsiya qilish, organik erutuvchilar bilan hujayra komponentlarini denaturatsiyalash, past aylanishda sentrifuga qilish va 25% li ammoniy sulfat yordamida cho‘ktirish orqali qisman tozalangan virus preparati TSK geli yordamida gelfiltratsiya qilish orqali olindi. Olingan virus preparati spektrofotometr yordamida 220-320 nm to‘lqin uzunligida o‘lchanganda, preparatning UB-nurini minimal yutish ko‘rsatkichi 245 nm, maksimal ko‘rsatkichi esa 260 nm ni, 260/280 ga nisbati 1,2 ni, ya’ni spiral simmetriya asosida tuzilgan viruslarga xos bo‘lgan ko‘rsatkichni namoyon qildi. Ajratib olingan virus miqdori  $E_{260}^{0,1\%} \approx 2,8$  ga asoslanib hisoblab topildi. Modifikatsiyalangan usul yordamida 1 kg virusli materialdan gelfiltratsiya jarayonida TSK-75 gelini qo‘llab elyusiya tezligini soatiga 35 ml dan 50 ml ga hamda toza virus preparatini esa 150 mg gacha oshirishga erishildi.

KXV<sub>n</sub> izolyatiga poliklonal AT tutuvchi zardob tayyorlandi va immunokimyoviy xususiyatlarni aniqlandi. Zardob tayyorlash usuli avvalgi tadqiqotlardan farqli ravishda quyon quloq venasi orqali ham antigen yuborish orqali amalga oshirildi. Dastlabki tadqiqotlarda virusning X<sub>o</sub> izolyatiga tayyorlangan zardobning titri 1:16 ni tashkil etgan, keyingi tadqiqotlarda esa X<sub>n</sub> izolyatiga tayyorlangan poliklonal AT tutuvchi zardobning titri 1:32 ekanligi ma’lum bo‘ldi. Zardobning titriga muvofiq ravishda suyultirilsa, miqdori 62,5 ml ni tashkil etadi, bu

6255 ta namunalardan virusni aniqlash imkonini beradi. Tayyorlangan zardob virusning tabiiy sirkulyasiyasi va rezervator o'simliklarni aniqlash hamda virusga chidamli nav va namunalarni aniqlashda ishlatildi. Buning uchun "Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik" instituti tajriba dalasida ekilgan 30 ta navlardan alohida-alohida namuna olinib, laboratoriya sharoitida IFT yordamida tekshirilib va chidamlilik darajasiga muvofiq guruhlariga ajratildi.

Tekshirishlar natijasida, KXV ga virusga immun bo'lgan kartoshka navlari aniqlanmadi, faqatgina Kondor va Kurado navlari amaliy chidamli ekanligi, Virgo, Nevskiy, Pikasso va Sarnov kabi navlar KXV bilan kuchsiz kasallanuvchi guruhga mansubligi, Ditta, Romano, Arnova, Miryam, Marfona, Piskom, Diomand, Guliver, Rozara-Agate, Kordinal kabi qator navlar esa o'rtacha kasallanadigan guruhga mansubligi ma'lum bo'ldi. Olingan natijalar asosida quyidagicha xulosa qilish mumkin, demak, tekshirilgan nav va klonlar ichida KXV ga immun navlar aniqlanmadi, ammo Kurado, Kondor kabi navlar amaliy chidamli; Virgo, Nevskiy, Pikasso va Sarnov navlar esa kuchsiz kasallanuvchi nav va klonlar ekanligi aniqlandi. Bu nav va klonlardan kelajakda seleksionerlar yangi nav va namunalarni yaratishda uchun tavsiya etildi.

KXVning immunologik diagnostikasi davomida bir qator immunologik usullar sezgirligi KXV antigeni asosida o'rganildi va keyingi tadqiqotlarda esa nitrotsellyuloza membranasida immunoblotting usulining sezgirligini boshqa usullar bilan solishtirib, uning sezgirligi  $10^{-10}$  va undan yuqori ekanligi aniqlandi. SHuning uchun keyingi tadqiqotlarda IFT variantlari qo'llanilib olingan ba'zi noaniq bo'lgan natijalar ushbu usul yordamida qayta ko'rib chiqildi.

## XULOSALAR

Ushbu mavzu bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar asosida quyidagi xulosalar taqdim etildi:

1. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar asosida KXVning bir-biridan farq qiluvchi xo'jayin o'simlikda oddiy mozaika alomatini keltirib chiqaruvchi "oddiy"  $X_o$  va *Datura stramonium* o'simligida barg eti nekrozi alomatini keltirib chiqaruvchi "nekrotik"  $X_n$  izolyatlari ajratildi va uning ayrim xususiyatlari o'rganildi.

2. Virus differensiator *D. stramonium* o'simligi yordamida xo'jayin o'simlikdan ajratilib, *G. globosa* o'simligi yordamida mononekrozdan o'tkazish orqali biologik tozalandi va to'plovchi *Nicotiana barley* o'simligida ko'paytirib olindi hamda gelfiltratsiya qilish orqali tozalangan preparati olindi, preparat nur yutishining maksimal darajasi 260 nm ni, minimali esa 245 nm ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni, ya'ni spiral simmetriya asosida tuzilgan viruslarga xos ekanligini namoyon qiladi.

3. Gomogen virus preparati asosida  $KXV_n$  izolyatiga spetsifik poliklonal AT tutuvchi zardob tayyorlandi, tayyorlangan zardobning titri 1:32 ni tashkil etdi hamda olingan zardob IID, IFT kabi usullarda ishlatilib, virus bilan kuchsiz kasallanuvchi Kurado, Kondor kabi amaliy chidamli; Virgo, Nevskiy, Pikasso va Sarnov kabi kuchsiz kasallanuvchi navlar aniqlandi va seleksionerlarga virusga chidamli navlar yaratish uchun tavsiya etildi.

4. NSMda immunobloting usuli yordamida 16 oilaga mansub 32 tur o'simliklar tekshirilib, virusning olabuta (*Atriplex micrantha* C.A.Mey), ituzum (*Solanum nigrum*), dumbil sho'ra (*Ch. murale*), oddiy sho'ra (*Ch. quonea*), yovvoyi gultojixo'roz (*Amaranthus retrofflexus*), burgon shuvog'i (*Artemisia annua*), ermon shuvog'i (*Artemisia vulgaris*), dala rango'ti (*Sinapis arvensis* L.), xartol karami (*Brassica juncea* (L) Czern) kabi IFT sezgirligidan chetda qolgan yangi tabiiy rezervatorlari qayd etildi.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

### I. Normativ huquqiy-hujjatlar va metodologik ahamiyatga molik nashrlar

- 1.1. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son «O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida»gi Farmoni.
- 1.2. O‘zbekiston Respublikasining «O‘simliklar karantini to‘g‘risida»gi 1995 yil 31 avgustida 113-I-sonli Qonuni va ushbu qonunga o‘zgartish va qo‘shimchalar kiritish to‘g‘risidagi 2018 yil 9 iyulida O‘RQ-484-sonli Qonuni.
- 1.3. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining «O‘zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasi huzuridagi O‘simliklar karantini davlat inspeksiyasini tashkil etish to‘g‘risida» 2017 yil 30 avgustdagi PF-5174-son Farmoni.
- 1.4. O‘zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining “O‘simliklarni himoya qilish tuzilmasini takomillashtirish va samaradorligini oshirish chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi 2004 yil 29 martdagi 148-sonli Qarori.

### II. Monografiya, ilmiy maqola, patent, ilmiy to‘plamlar

- 2.1. Ambrosov A. L. Virusные болезни картофеля и методы выращивания здоровых клубней. / –Minsk: Uroжай, 1964. -199 s.
- 2.2. Vahobov A.H. Umumiy virusologiyadan amaliy mashg‘ulotlar. I-jild, –Toshkent: Universitet, 2004. – 150 b.
- 2.3. Vlasov YU.I., Larina E.I. Selskoxozyayestvennaya virusologiya./ – M.: Kolos, 1982. – 237 s..
- 2.4. Veysman I.L., Xud L.E., Vud U.B. Vvedenie v immunologiyu. – Moskva: Vysshaya shkola, 1983. –158 c.
- 2.5. Gibbs A., Xarrison B. Основы вирусологии растений / – Moskva: Mir, 1978. – 429 c.
- 2.6. Gnutova R.V., Kakareka N.N. Immunodiagnostika virusov porajayushix selskoxozyayestvennyye kultury // Stanovlenie i razvitie fitovirusologii na Dalnem Vostoke. – Vladivostok, 2002. - S. 193-202.
- 2.7. Gnutova R.V., Sibiryakova I.I., Korj V.G. SHtammovyye sostav Y-virusa kartofelya (immunologicheskaya xarakteristika) // Sbornik nauchnyx trudov VASXNIL. – Novosibirsk, 1990. -S. 50-58.

- 2.8. Gnutova R.V., Sibiryakova I.I., Radavskiy Yu.L., YArvekyulg L.YA., Zayseva L.S. Antigennaya karakteristika kapsidnykh belkov shtammov U-virusa kartofelya / Biol. nauki. -Vladivostok, 1991. - №11. - S. 35-36.
- 2.9. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Taksonomiya semeystva potivirusov. Kriterii klassifikatsii virusov // Selskoxozyaystvennaya biologiya. – Vladivostok, 2002. - №5. - S. 85-91.
- 2.10. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Virusy i ix shtammy, porajayushchie ovochnye kultury (Dalnevostochnye izolyaty) // Agroekologichniy jurnal: Spets. vyr. –Vladivostok, 2002. - S. 6-14.
- 2.11. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Fitopatogenные virusy i ix shtammy, identifitsirovannyye na aziatskoy territorii Rossii // Mikrobiologicheskij jurnal. –Moskva. 2004.- T. 66. - №4. - S. 48-55.
- 2.12. Gazaryan I.G. Osobennosti struktury i mexanizma deystviya peroksidaz rasteniy // Uspexi biologicheskoy ximii – 2006. – T. 46. – S. 303-322.
- 2.13. Dyakonov K.P. Ekologicheskaya karakteristika polevoy populyasii tley (Homoptera, Aphididae), vredyayushch soy. // Agrarnaya nauka-selskoxozyaystvennomu proizvodstvu Dalnego Vostoka: K 75 letiyu obrazovaniya Rosselxoz akademii. - Vladivostok. 2005. - S. 403-407.
- 2.14. Dyakonov K.P. Itogi izucheniya nasekomykh-perenoschikov virusov rasteniy Dalnego Vostoka Rossii (fundamentalnye i prikladnye aspekty issledovaniy). // Stanovlenie i razvitie fitovirusologii na Dalnem Vostoke Rossii. - Vladivostok. 2002. - S. 155-174.
- 2.15. Dyakov Yu.T. Fundamentalnaya fitopatologiya/-M.: Krasand, 2012, -S. 512.
- 2.16. Egizbaeva T.K., Lesova SH.T., Jumageldanov B.K. Poluchenie ustoichivyykh k stressovym faktoram vneshnoy sredi liniy kartofelya // Biotexnologiya v Kazaxstane: problemy i perspektivy innovatsionnogo razvitiya: Daq. dokl. – Alma-ata, 2008. – S. 84-87.
- 2.17. Zeyruk V.N., Oves E.V., Abashkin O.V. i dr. Izmenenie vidovogo sostava perenoschikov virusov kartofelya po itogam mnogoletnego monitoringa // Kartofelevodstvo (Minsk). 2008. T. 14. С. 391–396..
- 2.18. Zыkin A.G. Virusные болезни картофеля. –L.: Kolos, 1976. -151 s.
- 2.19. Ispullaev A.I. Sravnitelnyy analiz test sistem RID i IFA v

diagnostike leykoza krupnogo rogatogo skota // Biotexnologiya v Kazaxstane: problemy i perspektivy innovatsionnogo razvitiya: Daq. dokl. – Alma-ata, 2008. – S. 331-333.

2.19. Ispullayev A.I. Sarvnielniy analiz test system RIA I IFA b diagnostike leykoza krupnogo ragatogo skota // Biotexnologiya v Kazaxstane: proglemi I perspektivi inovatsionnogo razavitiya. Dokladi mejdunarodnogo konf. –Alama-ata, 2008. –S.331-333.

2.20. Muxammedov I., Eshboev E., Zokirov N., Zokirov M. Mikrobirologiya, immunologiya, virusologiya. –Toshkent: Milliy ensiklopediya, 2002. - 519 b.

2.21. Metyuz R. Virusy rasteniy./ –M.: Mir, 1973. - 101 s.

2.22. Pisetskaya N.F., Gafitskaya I.V. Biotexnologicheskie metody v semenovodstve kartofelya na bezvirusnoy osnove // Agrarnaya nauka-selskoxozyaystvennomu proizvodstvu Dalnego Vostoka: K 75 letiyu obrazovaniya Rosselxoz akademii. – Vladivostok, 2005. - S. 46-48.

2.23. Sibiryakova I.I., Gnutova R.V. Immunodiagnostika shtammov Y-virusa kartofelya // Mikrobiologicheskie i biotexnologogicheskie osnovy intensivatsii rastenievodstva i kormoproizvodstva: Vsesoyuzn. Konf. 12-14 noyabrya.1990. - Alma-Ata, 1990. -S. 95.

2.24. Sibiryakova I., Korotaeva S.G., Romanova S.A., Gnutova R.V. Elektroforeticheskoe vyjavlenie viroida veretenovidnosti klubney kartofelya // Selskoxozyaystvennaya biologiya. – Moskva, 1999. - №5. - S. 88.

2.25. Suxoruchenko G.I., Ivanova G.P., Volgarev S.A. i dr. Sistema integrirovannoy zashchity reproductivnogo semennogo kartofelya ot kompleksa vrednykh organizmov v Cevero-Zapadnom regione Rossiyskoy Federatsi / FBGNU VIZR. Sankt-Peterburg. 2016. 64 s.

2.26. Talyanskiy M.E. Biotexnologiya i bezvirusnoe rastenovodstvo. // Biologiya nashix dney. –M.: Znanie, 1987. - 94. s.

2.27. Frimel G., Tarasova A.P. Immunologicheskie metody. –M., Meditsina, 1987. - 472 s.

2.28. Fayziev V.B., Qodirova Z.N., Vahobov A.H. Kartoshka Y-virusining rezervator o‘simliklarini immunoferment analizi yordamida aniqlash// Biologiya, ekologiya va tuproqshunoslikning dolzarb

muammolari: Respublika ilmiy amaliy konferensiya materiallari. O‘zMU. 15-16 sentyabr. –Toshkent, 2008. -142-144 b.

2.29. Kadirova Z.N., Carli C., Fayziyev V.B., Vakhobov A.H. Survey of potato leaf roll virus and potato viruses Y, S, A, X, M in Tashkent and Samarqand regions Uzbekistan// Biotechnology in the republic of Kazakhstan problems and trends of innovation development: 19-21 may 2008. –Almaty, 2008. –P. 134-136.

2.30. Fayziyev V.B. Kartoshka X-virusining rezervator o‘simliklarini immunoferment metodida aniqlash// O‘zMU xabarnomasi. –Toshkent, 2008. -№4. –B. 152-153

2.31. Fayziyev V.B., Qodirova Z.N., Vahobov A.H. Toshkent viloyatida kartoshka viruslarining tarqalishini immunoferment analizi yordamida aniqlash// O‘zbekiston biologiya jurnali. –Toshkent, 2008. -№5. –B. 24-25.

2.32. Fayziyev V.B., Qodirova Z.N., Vahobov A.H. Kartoshka viruslarining rezervator o‘simliklarini immunoferment analizi yordamida aniqlash// O‘zbekiston biologiya jurnali. –Toshkent, 2009. -№6. –B. 24-29.

2.33. Fayziyev V.B., Qodirova Z.N., Davronov Q.S., Vahobov A.H. Kartoshka X-virusining biologik va fizik-kimyoviy xususiyatlarini o‘rganish// Zamonaviy Mikrobiologiya va Biotexnologiya muammolari: akademik A.G‘. Xolmurodovning xotirasiga bag‘ishlangan Respublika ilmiy konf. mat. 23 oktyabr 2009. –Toshkent, 2009. –B. 94.

2.34. Fayziyev V.B., Xusanov T.S. Ochistka X-virusa kartofelya i prigotovlenie antisivoroiki// Mejdunarodnoy molodyojnyy nauchnyy forum «Lomonosov»: Materialy VII Mejdunarodnaya konferensiya studentov, aspirantov i molodyx uchyonnyx «Lomonosov». 12-15 aprelya 2010. –Moskva, 2010. –S. –48.

2.35. Hamidov A., Nabiev M., Odilov T. O‘zbekiton o‘simliklar aniqlagichi. – Toshkent: O‘qituvchi, 1987. - 349 b.

2.36. Ahmad N., M. A. Khan, N. A Khan, R. Binyamin and A. Khan (2011). Identification of resistance source in potato germplasm against PVX and PVY. Pakistan J. Bot. 43(6): 2745-2749.

2.37. Ahmed Ben Hafsa, Nesrine Nabi, Bisma M‘rabet Saamali, Mohammed Salem Zellama. Status of potato viruses in Tunisia and

molecular characterization of Tunisian Potato Virus X (PVX) isolates, *Eur J. Plant Pathol*, 2017, pp. 456-465. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1407-2>

2.38. Abad J., Moyer J., Kennedy G., Holms G., Cubeta M. Tomato spotted wilt virus on potato in Yeastern North Carolina / *Amer. J. of Potato Res.* 2005. V.82. P. 255–261.

2.39. Ansar M. Yepidemiological studies of stem necrosis disease in potato caused by Groundnut bud necrosis virus // *Indian Phytopath.* 2015. V.68. N 3. P. 321–325.

2.40. 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.

2.41. Bacher E., Prins M. RNA silencing: a natural resistance mechanism in plants. *Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses*. Springer, 2006, pp.

2.42. Bokx J.A., Van der Want J.P.H Viruses of potatoes and seed potato production. - Pudos Wageningen. 1987. - 259 p.

2.43. 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.

2.1. 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<sup>N</sup>) from Potatoes Grown in the Western United States. *Amer. J. Path. Res.*, 82: 2005. – P. 263-269.

2.44. Cox, B. A. and R. A. C. Jones. Genetic variability in the coat protein gene of Potato virus X and the current relationship between phylogenetic placement and resistance groupings. *Arch. Virol.* 2010, v,155. pp. 1349–1356.

2.45. Citovsky V. Transport of nucleic acids through membrane channels: snaking through small holes. *Annual Rev. Microbiol.* 47, 1993. – P. 167–197.

2.46. 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/

2.47. De Sousa G.D.P. Complete genome sequence of the first Andean strain of potato virus S from Brazil and yevidence of recombination between PVS strains // *Arch. Virol.* 2012. V. 157. N 7. P. 1357–1364.

2.48. Elisa Boyd, Eileen Carpenter, Brian T. Ross, Nina Zidack&Michelle L. Flenniken. Potato Cultivar and Seed Type Affect the Development of Systemic Potato virus Y (PVYN -Wi) Infection. *American Journal of Potato Research*, 2018, pp. 678-689. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9625-x>

2.49. Elham Ravanbod, Farshad Rakhshandehroo, Alireza Golnaraghi. Survey of potato virus X in vegetable fields of Iran. *Journal of Plant Pathology*, 2018, vol. 100. pp. 137-145. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0026-x>

2.50. Fan M.J., Chen S. et. al. Transgene-specific and event-specific molecular markers for characterization of transgenic papaya lines resistant to Papaya ringspot virus. *Transgenic Rec.*, 2009, vol. 18, no. 6, pp. 971-986.

2.51. Gray, S.M. Plant virus proteins involved in natural vector transmission. *Trends Microbiol.* 4: 1996. – P. 259-264.

2.52. Gholami J., Bahar M., Talebi M. Simultaneous Detection and Direct Identification of Phytoplasmas in the Aster Yellows (16SrI), Clover Proliferation (16SrVI) and Stolbur (16SrXII) Groups Using a Multiplex Nested PCR Assay in Potato Plants. *J. Potato Research*, 2019, pp.156-167.

2.53. Guy P.L., Cross P.A., Wilson C.R. A review of the plant virus and viroid records for Tasmania. *J. Australasian Plant Pathology*, 2020, pp. 258-265. <https://doi.org/10.1007/s13313-020-00725-5>

2.54. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Taxonomy of the family Potyviridae // *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz.* 1999. - Vol. 31. – P. 543-548.

2.55. 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).* - Kiev. 2001. – P. 213.

- 2.56. Gnutova R.V., Tolkach V.F. Taxonomy of the family Potyviridae // Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz. 1998. - Vol. 31. – P. 543-548.
- 2.57. Henriksen A. Structure of soybean seed coat peroxidase: A plant peroxidase with unusual stability and haem-apoprotein interactions Henriksen A. et al. // Protein Science. – 2001. – Vol.10. – P. 108 – 115.
- 2.58. Hamilton A., Voinnet O., Chappell L. & Baulcombe D. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing. EMBO J. 21, 2002. – P. 4671–4679.
- 2.59. Hoseong Choi, Yeonhwa Jo, Sen Lian, Kyoung-Min Jo, Hyosub Chu. Comparative analysis of chrysanthemum transcriptome in response to three RNA viruses: Cucumber mosaic virus, Tomato spotted wilt virus and Potato virus X. Plant Mol Biol, 2014, pp. 23-29. DOI 10.1007/s11103-015-0317-y
- 2.60. Jose Fernando Gil, Ian Adams, Neil Boonham, Steen Lykke Nielsen, Mogens Nicolaisen. Molecular and biological characterisation of two novel pomo-like viruses associated with potato (*Solanum tuberosum*) fields in Colombia. Arch Virol, 2015, pp. 125-134. DOI 10.1007/s00705-016-2839-2
- 2.61. Johanna Stammler, Anita Oberneder, Adolf Kellermann, Johannes Hadersdorfer. Detecting potato viruses using direct reverse transcription quantitative PCR (DiRT-qPCR) without RNA purification: an alternative to DAS-ELISA. Eur. J. Plant Pathol, 2018, pp. 56-67. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1468-x>
- 2.62. King A.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Virus taxonomy-ninth report of the International Committee on Taxonomy of viruses. London: Academic Press; 2011.
- 2.63. Kengo Ohbayashi. The Rx gene derived USDA 41956 and Rx1 gene derived CPC 1673 confer equal resistance to the migration of Potato virus X from potato leaves to tubers. J. Euphytica, 2019, pp. 215-219. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2413-6>
- 2.64. Mohamed Hussein, Muharrem Arap Kamberoglu. The response to Potato virus X infection of tomato plants treated with ISR2000, Eur J. Plant Pathol, 2017, pp. 23-29. DOI 10.1007/s10658-017-1227-4

2.65. Massumi H, Poormohammadi S, Pishyar S, Maddahian M, Heydarnejad J, Hosseini-pour A, Bysterveldt K, Varsani A. Molecular characterization and field survey of Iranian *Potato virus X* isolates. *Virus Disease*. 2014; 25:338–344.

### **III. Foydalanilgan boshqa adabiyotlar**

3.1. Vahobov A.H. O‘simlik viruslarini aniqlashda immunologiya usullarini qo‘llash. –Toshkent: ToshDD, 1991. – 36 b.

3.2. Vaxabov A.X. Xarakteristika naibolee rasprostranennыx fitovirusov v ekologicheskix usloviyax Uzbekistana: Diss. doktor. biol. nauk. – Kiev: Institut Mikrobiologii AN UR, 1989. - 254 c.

3.3. Juraeva U.M. Выделение, очистка вирусov xlopchatnika i ix immunodiagnostika. Avtoref. dis...kand. bio. nauk. –Tashkent: ANRUz., 1996. -29 s.

3.4. Mirzaaxmedov V. Vliyanie uslovii viraщivanie kartofelya na dinamiku rasprostranenie S i X- virusov v usloviyax Tashkentskoy oblasti: Dis.... kand. biol. nauk. – Tashkent: ANRUz. 1964. - 150 s.

3.5. Odinets A.G. Razrabotka i primeneniye immunofermentnogo analiza dlya diagnostiki virusnyx bolezney svetochnyx kultur. Avtoref. dis.... kand. biol. nauk. – M.: 1986. - 25 s.

3.6. Umarova G.M. G‘alla o‘simliklarini ajratish, tozalash va ularni immunodiagnostikasi. Biol. fan. nom. dis... avtoref. – Toshkent: O‘zFA Mikrobiologiya instituti, 2009. -22 b.

3.7. Fayziev V.B. Kartoshka viruslarining immunodiagnostikasi/ Biol. fan. nom. dis.. – Toshkent: O‘zFA Mikrobiologiya instituti, 2011. -122 b.

### **IV. Internet saytlari:**

1. [www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz).
2. <http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>
3. <https://propozitsiya.com/virusnye-bolezni-kartofelya-i-borba-s-nimi>
4. <https://www.scopus.com>
5. [www.webofscience](http://www.webofscience)
6. [www.dissecat.com](http://www.dissecat.com)
7. <http://www.works.doklad.ru>
8. <http://www.km.ru>

9. <https://www.wemakescholars.com>
10. <http://clustalw.ddbj.nig.ac.jp>
11. [gb-admin@ncbi.nlm.gov](mailto:gb-admin@ncbi.nlm.gov)
12. <https://agro-olam.uz/kartoshka-yetishtirish-texnologiyasi/>

## MUNDARIJA:

<b>KIRISH.....</b>	<b>4-7</b>
<b>I-BOB. KARTOSHKA VIRUSLARINI AJRATISH, TOZA PREPARATINI OLISH, SPETSIFIK ZARDOB TAYYORLASH VA DIAGNOSTIKA USULLARI.....</b>	<b>8-22</b>
1.1-§ Toza virus preparati va u asosida virusga spetsifik zardob tayyorlash usullarining xarakteristikasi.....	8-16
1.1.1. Kartoshka X-virusining toza preparatini olish usullarining tavsifi.....	8-13
1.1.2. Spetsifik zardob olish usullari va ularning xususiyatlari.....	13-16
1.2-§ Fitoviruslar diagnostikasida qo‘llaniladigan usullar va ularning tavsifi.....	16-22
1.2.1. Immunologik usullar va ularning sezgirligi hamda fitoviruslar diagnostikasidagi roli.....	16-22
<b>II-BOB. TADQIQOTLAR UCHUN FOYDALANILGAN MATERIALLAR VA USLUBLAR.....</b>	<b>23-32</b>
2.1-§ Tadqiqotni bajarishda qo‘llanilgan materiallar, reaktivlar va o‘simliklar hamda ularni kasallantirish.....	23-24
2.1.1. O‘simliklarga mexanik usulda virus yuqtirish.....	23-24
2.1.2. O‘simliklarning kasallanish darajasini va virusning hosildorlikka zararini aniqlash.....	24
2.2-§ Toza virus preparati va uning xususiyatlarini o‘rganish.....	24-27
2.2.1. Kartoshka X virusini biologik tozalash.....	24-25
2.2.2. KXVning toza preparatini fizik-kimyoviy usullar yordamida olish.....	25-26
2.2.3. Spektrofotometriya usuli yordamida virus preparatini analiz qilish.....	26
2.2.4. Elektron mikroskopiya usulida viruslarni aniqlash.....	27
2.3-§ Yuqori spetsifikli zardob tayyorlash va uning xususiyatlarini o‘rganish.....	27-29
2.3.1. KXVga spetsifik zardob tayyorlash.....	27-28

2.3.2.	Ikkiyoqlama immunodiffuziya usuli yordamida zardob titrini aniqlash.....	28-29
2.4-§	Immunologik usullar yordamida kartoshka viruslarini aniqlash.....	29-32
2.4.1.	Immunologik usullar sezgirligini qiyosiy o'rganish.....	29
2.4.2.	IFA uchun namuna yig'ish va o'simlik viruslarini diagnostika qilish.....	29-31
2.4.3.	IFA natijalarini qayd etish va virus miqdorini aniqlash.....	31
2.4.4.	Nitrotselyuloza membranasida immunobloting usuli yordamida KXVni diagnostika qilish.....	32
<b>III-BOB.</b>	<b>KARTOSHKA X VIRUSINI AJRATISH, TOZA PREPARATINI OLIH HAMDA SPETSIFIK ZARDOB TAYYORLASH.....</b>	<b>32-56</b>
3.1-§	KXV <sub>n</sub> izolyatini ajratish va toza preparatini tayyorlash.....	32-46
3.1.1.	Kartoshka X-virusini ajratish, biologik tozalash va konsentrlash.....	32-37
3.1.2.	KXV <sub>n</sub> izolyatini ajratish va uning tozalangan preparatini tayyorlash.....	37-46
3.2-§	KXV <sub>n</sub> izolyatiga poliklonal antitana tutuvchi zardob tayyorlash va xususiyatini o'rganish.....	46-56
3.2.1.	Virusga spetsifik zardob tayyorlash va immunokimyoviy xususiyatlarini o'rganish.....	46-51
3.2.2.	KXV <sub>n</sub> izolyatiga tayyorlangan zardobning virus diagnostikasida qo'llanilishi.....	51-56
<b>IV-BOB.</b>	<b>KXV IMMUNODIAGNOSTIKASI .....</b>	<b>57-72</b>
4.1.	Turli immunologik usullar sezgirligini KXV antigeni asosida aniqlash.....	57-60
4.2.	Kartoshka X va Y-viruslarining ba'zi hududlarda tarqalish darajasini aniqlash.....	60-66
4.3.	KXVning tabiiy-rezervator o'simliklarini NSMda immunobloting usuli yordamida aniqlash.....	66-71
	<b>XOTIMA.....</b>	<b>72-74</b>
	<b>XULOSALAR.....</b>	<b>75</b>
	<b>ADABIYOTLAR RO'YXATI.....</b>	<b>76-84</b>

V.B. FAYZIYEV

**KARTOSHKA X VIRUSINI AJRATISH,  
TOZA PREPARATINI OLIISH, SPETSIFIK  
ZARDOB TAYYORLASH VA VIRUS  
DIAGNOSTIKASIDA QO‘LLASHNING  
ILMIY ASOSLARI**

Muharrir: I. Tursunova  
Badiiy muharrir: B. Haydarov  
Kompyuter sahifalovchi: N. Fayziyeva  
Korrektor: Sh. Hikmatova

Nashr. lits. AI № 276 15.06.2015.  
Bosishga ruxsat etildi. 15.11.2023.  
Bichimi 60x84 1/16 Offset qog‘ozi.  
Times New Roman garniturasini.  
Shartli bosma tabog‘i 5,5. Nashr hisob tabog‘i 3,8.  
Adadi 100 nusxada. Buyurtma № 16-12.

“LESSON PRESS” MCHJ nashriyoti.  
100071. Toshkent, Komolon ko‘chasi 13.

«ZUXRA BARAKA BIZNES» MChJ bosmaxonasida chop etildi.  
Toshkent shahri Bunyodkor shoh ko‘chasi 27 A-uy.