

ФАЙЗИЕВ ВОХИД БАХРАМОВИЧ

**КАРТОШКА Х ВИРУСИНИНГ ЎЗБЕКИСТОҢДА ТАРҚАЛГАН
ИЗОЛЯТИНИ АЖРАТИШ, ХУСУСИЯТЛАРИНИ ЎРГАНИШ ВА
УНИНГ ДИАГНОСТИКАСИ**

03.00.04– Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)
Contents of dissertation abstract of doctor of science (DSc)

Файзиёв Вохид Бахрамович Картошка X вирусининг Ўзбекистонда тарқалган изолятини авертиш, хусусиятларини ўрганиш ва унинг диагностикаси.....	3
Файзиёв Вохид Бахрамович Выделение изолята X вируса картофеля распространенного в Узбекистане, изучение свойств и его диагностика.....	29
Fauziyev Vokhid Bakhratovich Isolation of isolate Potato virus X spreading in Uzbekistan, the study of its properties and diagnostics.....	55
Эътибор қилинган ишлар рўйхати Список опубликованных работ List of published works.....	59

Фан доктори (DSc) диссертацияси маълум Узбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В.2019.2.DSc/095 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация диссертацияси Тошкент вилояти Чирчиқ давлат педагогика институтига бағирланган.

Диссертация автореферати уч тилда (Ўзбек, рус, инглиз (русча)) Илмий китобчи веб-сайтида (info@icadefonu.uz) ва «ZiyoNet» Аxbорот тизими ширкати (www.ziyo.net) вeb-сайтларида қўйиб берилган.

Намий мазмунатчи:	Ваҳобов Абдураҳул Ҳасанович биология фанлари доктори, профессор
Расмий ошпонентлари:	Ҳасанов Ботир Аҳмадович биология фанлари доктори, профессор Қадирова Гулшехра Ҳасановна биология фанлари доктори Маматқулов Иброҳим Ҳамидович тубийят фанлари доктори, профессор
Еташти таъжжият:	Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти

Диссертация хабарини Микробиология институтини ҳузуридаги DSc:02/06.12.2019 В.38.01 рақамини Илмий китобчинини 2020 йил 08 декабрь куни соат 10⁰⁰ даги онлайн мажлисида бўлиди. Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоқур тумани, А.Қодирей кўчаси 7^{-уя}, Микробиология институтини мақомадор хона, 2-қават. Тел.:(+99871) 241-92-28, факс:(+99871) 241-92-71; e-mail: info@icadefonu.uz.

Диссертация билан Микробиология институтини Лаборатория ресурслар мақомадор таъжжият муҳитини (№_ рақамини билан рўйхатга олинган). Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоқур тумани, А.Қодирей кўчаси 7^{-уя}, Микробиология институтини маълумий йилини, 3-қават. Биология факультети. Тел.:(+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс:(+99871) 241-92-71.

Диссертация автореферати 2020 йил «_» декабрь куни тарқатилган
(2020 йил «_» декабрдаги «_» рақамини регистр баъжжиятисини)



Т.Ф. Арсланов

Илмий китобчи қўйиб берувчи илмий китобчи профессор, академик.

Р.Н. Жўраева

Илмий китобчи қўйиб берувчи илмий китобчи катта илмий китобчи

Т.Т. Гулшариф

Илмий китобчи қўйиб берувчи илмий китобчи катта илмий китобчи рақамини, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фан доктори (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бутунги кунда дунёда кишлоқ хўжалиги ўсимликларини касаллантирадиган қатор фитопатоген вируслар аниқланган бўлиб, улар етиштириладиган маҳсулотларнинг миқдори ва сифатига салбий таъсир этиб, катта иқтисодий зарар етказмоқда ва бу зарар дунё бўйича йилга 60 млрд АҚШ долларини ташкил этади. Шунингдек, картошка ўсимлигини ҳам 50 га яқин фитопатоген вируслар касаллантиради ва вирус турига боғлиқ ҳолда ҳосилдорликни 10-87% гача камайишига олиб келмоқда¹. Шунинг учун картошка ўсимлигини касаллантирувчи бундай фитопатоген вируслар устида тадқиқотлар олиб бориш ва қарши кураш чораларини ишлаб чиқиш муҳим аҳамият касб этади.

Жаҳонда кишлоқ хўжалиги ўсимликларидан картошка ўсимлигида учрайдиган - L (PLRV), - Y (PVY), - X (PVX), - S (PVS), - M (PVM), - A (PVA) каби вирусларни ажратиш, уларнинг келтириб чиқарадиган зарарини камайтириш ҳамда қарши кураш чораларини ишлаб чиқиш бўйича кенг қўлдан илмий изланишлар олиб боришмоқда. Жумладан, уларнинг молекуляр-генетик хусусиятларини тадқиқ этиш, филогенетик таҳлил қилиш, тозаланган препаратини олиш, вирус диагностикаси учун зардоб тайёрлаш, зардобдан иммуноглобулинларни ажратиш, тозалаш усулларини такомиллаштириш, ўсимликларнинг баъзи фитиологик хусусиятларига вируснинг таъсири ва инфекцияга чидамлик генлари экспрессияси механизmlарини аниқлаш ҳамда вирусга қарши хурат чораларини ишлаб чиқишни такомиллаштиришни тақозо этмоқда.

Республикамизда юшлқ хўжалиги ўсимликларини турли касалликлар ва зараркунчалардан хилоф қилиш борасидagi самарали чора-тадбирларни ишлаб чиқиш ва амалга жорий қилиш, фитопатоген вирусларни аниқлаш, хусусиятларини тадқиқ этиш бўйича қатор илмий-тадқиқотлар олиб борилиб, муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг 2017-2021 йилларга мўлжалланган Ҳаракатлар стратегиясида «...кишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришнинг илчил ривожлантириш, мамлакат озиқ-овқат хавфсизлигини янада мустаҳкамлаш, аҳолини сифатли озиқ-овқат маҳсулотлари билан таъминлаш, мева-сабзавот, картошка ва узум ишлаб чиқариш ҳажмларини ошириш, йчки бозорда уларга бўлган нархларнинг кескин ошишини олдини олиш, аграр секторнинг экспорт салоҳиятини ошириш; касаллик ва зараркунчаларга чидамли, маҳаллий экологик шароитларга мослашган кишлоқ хўжалиги экинларининг янги навларини ишлаб чиқаришга жорий этиш»² бўйича муҳим вазифалар белгиланган. Шунинг учун муҳим кишлоқ хўжалиги экинлари ҳосилдорлигига жиддий зарар етказадиган фитопатоген вируслар устида илмий-тадқиқотлар олиб бориш муҳим аҳамият касб этади.

¹ <https://ru.ces.ncsu.edu/2018/08/28/https://ru.ces.ncsu.edu/2018/08/28/https://ru.ces.ncsu.edu/2018/08/28/>

² Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 1 февралда ДБ-603-сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантиришнинг 2017-2021 йилларга стратегик стратегияси» қарори.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Харажатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 29 октябрдаги ПФ-5394-сон «Қишлоқ хўжалиги соҳасини ислох қилишнинг қўшимча ташкилий чора-тадбирлари тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2017 йил 30 августдаги ПК-3249-сон «Ўсимликлар карантини давлат инспекцияси фаолиятини ташкил этиш тўғрисида»ги қарори ҳамда маъмур фаолиятга тегишли бошқа метадрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Таъқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Маъмур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V. «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» устувор йўналишига мувофиқ bajarилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий тадқиқотлар шарҳи³. Ўсимлик вирусларининг тузилиши, хусусиятлари, таснифи ва уларга қарши кураш чораларини ишлаб чиқишга йўналтирилган илмий тадқиқотлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, Potato Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada (Канада), Department of Plant Pathology, Cornell University (АҚШ), Department of Plant and Wildlife Sciences, Brigham Young University (АҚШ), University of Minnesota (АҚШ), Seoul national university (Корея), Biomedical Research Center, Institute of Virology (Словакия), Engelhardt Institute of Molecular Biology (Россия), Centre of Excellence in Molecular Biology (Словения), Россия Фанлар академиясининг Биология-гүпротекнуология институти (Россия), Москва давлат университетининг вирусология кафедрасида (Россия) ва Ўзбекистон Миллий университетида ҳамда Тошкент вилояти Чирчик давлат педагогика институтида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Картошка вирусларини аниқлаш, уларнинг хўжайин организми билан муносабати ҳамда уларга қарши самарали кураш чораларини ишлаб чиқиш, идентификациялаш ва диагностика қилиш бўйича қатор, жумладан қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: картошка X вирусининг геном тузилишини аниқлаш усуллари таҳомиллаштирилган (Московский государственного университета имени М.В.Ломоносова (МГУ), Россия), картошка шавларининг вирус инфекциясига генетик чидамликнинг механизми аниқланган (James Hutton Institute, Шотландия), картошка вирусларини молекуляр диагностикаси яратилган (Department of Plant and Wildlife Sciences, Brigham Young University, АҚШ), табиий резерватор ўсимликларда ҳам картошка вируслари ривожланиши

³Диссертация мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар мавзуси <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4111111/>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4111111/>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4111111/>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4111111/>

кузатишган (Ўзбекистон Миллий университети, Ўзбекистон), картошка вирусларини аниқлаш учун иммунодиагностикуми тайёрланган (Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Россия), картошка X вирусининг филогенетик шаклараси аниқланган ва штаммлари ажратиб олинган (Centre of Excellence in Molecular Biology, Словения), КХВнинг оксиз кобиги асосида диагностика қилинган (Institute of Biochemistry and Bioteknology, Покистон).

Дулиб мохёсида фитопатоген вирусларининг тарқалишини олдини олиш ва уларга қарши кураш чораларини тавомиллаштириш ҳамда вирусларга чидамли наваларни яратиш бўйича қуйидаги устувор йўналишларда илмий-тадқиқотлар олиб борилмоқда: жумладан, ўсимликларнинг вирусларга чидамлилик генларини аниқлаш ва карталаш, генлар трансформацияси учун вектор конструкция яратиш; чидамлилик генлари трансформацияси асосида навалар яратиш; чидамлиликнинг физиологик асосларини аниқлаш; вируслар диагностикасининг сезгир, тезкор ва замонавий усулларини яратиш ҳамда амалиётта жорий этиш орқали картошка ҳосилдорлиги пасайишининг олдини олишга қаратилган илмий ечимлар ишлаб чиқиш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Картошка вирусларини ажратиш, хусусиятларини ўрганиш ва идентификация қилиш бўйича қатор хорижий олимлар: M.J. Huismar (1988), S.Y. Kagiwada (2002), T. Yokota (2003), H.Bostan (2004), F. Rashid (1989), K.Tamura (2007), G.Abbas (2012), N.Ahmad (2011), B.A. Cox (2010), J.M. Cuevas (2012), B.Mandal (2012) каби олимлар томонидан олиб борилган.

МДХ давлатлари олимлари МДУда академик И.Г.Атабеков раҳбарлигида С.Ю. Морозов (2001), О.Н. Карпова (2006), Р.В. Глутова (2011) ва бошқа қатор олимлар томонидан КХВ тузилиши, хусусиятлари, экологияси, штаммлари, иммунодиагностикаси ва молекуляр-генетик хусусиятларига доир тадқиқотлар олиб борилган; В.И. Малиновский (2010) вирусларнинг ўсимликлар физиологиясига таъсири ва инфекциядан ҳимояланиш механизмининг аниқлаш; М.Р. Шарипова (2013) томонидан ўсимликларнинг инфекцияга чидамлилик механизмларини таъминловчи оксидлари аниқланган.

Шу каби тадқиқотлар мамлакатимиз олимларидан Власов Ю.И. томонидан (1960) Ўзбекистонда ўсимлик вирусларини ўрганиш бўйича тадқиқотлари олиб борилган, А.Х. Вахобов (1964) Ўзбекистон иқлим шароитида тарқалган турли фитопатоген вирусларни аниқлаш ва диагностика қилиш, А.Х. Вахобов раҳбарлигида К.С. Давронов (1984) жўхори паканалити вирусини ажратиш, хусусиятларини ўрганиш ва диагностика қилиш, Э.Н. Кодирова (2019) қарамадошлар оқласига мансуб бўлган ўсимликларни касаллаттирувчи вирусларни аниқлаш, Т.С. Хусанов (2019) вирус инфекциясининг ўсимликнинг баъзи бир физиологик хусусиятларига таъсири бўйича тадқиқотлар олиб боришган. Картошка вирусларини ўрганиш бўйича мамлакатимизда В.Мирзахмедов (1964) дастлаб X ва S-вируслар тарқалган фонда вируссиз картошка еттиштириш, И.Т. Эргашев (2007) томонидан эса L-вирусининг айрим хусусиятлари ва картошка навалари селекцияси устида илмий излашлар олиб борган. Шунинг

таъкидлаш лозимки, картошка вирусларининг молекуляр-генетик хусусиятларини аниқлаш ва диагностика усулларини ишлаб чиқиш ҳамда вирусга чидамли навларни аниқлаш бўйича мамлакатда етарлича илмий-тадқиқотлар олиб борилмаган. Шу сабабли, ушбу йўналишда олиб борилаётган тадқиқотлар муҳим илмий-амалий аҳамият касб этади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Ўзбекистон Миллий университети ва CIP (Centre International Potato) илмий-тадқиқот ишлари режаларининг (CASILM SLM-R-11-4) «Жанубий-ғарбий ва Марказий Осиёда картошка навларини клонлаш орқали абиотик ва биотик омидларга чидамлигини ошириш орқали унинг мақсуддорлиги ҳамда сифатини яхшилаш» (2011-2013) мавзусидаги халқаро илмий лойиҳа доирасида бажарилган.

Тадқиқот мақсади картошка X вирусининг мамлакатимизда тарқалган изолятини ажратиш, унинг хусусиятларини ҳамда ўсимлик айрим физиологик жараёшларига таъсирини аниқлаш ва молекуляр-генетик усулда идентификация қилишдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

KXB₁ изолятини ажратиш, биологик хусусиятларини аниқлаш ва идентификация қилиш ҳамда ўсимликларнинг айрим морфо-физиологик хусусиятларига таъсирини таҳлил қилиш;

вирус изолятини аралаш инфекциядан биологик тозалаш ва гомоген тоза препаратини тайёрлаш усулларини ишлаб чиқиш;

вирусга поликлонал зардоб тайёрлаш ва унинг иммунокимёвий хусусиятларини аниқлаш ҳамда вирус диагностикасида қўланиш;

иммунологик усуллар ёрдамида вируснинг баъзи хусусиятларини аниқлаш;

KXB₁ изолятларини ҚТ-ПЗР усули ёрдамида турли табиий намуналардан диагностика қилиш;

Ўзбекистон иқлим шароитида ажратилган KXB₁ изолятини *ORFz5* гени асосида молекуляр-генетик идентификацияси ва филогенетик таҳлил қилиш;

KXB₁ изоляти оқсил қобиғи аминокислота таркибини кўрсаткич таҳлил қилиш орқали бошқа изолятлар билан ухшашлик ва фарқларини аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти Ўзбекистон иқлим шароитида тарқалган картошка ва бошқа кишлоқ хўжалик ўсимликларини касаллатирувчи картошканинг X вируси ҳисобланади.

Тадқиқотнинг предмети вирус изолятларининг хусусиятлари, ўсимликнинг физиологик жараёшларига таъсири, пероксидаза ферментининг инфекциядан жараёндаги динамикаси, ўсимлик баргидagi шизенти миклорига таъсири; вирус тоза препаратини олиш усуллари, зардоб ва специфик антитаналар, вируснинг молекуляр-генетик идентификацияси, оқсил қобиғи *ORFz5* гени ва унинг секвенси, филогенетик шаклиси ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Фитовирусология ва биотехнологиянинг иммунофермент анализи (ИФА), ҚТ-ПЗР, фитовирусларни ажратиш ва тозалаш, индикатор ўсимликлар усули, никикэлама иммунодиффузия,

электрон микроскопия, спектрофотометрия каби бир катор усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий натижаси қуйидагилардан иборат:

илк бор КХВнинг Ўзбекистонда тарқалган «некротик» (КХВ_н) изоляти ажратилди ва унинг *ORF15* geni шикланган, филогенетик анализ қилинган ва ушбу ген асосида синтезланадиган оксининг аминокислота таркиби бошқа изолятлар билан солиштирилган ҳамда вирус эволюцияси молекуляр-генетик усуллар ёрдамида аниқланган;

илк бор КХВ_н изолятининг касалланиш даражасига босқич равишида ўсимлик баргидини хлорофил "а" миқдориин назоратта нисбатан 4,4, хлорофил "б" миқдориини 2,3, каротиниол миқдориини эса 5,3 баравар камайтириши асосланган;

ЎСМда иммуноблотнинг усули ёрдамида дастлабки текширишларда янаник бўлган катор ўсимликлар қайта текшириб чиқилган ва вируснинг олабути (*Atriplex micrantha* С.А.Мей), нутум (*Solanum nigrum*), думбиз шўра (*Ch. murale*), оддий шўра (*Ch. quinoa*), ёпиғи гултоқихўроз (*Amaranthus retroflexus*), бургон шўвоғи (*Artemisia annua*), эрмон шўвоғи (*Artemisia vulgaris*), дала рангути (*Sinapis arvensis* L.), хартол карами (*Brassica juncea* (L.) Czern) каби ИФА сезгирлигидан четда қолган вируснинг янги табиий резерватор ўсимликлари аниқланган;

вирусининг туганак таркибиди ва маданий ўсмиликлар аъзоларида сақланишини аниқлаш асосида табиий-ўчоқлар билан алоқдорлиқнинг иккинчи гуруҳига янги «Маданий ўсимликлар ичида турғун эъланиш циркуляциясига эга бўлган табиий ўчоқни касалликлар» тинига мансублиги исботланган;

КХВнинг Республикамиз ҳудудиди тарқалган Х_н изоляти илк бор ажратилган ҳамда баъзи биологик ва физик-кимёвий хусусиятлари аниқланган, ТСК гел ёрдамида гел-фильтрация юлиш орқали вируснинг тоза препарати олиниб, вирусга специфик зардоб тайёрлаш усули такомиллаштирилган;

ўсимлик пероксидаза ферментининг инфекцияни жараёндаги динамикаси соғлом ва вирус билан касалланган ўсимликлардан ажратилган хужайра шираси таҳлили орқали асосланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

картошка вирусларини иммунологик усулда диагностика қилиш бўйича тавсиянома шиклаб чиқилган;

вирусининг Ўзбекистон иқлим шароитидаги табиий ўчоқ тури ни циркуляцияси аниқланган;

ИТ-ПЗР усули ёрдамида вирус идентификацияси амалга оширилган ва унинг баъзи молекуляр-генетик хусусиятлари аниқланган;

вирус диагностикаси учун поликлонал антитела тугувчи специфик зардоб тайёрланган;

табиий шароитда вирус сақланиши ва тарқалишига сабаб бўлувчи бир катор табиий резерватор ўсимликлари аниқланган;

картошка вируслари тарқалишини олдин олиш, зарарини пасайтириш ва самарали қарши кураш чораларини ишлаб чиқишга қаратилган ҳамда илмий асосланган амалий таъқиқлар ишлаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқотда қўлланилган фитовирусология ва биотехнология усуллари Ёрдамида олинган тажриба натижаларининг назорий маълумотларга мос келиши, олинган тажриба натижаларининг замонавий дастурлар асосида (Biostat, 2007; Statistica 5,5; Microsoft Office Excel, 2003; Microsoft, USA, Origin Pro 9,4, 2014, MEGA6, BALASTn) таҳлил қилинганлиги, диссертация амалий натижаларининг етакчи хорижий журналларда қоп этилганлиги ҳамда ишлаб чиқилган таъқиқларнинг амалиётга жорий этилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти КХВ ни ажратиш, тозалаш ва антизардоб тайёрлашнинг йўллари ишлаб чиқилди ҳамда шу асосда вируста специфик зардобни тайёрланди. Тайёрланган специфик зардоб ИФА, НЦМ ва ИИД усулларида қўлланилди ва бу усуллар Ёрдамида вируста чидамли ишлар ҳамда вируснинг мамлакатимиз иқлим шароитида тарқалган табиий-резерватор ўсимликларида аниқлаш ва Тошкент вилояти туманларида картошка Х, Y-вирусларининг тарқалиш даражаси аниқланиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларини амалий аҳамияти вируснинг табиатда айлиниш ширкуляцияси ҳамда «табиий ўчоқ» типини аниқлади. Бу ўз навбатида вируста қарши кураш чораларини ишлаб чиқишда муҳим ҳисобланади. Шу билан бир қаторда вирус билан касалланган ва соғлом ўсимликдаги пероксидаза ферменти динамикаси аниқланган бу эса ўсимликларнинг вируста чидамчилигини оширишнинг физиологик асоси бўлиб хизмат қилиши мумкин. Бундан ташқари вируснинг Ўзбекистонда тарқалган «некротик» изоляти ажратилди ва уни *ORF5* гени асосида молекулар-генетик идентификацияси амалга оширилди ва филогенетик таҳлил қилинди, олинган геном нуклеотидлар кетма-кетлиги NCBI базасига жойлаштирилди ҳамда дубэ бўйича худди шу йўналишда олиб борилган илмий-тадқиқотларда солиштириш учун қўлланилиши билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий юзлигини. Картошка Х-вирусининг Ўзбекистонда тарқалган изолятини ажратиш, хусусиятларини ўрганиш ва диагностика қилиш бўйича олиб борилган илмий-тадқиқот натижалари асосида:

картошка (*Solanum tuberosum* L.) ўсимлигининг "КХВ-Ўз" изоляти Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институтининг "Фитопатоген ва бошқа микроорганизмлар" ноёб объекти коллекцияси генофондига топширилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси 2019 йил 13 ноябрдаги 4/1255-3019-сон маълумотномаси). Натижада фитопатоген микроорганизмлар штамлари коллекция генофондини бойитиш, вирус турлари хилма-хилликлари электрон базаси ахборот таҳлил тизимини шакллантириш имконини берган;

вирус билан касалланган картошка (*Solanum tuberosum* L.) ўсимлигидан ажратиб олинган КХВ-У₂ изолати (*Potato virus X*) Жаҳон микроорганизмлар маълумотлар марказининг Патоген Микроорганизмлар Миллий коллекциясининг (World Data Center for Microorganism (WDCM) National Collection of Phytopathogenic Microorganisms (NCAM)) маълумотлар базасига WDCM 915-рақами орқали рўйхатдан ўтказилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси 2019 йил 13 ноябрдаги 4/1255-3019-сон маълумотномаси). Натижада дунёнинг турли минтақаларида тарқалган "Картошка X вируси"ни тадқиқ қилишда глобал даражада фойдаланиш имконини берган;

вирусга тайёрланган специфик зардоби Тошкент вилояти Қибрай туманидаги "Флора", Паркент туманидаги "Хисорик-Чотқол", Тошкент туманидаги "Мурид агро-плюс" фермер хўжалиқларидаги 78,6 гектар картошка майдонларида жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ хўжалиғи вазирлигининг 2020 йил 7 декабрдаги 02/025-4226-сон маълумотномаси). Натижада юш олдидан уруғлик картошкани саралаш, вегетация жараёнида касалланиш даражасини мониторинг қилишда самарали фойдаланилган ҳамда картошка ҳосилдорлигини ошириш имконини берган;

иммуноблотнинг усули Тошкент вилоятининг Қибрай, Паркент туманлари картошка экин майдонлари ва уларнинг атрофида ўсувчи ўсимликлар вирусологик назоратини олиб боришда жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ хўжалиғи вазирлигининг 2020 йил 7 декабрдаги 02/025-4226-сон маълумотномаси). Натижада, ушбу ҳудудларда ўсувчи вирус сакловчи ўсимликларни эрта экинлиги ҳамда фитосанитар чораларини олиб бориш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 10 та халқаро ва 22 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг кўп қанчанлиғи. Диссертация мавзуси бўйича жами 32 та илмий иш чоп этилган, шундан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш учун тавсия этилган илмий нашрларида 12 та мақола, жумладан, 9 таси республика ва 3 таси хорижий илмий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилishi ва ҳажми. Диссертация таржиби юриш, бешта боб, худосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ҳамда навалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 194 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиғи ва зарурати, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари асосланган, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиғи кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий аҳамияти ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш,

нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **“Картошка ўсимлиги вируслари ва уларга таъсир этувчи экологик омиллар ҳамда инфекциядан химояланиш йўллари”** деб номланган биринчи бобида картошка ўсимлигини касаллантирувчи вирусларнинг умумий хусусиятлари, уларнинг систематик ўрни ва *Polymorphus avellanae* мансуб фитопатоген вирусларнинг тавсифи, вирус эуфитотийиси ва уларга таъсир этувчи экологик омиллар, вирусларнинг сақланишига таъсир кўрсатувчи ташқи муҳит омиллари, картошка вирусларининг резерваторлари ҳамда вирус эуфитотийисини олдини олиш чоралари ва ўсимликларнинг инфекциядан химояланиш йўллари ҳақида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Картошка вирусларини ажратиб, тоза препаратини олиш, специфик зардоб тайёрлаш ва диагностика услубларига тавсиф»** деб номланган иккинчи бобида тоза вирус препаратини олиш усуллари ва уларнинг характеристикаси, вирусларни арашаш инфекциядан биологик тозлаш ва унинг аҳамияти, тозаланишнинг физик-химёвий усуллари, картошка X вирусининг тоза препаратини олиш усуллари, тоза вирус препаратига қўйилган талаблар, фотовируслар диагностикасида қўлланиладиган иммунологик усуллар ва уларнинг сезиратик даражаси, иммунофермент анализ усули, унинг классификацияси, қўлланилиши ҳамда фитовирусологияда самарали қўлланилиб келинётган молекуляр-генетик усуллар ва уларнинг вируслар диагностикасида қўлланилиши даражалари тавсифланган.

Диссертациянинг **“Тадқиқотлар учун фойдаланилган материаллар ва услублар”** деб номланган учинчи бобида диссертация ишини бажаришда фойдаланилган материаллар, реактивлар ва услублар тавсифланган. Бундай услублар ўсимликларни механик усулда касаллантириши, касалланиш даражасини ва вирус зарарини аниқлаш, картошка X вирусини биологик тозлаш, тоза препарат олишнинг физик-химёвий усуллар, вирусга специфик антизардоб тайёрлаш ва унинг иммунохимёвий хусусиятларини ўрганиш, иммунологик усулларнинг юқсак таҳлил, тоза вирус препаратини спектрофотометрик анализ, электрон микроскопия усулида вируснинг микрофотографиясини олиш усули, ИФТ усули ёрдамида картошка вирусларини диагностика юлши, ўсимлик пероксидазасини ажратиш ва хусусиятларини ўрганиш, картошка вирусларига экологик омилларнинг таъсирини аниқлаш, ПЗР усули ёрдамида КХВни ўрганиши ва таҳлил қилиш усуллари ҳақидаги маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **“Картошка X вирусини ажратиш, хусусиятларини ўрганиш, тоза препаратини олиш ва специфик антизардоб тайёрлаш”** деб номланган тўртинчи бобида вирус изолятларининг биологик хусусиятларини ўрганиш ва унинг ўсимликлар баъзи физиологик хусусиятларига таъсири, вирус изолятларининг идентификацияси, табиий циркуляцияси ва «табиий ўчоқ» турини аниқлаш, вирусни ажратиш ва тоза препаратини олиш, специфик антизардоб тайёрлаш, унинг иммунохимёвий

хусусиятларини ўрганиш ва антизардобнинг ишлатилиши бўйича олинган тадқиқот натижалари ва уларнинг тахлили келтирилган.

КХВ «некротик» изолятининг тест-индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатларини ўрганиш. КХВни ўрганиш устида олиб борилган тадқиқотлар давомида вируснинг Умид навда қорамтир системали мозанка аломатларини келтириб чиқарувчи "некротик" (КХВ_а) изоляти аэраталда ва дастлабки олиб борилган тадқиқотлар натижасида Дибра навда хол-хол мозанка касаллик аломатларини келтириб чиқарадиган "оддий" изоляти билан солиштирилди (Файзиев, 2011) ва ўрганишлар натижасида хўжайин ўсимликларда бир-бирдан фарқ қилувчи аломатларини келтириб чиқаргوشлиги, уларнинг бир-бирдан фарқланувчи изолятлар эканлигидан dalolat беради. Бунинг учун лаборатория шароити ва тажриба майдонида ўстирилган беита оила, 16 турга мансуб, дастлабки тадқиқотларда фойдаланилган тест-индикатор ўсимликлар механик инокуляция қилиниб, уларда касаллик аломатлари пайдо бўлиш ҳамда аломатлардаги ўхшашлик ва тафовутлар ўрганилди (1-жадвал).

1-жадвал

КХВ изолятларининг тест-индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатларини

Индикатор ўсимликлар номи ва тур номи	КХВ штаммлари			
	*КХВ _а		**КХВ _б	
	Касаллик аломати	Пайдо бўлиш муддати	Касаллик аломати	Пайдо бўлиш муддати
Шўрпадонлар (<i>Chenopodiaceae</i>)				
Шўра (<i>Chenopodium quinoa</i>)	ХД	13-14	ХД	10-12
Шўра (<i>Ch. amaranticolor</i>)	ХД	10-12	ХД	8-10
Думбқал тўра (<i>Ch. murale</i> L.)	ХД	6-7	СН	5-6
Оқ тўра (<i>Ch. album</i> L.)	-	-	-	-
Нгузумдонлар (<i>Solanaceae</i>)				
Дурмон (<i>Datura stramonium</i>)	ХХМ	10-12	Н	8-10
Мингашмона (<i>D. metel</i> L.)	ЯМ	18-20	-	-
Фитлак (<i>Physalis floridana</i> L.)	-	-	-	-
Таванининг <i>N. barley</i> пана	СМ	20-22	ЯМ	18-20
<i>N. rustica</i> пана	-	-	Н	14-16
Петуния (<i>Petunia hybrida</i>)	-	-	-	-
Помидор (<i>L. esculentum</i> Mill.)	ЯМ	10-15	ББ, ЯМ	6-8
Бокчажон (<i>S. melon-gena</i> L.)	-	-	-	-
Булдоғ қалъинири (<i>C. amaran</i>)	М	10-12	ХХМ	8-10
Дуккаксонлар (<i>Leguminosae</i>)				
Қорақўз нағна (<i>Vigna sinensis</i>)	-	-	-	-
Лабиздонлар (<i>Labiatae</i>)				
Ғайдон (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	-	-	-	-
Мочиндонлар (<i>Amaranthus</i>)				
Қудунайгуя (<i>A. spinosus</i>)	КХН	3-6	ҲН	5-6

Иш: жадвалнинг касаллик аломатлари устуқлиги: ХД – хлоротик дот, ХХМ – ҳал-хол мозанка, ЯМ – яшил мозанка, СМ – системали жёлдан, М – жёлдан, КХН – қалъа қалъали нократ, СН – сарғи нократ, Н – нократ, ҲН – Ҳарқ нократли; ** – боғлиқ вируснинг Дибра навдан тарқатилиш "оддий", *** – оёқ Умид навдан тарқатилган "некротик" изолятини нолтада.

Вируснинг Дибра навидан ажратилган изолати *Chenopodiaceae* oilasiga mansub kator turhlari, ya'ni *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor* va *Ch. murale* kabi turklarida U'chami jihatdan bir-biridan farqlanuvchi sariq xlorotik dog'larni keltirib chikarsa, *Solanaceae* oilasiga mansub *Datura stramonium* usimligida kol-kol mozanka, *D. metel* va *Lycopersicon esculentum* Mill usimliklarida esa yana mozanka alomatlarini keltirib chikargan bulsa, *Amaranthus* oilasiga mansub *Gomphrena globosa* usimligida esa kizil xalkali nekrozlarini keltirib chikarishni aniqlandi (Fayziev, 2011). Virusning KXB₁ izolati KXB₂ izolatidan farqli ravishda U'chami jihatdan sariq nekrozlarini va usimlik usimining sekunlashishi kabi alomatlarini keltirib chikarishni ma'lum buldi, kolgan usimliklardagi kasallik alomatlari jadvalda keltirilgan (1-jadval).

Virusing KXB₁ izolati KXB₂ izolatidan farqli ravishda tilmakning *N. barley* naviida yashil mozanka, *N. rustica* naviida nekrotik dog'larni, *Capsicum annuum* usimligida esa kol-kol mozanka alomatlarini keltirib chikarishni aniqlandi.

Xar isskala izolati ham *Chenopodiaceae* oilasiga mansub *Ch. album* usimligida, *Solanaceae* oilasiga mansub *Physalis floridana*, *Petunia hybrida*, *Solanum melon-gena*, *Capsicum annuum* kabi kasalliklarda, *Leguminosae* oilasiga mansub *Vigna sinensis*, *Labiatae* oilasiga mansub *O. basilicum* kabi usimliklarida kasallik alomatlarini keltirib chikarishni aniqlandi (1-jadval).

Demak, olib borilgan tadqiqotlar natijasida mam'lakatimiz ichim sharoitida tarqalgan, kartoshka usimligining U'chami jihatdan sistemali koramtir mozanka alomatlarini keltirib chikaruvchi *Datura stramonium*, *Ch. murale*, *Gomphrena globosa* kabi usimliklarda yirik nekrozlarini tez pайdo bulishiga olib keluvchi "nekrotik" KXB₁ izolati ajratildi va Dибra naviida kol-kol mozanka, *Datura stramonium* usimligida esa odдий sistemali mozanka alomatlarini keltirib chikaruvchi virusning "odдий" KXB₂ izolati bilan solishtirib, test-indikator usimliklari ёраминда идентификация келинди va kasallik alomatlari urganiб chikildi.

Virusing usimlik fotosintetik apparatiga taъsirini aniqlash. Fitoviruslar ham bosqich patologiya organizmlar singari xujayin organizmiga kirgandan sunг undagi ma'lum bir fiziologik jarayonlarga taъsir kўrsatib bu jarayonlarni uzartiradi va usimlik xujayirasini U'chami jihatdan uzur uzur kismalarini sintezlashga йunalтиради. Shuning uchun virusning usimlikda kechirilgan barcha fiziologik xususiyatlariga, ya'ni fotosintetik jarayonlarni taъminlovchi xlorofill va karotinoид pigmentlariga taъsirini urganiш maksad kelib chikadi. Buning uchun KXB₁ izolatining *Datura stramonium* usimligi bargidagi xlorofill "a" va "b" hamda karotinoид mikdoriga taъsir darajasi aniqlandi (2-jadval).

Jadvaldan xuriniб turibdiш, virus bilan kuchli va urtacha darajada kasallangan *D. stramonium* usimligi bargidagi xlorofill «a» mikdori ilzoratта nisbatan turт baralar pasayib ketganligini, ya'ni 2,80 - 2,88 mg/l ni

ташқил этган бўлса, кучли даражада касалланган ўсимлик баргида эса пигмент микдорининг назоратга нисбатан тўқоқ баравар камайtirganлиги, яъни 1,03 mg/l ни ташқил этганлиги аниқланди. Хлорофилл «b» пигментининг микдори эса назоратга нисбатан икки баравар пасайганлиги, яъни назоратда 5,16 mg/l ни ташқил қилган бўлса, тажрибаларда турли даражада касалланган ўсимлик баргида деярли бир хил даражада, яъни 2,18-2,25 mg/l ни ташқил этганлиги аниқланди.

2-жадвал

Вирус билан турли даражада касалланган *D. stramonium* ўсимлиги баргидаги пигмент микдорининг ўзгариши

Вариантлар	Тўқоқ узунлиги			C ₁ , mg/l	C ₂ , mg/l	C ₃ , mg/l
	D ₆₆₀ , nm	D ₆₈₀ , nm	D ₆₉₅ , nm			
Назорат*	0,925	0,462	0,593	9,96±0,06	5,16±0,04	2,24±0,06
Кучли касалланган	0,280	0,165	0,319	2,88±0,04	2,25±0,07	0,44±0,03
Уртача касалланган	0,272	0,160	0,303	2,80±0,07	2,18±0,03	0,40±0,01
Кучли касалланган	0,268	0,490	0,306	1,03±0,10	2,21±0,09	0,42±0,02

Ишор. p<0,05 – назоратга нисбатан ишончли, *–назорат соғлом ўсимлик ҳисобланади.

Каротиноид микдори ҳам назоратга нисбатан тўрт баравардан ортиқ камайганлиги яъни соғлом ўсимликда 2,24 mg/l ни ташқил этган бўлса, қолган касаллининг даражаларида эса деярли бир хил микдорда 0,40-0,44 mg/l ни ташқил этганлиги маълум бўлди (2-жадвал).

Бундан ташқари, ўсимлик қуруқ массасидаги хлорофилл «a», «b» ҳамда каротиноид микдори ҳам ўрганиб чиқилди (3-жадвал).

3-жадвал

Ўсимлик барги қуруқ массасидаги хлорофилл ва каротиноид микдорининг ўзгариши

Вариантлар	Ўсимлик барги қуруқ шундаги пигмент микдори, mg/g			Хлорофилл "a"нинг хлорофилл "b" га нисбати
	Хлорофилл "a"	Хлорофилл "b"	Каротиноид	
Назорат*	5,00±0,08	2,65±0,10	1,15±0,03	1:1,93
Кучли касалланган	1,41±0,05	1,16±0,09	0,24±0,02	1:1,28
Уртача касалланган	1,44±0,03	1,14±0,04	0,23±0,01	1:1,28
Кучли касалланган	0,53±0,07	1,09±0,06	0,20±0,01	1:2,14

Ишор. p<0,05 – назоратга нисбатан ишончли, *–назорат соғлом ўсимлик ҳисобланади.

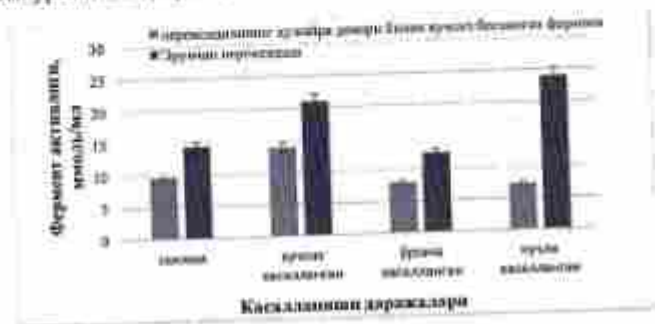
Ўрганишлар натижасида ўсимлик барги қуруқ массасидаги хлорофилл «a» пигментининг микдори назоратда 5,0 mg/g ни ташқил қилган бўлса, вирус билан кучли ва уртача даражада касалланган ўсимлик баргида 1,41 mg/g, кучли даражада касалланган ўсимлик баргида эса бу пигмент микдори 0,53 mg/g эканлиги ўрганишлар натижасида аниқланди. Хлорофилл "b" пигментининг микдори эса назоратда 2,65 mg/g ни ташқил қилган бўлса,

колган касалланиш даражаларида назоратга нисбатан икки баравар камайганлиги, яъни 1,09-1,14 mg/g оқаниги аниқланди (3-жадвал). Каротиноид миқдори ҳам назоратга 1,15 mg/g ни ташкил этган бўлса, колган турли касалланиш даражаларида эса дээрли бир хил 0,20-0,24 mg/g ни ташкил этганлиги ўрганишлар натижасида аниқланди (3-жадвал).

Олинган натижалар асосида хлорофилл "а" ning хлорофилл "b" га нисбати ҳисоблаб топилади, натижада соғлом ўсимликда бу кўрсаткич 1:1,93 ни ташкил қилган бўлса, вирус билан кучсиз ва ўртача даражада касалланган ўсимлик баргиди 1:1,28 ни, кучли даражада касалланган ўсимлик баргиди эса бу нисбат 1:2,14 ни ташкил этди (3-жадвал).

Демак, КХВ₂ изоляти *D. stramonium* ўсимлигининг фотосинтетик системасига таъсир этаб, касалланган даражасига боғлиқ равишда, хлорофилл "а"ни назоратга (9,96 mg/l) нисбатан ўртача 4,4 баравар (2,23 mg/l) ва "b"ни назоратга (5,16 mg/l) нисбатан 2,3 баравар (2,2 mg/l), каротиноидни эса назоратга (2,24 mg/l) нисбатан (0,42 mg/l) 5,3 баравар камайтириб юбориши аниқланди.

КХВ₂ изоляти билан касалланган ва соғлом ўсимликлардаги пероксидаза ферменти миқдорининг ўзгариш динамикасини ўрганиш. Ўсимлик пероксидазасини ўрганиш И.Г. Газарян (2006), В.О. Витязина (2012) каби катор муаллифларнинг фикрича ўсимлик хужайрасида пероксидазанинг хужайра девори билан кучсиз боғланган ва эрувчан формаларининг учриши, В.И. Малиновский (2010), М.Р. Шарипова (2013) каби муаллифлар маълумотига кўра пероксидаза ҳам PR-оқсилларнинг (*Pathogenesis-Related protein*) PR-9-оқсиллар гуруҳига мансублиги ҳамда уларнинг миқдори турли стресс шароитларида ўзгариши келтириб ўтилган. Шунинг учун кейинги тадқиқотларда вирус билан турли даражада касалланган ўсимликларда пероксидаза турлари миқдорининг ўзгариши ўрганилди. Бунинг учун механик инокуляция қилиш орқали КХВ билан турли даражада касалланган *D. stramonium* ўсимлигида пероксидаза динамикаси ўрганилди (1-расм).



1-расм. КХВ₂ изоляти билан касалланган *D. stramonium* ўсимлигидаги пероксидаза ферменти фаолиги

Расмдан кўриниб турибдики, нозиратга инсбатан кучсиз касалланган ўсимликда пероксидазанинг эрувчан формаси соғлом ўсимликта инсбатан ошганлиги, яъни 21,0 ммоль/мл ни, уртача даражада касалланган ўсимликда фермент активлиги 12,5 ммоль/мл ни, кучли даражада касалланган ўсимликда эса унинг активлиги янақ барабар ортганлиги, яъни 24 ммоль/мл эканлиги аниқланди. Хужайра девори билан кучсиз боғланган фермент формасининг активлиги соғлом ўсимликда 9,75 ммоль/мл ни ташкил этган бўлса, кучсиз даражада касалланган ўсимликда 14,0 ммоль/мл ни, уртача касалланган ўсимликда 8,0 ммоль/мл ни, кучли даражада касалланган ўсимликда эса 7,4 ммоль/мл ни ташкил этганлигини маълум бўлди (1-расм).

Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин, демак, пероксидаза ферменти эрувчан формасининг концентрацияси соғлом ва вирус билан касалланишнинг дастлабки вақтларидан бошлаб юқори бўлиб, касалланишнинг кейинги босқичларида ҳам унинг активлиги юқори даражада сақланиши, хужайра девори билан боғланган ферментнинг концентрацияси дастлаб ортиб кейин эса пасайиб бориши вирус билан касалланиш ўсимликнинг вегетатив органларида кечадиган физиологик тарафларнинг издан чиққишига олиб келишидан далолат боради.

КХВ, изоляти физ-кимёвий хусусиятларини қиёсий ўрганиш орқали штаммга хос белгиларини аниқлаш. Вируснинг мамлакатимиз илмий шароитида тарқалган изолятларининг штаммга хос хусусиятларини ўрганиш муҳим масалалардан бири бўлиб, кейинги тадқиқотларда унинг юқумчилиги, охириги суюлиш даражаси (ОСД) ва ҳарорат таъсирида фаолиятини йўқотиш даражаси (ХТФЙД) каби хусусиятлари ўрганилди (4-жадвал).

4-жадвал

КХВ штаммларининг асосий хусусиятлари

Штаммлар	ХТФЙД, °С	ОСД	Юқумчилиги
X ₀	69	10 ⁷	кучли юқумли
X ₁	70	10 ⁶	ўртача юқумли
X ₂	71	10 ⁶	ўртача юқумли
X ₃	71	10 ⁵	кучсиз юқумли
X ₄ *	70	10 ⁵	кучли юқумли
X ₅ *	72	10 ⁴	кучли юқумли

Изма: ***)- белгишган изолятлар дисципант тизимидан Ўзбекистонда ажратилган.

Бугунги кунгача вируснинг «X-суровий» (X₀) - картошканинг Дарунок Батъянвшина навидан Қозоғистонда, «X-киевский» (X₁) - картошканинг Ранняя роза навидан Киев вилоятида, «X-польский» (X₂) - картошканинг Прикульский ранний навидан Польшада, «X-херсонский» (X₃) - Херсон областида, «X-развитий» (X₄) - картошканинг Беранкенген навидан Московец, Шелудко, Козар ҳамкорлигида ажратилган. Бу штаммлар ичюда энг юқумдилари X₁ ва X₂ ҳисобланиб, улар бангидевона ўсимлигида жуда тез системали касаллик аломатларини юзага келтиради. Вируснинг Ўзбекистон илмий шароитида тарқалган X₀ ва X₅ изолятларининг ОСД ва ХТФЙД ларини ўрганилди ва жадвалда келтирилди (4-жадвал). Жадвалдаги

маълумотлардан кўришиб турибдики, вирус X_2 изолятида 72°C ни ташкил қилган бўлса, X_3 изолятида эса ХТФЙД 70°C ни, ҳар нуқала изолятида ҳам ОСД 10^5 ни ташкил этгани маълум бўлди.

Е.Н. Вауве (2005), Р.В. Гутова (2014) каби катор муаллифлар вируснинг X_2 , X_3 ва X_4 -штамлари қуритилган баргда 3 ой, ўсимликдан ажратилган ширада ҳона ҳароратида 2 ой гача, совутичда ($+4^{\circ}\text{C}$) бир йилга яқин, X_2 -штами эса ҳона шароитида қуритилган баргда 1,5 ой, ўсимликдан ажратилган ширада 2 ой гача, $+4^{\circ}\text{C}$ эса 6 ойгача сақланишини таъинлаб ўтишган.

Бу маълумотларга асосланган ҳолда дастлабки тадқиқотларимизда вирус X_2 изолятининг ва кейинги олиб борилган тадқиқотларда эса X_2 изолятининг ўсимлик баргида ва ундан ажратилган ширада сақланиш муддати аниқланди. Натижалар вирус юқумлилик даражасининг сақланишига боғлиқ ҳолда, *G.glabosa* ўсимлигида пайдо бўлган некротлар сонига қараб аниқланди ва қуйида келтирилди. Дастлабми ўтказилган тажрибалар асосида бу вирус багителсизга ўсимлиги қуритилган баргида ҳона ҳароратида 10-12 кун, $+4^{\circ}\text{C}$ да 96 кунгача, музлатилганда эса бир йилгача сақланиши, ўсимликдан ажратилган юқумли ширада эса худди қуритилган баргдagi сингари ҳона шароитида 10-12 кун, $+4^{\circ}\text{C}$ да 96 кун, музлатилганда эса 192 кунгача сақланиши аниқланди ва вирус юқумлилик узоқ муддат сақлалса, унинг юқумлилик хусусияти шунчалик пасайиб бориши аниқланган (Файзиёв, 2011).

Вирус X_2 изолятининг ҳам шундай икки ҳолатда сақланиши даражаси ўрганишанда, унинг ўсимлик баргидагилик ажратилган ширада сақланиш муддати КХВ₂ изоляти билан бир хил, фақат ўсимлик қуритилган баргида сақланиш муддати ҳона шароитида 4 ойгача, совутич шароитида 6 ойгача, музлатилганда эса 2 йилгача сақланиши ўтказилган тажрибалар асосида аниқланди. Мамлакатимизда ажратилган КХВ₂ ва X_2 изолятларини юқориди аниқланган биологик хусусиятларига асослаиб Польшада «Прикульский ранний» шавдан ажратилган кучли юқумлиликка эга бўлган X_2 -штамига солиштирадиган бўлса, бу штаммининг ХТФЙ даражаси 69°C , КХВ₂ изолятининг эса ХТФЙ даражаси 70°C , X_2 изолятиники эса 72°C эканлиги ва ҳона ҳароратида КХВ₂ 10-12 кун, X_2 изоляти эса қуритилган ўсимлик баргида 4 ойгача сақланиши аниқланган бўлса, X_2 -штами эса ҳона ҳароратида қуритилган ўсимлик баргида 1,5 ой гача сақланиши адабиётларда келтирилган. Ҳар нуқала ажратилган изолятларининг ОСД эса бир хил, яъни 10^5 ни ташкил этди.

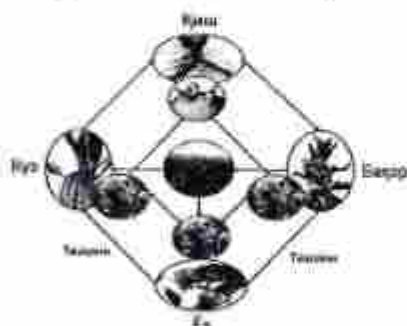
Олинган натижалар асосида қуйидагича ҳулоса қилиш мумкин, демак, КХВ₂нинг мамлакатимизда ажратилган изолятлари кучли юқумлилик, ОСД каби хусусиятлари билан X_2 -штамига ўхшаш, ammo ХТФЙД ҳона ҳароратида сақланиши билан фарқланиши аниқланди. Улардаги хусусиятларининг Европада тиркалган штаммларга ўхшашлиги, уларнинг келиб чиқиши ва тиркалиши шу минтақалардан экинчидаги далолат беради. Буни сўнгги йилларда мамлакатимизга картошка уруғлик туғанақларининг Европа мамлакатларидан олиб келиниши билан изоҳлаш мумкин.

КХВнинг циркуляцияси ва "табiiй ўчоқ" турини аниқлаш. Вирусга қарши кураш чоралари ишлаб чиқиш учун унинг табiiй циркуляцияси ва "табiiй ўчоқ" тили, вирус сақланиш манбалари каби биологик хусусиятларини аниқлаш муҳим ҳисобланади. Бунинг учун картошка экиш майдонлари атрофи ва ичида тарқалган бир қатор ёввойи ва маданий ўсимликлар ИФТ ва ИЦМ ёрдамида текширилиб, уларнинг ичидан касаллик аломатларини намойи қилмасдан яширин ҳолда вирус сақловчи табiiй-резерватор ўсимликлари аниқланди. Шу билан бир қаторда тажриба майдонида экилаган вирус билан механик инокуляция қилиш ёрдамида касаллаттирилган картошка ўсимликларининг туғунчаларини уч йил давомида қайта-қайта экиш ҳамда ушбу туғанақлардан юқумли шира тайёрлашиб, тест-индикатор ўсимликларга юктириш, ИФТ ва ИИД усуллари ёрдамида диагностика қилиш орқали вируснинг туғанақда сақланиши ва асосий инфекция манбаи сифатида вирус табiiй циркуляциясини таъминлашининга ёрдам бериши ҳақида ҳулоса қилиш имконини берди.

Ушундан, олиб борилган кузатишлар ва ўтказилган тажрибалар асосида вируснинг табiiй циркуляциясини қуйидаги расмда, схематик ривийида тасвирлаш мумкин (2-расм).

Расмдан кўриниб турибдики, вируснинг табiiйда айланishi иккита, яъни катта ва кичик айланishi доиралари мавжуд бўлиб, бу айланishi доиралари орқали вирус табиатда ўз циркуляциясини таъминлайди ва узок йиллар давомида сақлиниб боради. Вирус айланishiнинг катта доирасида

ёввойи ўсимлик ташувчи ёрдамида вирус билан касаллангандан сўнг ушбу ўзганларда сақлайди ва табiiй циркуляциясини таъминлайди. Резерватор ўсимлик вирусни баҳор, ёз ва куз фаслларида ер устиги органларида сақлайди, кишида эса унинг илдизиде сақланади. Маданий ўсимлик, жумладан картошка ўсимлигининг вегетатив органларида вирус кўпайиб, туғанақига ўтади ва сақланади, кейинги йилда ушбу вирус туғувчи туғанақни экиш ана вирусни табиатга қайтишига сабаб бўлади,



2-расм. КХВ табiiй циркуляциясининг схематик кўриниши

бу вирус айланishiнинг кичик доираси бўлиб, маданий ўсимлик билан чамбарчас боғлиқдир (2-расм).

Ю.Власовнинг фитовирусларнинг "табiiй ўчоқ"лар билан алоқадорлиги назариясига асосланган ҳолда КХВнинг табiiй айланishi доирасини таъминлаш учун бир вақтнинг ўзида маданий ва ёввойи ўсимликлардан фойдаланиши унинг турғун айланishi циркуляциясини таъминлаб беради.

Вируснинг табиатда айланishi эса иккита яъни катта ва кичик айланishi

донралари асосида амалга оширилади. Катта айланмиш донрасини куйидагича тасвирлашимиз мумкин: ёввойи резерватор ўсимлик – ташувчи – маданий ўсимлик – ташувчи – ёввойи резерватор ўсимлик; кичик айланмиш донраси эса: туганак – маданий ўсимлик – ташувчи – маданий ўсимлик тартибида тасвирлаш мумкин.

Шундан келиб чиққан ҳолда, КХВни "табiiий ўчоқ"лар билан аэокадорингига қараб иккинчи гуруҳга, яъни «Маданий ўсимликлар ичида турғун айланмиш ширкуляциясига эга бўлган табiiий ўчоқли касалликлар» тиниға мансублигини туганак таркибида сақлангани ва маданий ўсимликлар аъзоларида сақлангани кўрсатди. Вируснинг табiiийда бир қатор резерватор ўсимликлари мавжуд бўлсада, туганак орқали ҳам яилоддан – яилодга унатилади ва кўзгатувчи (вирус) билан маданий ўсимлик (картошка) орасида мустаҳкам алоқа сақланиб қолади.

КХВ₂ изолятини ажратиш, тоза препаратини олиш ва специфик зардоб тайёрлаш. Биологик хусусиятлари ўрганган КХВ₂ изолятига специфик антизардоб тайёрлаш уни ҳужайири ўсимликдан ажратиш, аралаш келган бошиқа вирусларнинг биологик тозаланиш, кўпайтириш ва тозаланган препарат олишни талаб этади. Шунларни эътиборга олган ҳолда КХВ₂ изолятини ажратиш ва биологик тозалаш схемаси ишлаб чиқилди ва у куйида келтирилган (3-расм).

намуна ⇒ гомогенизация ⇒ *D. stramonium* ⇒ *G. glabosa* ⇒ *D. stramonium*
 0,02 М ФБ, рН 7-8 (дифференциатор) (моноинфекция) (гумуза)

1-пассаж

⇒ гомогенизация ⇒ *D. stramonium* ⇒ *G. glabosa* ⇒ *D. stramonium*
 0,02 М ФБ, рН 7-8 (системали мозанка) (моноинфекция) (системали мозанка)

2-пассаж

⇒ гомогенизация ⇒ *D. stramonium* ⇒ 72°C да 10 дақ. ⇒ *N. tabacum*
 0,02 М ФБ, рН 7-8 (системали мозанка) (с/в ҳанговида) (системали мозанка)

3-пассаж

3-расм. КХВ₂ изолятини ажратиш ва биологик тозалаш схемаси

КХВ₂ изолятини ажратишда асосий табiiий манба сифатида картошканинг Умид навиди, дифференциатор ўсимлик сифатида *Datura stramonium* ўсимлигидан фойдаланилди. *D. stramonium* ўсимлигида касаллик аломати дастлаб некроз, кейинчалик системали мозанка сифатида пайдо бўлганлиги сўнг, ундан инокулом олиниб *G. glabosa* ўсимлигига юктирилди, пайдо бўлган некрозлардан ана қайта инокулом тайёрланилиб, қайта инокуляция қилинган орқали вирус моноинфекция ҳолида ўтказилиб биологик тозаланиб олинди. Шу билан бир қаторда вирусни аралаш инфекциядан тозаланиш мақсадида, вирусни шара 72°C да 10 дақиқа давомида ушлаб турилди ва *Nicotiana tabacum*нинг *N. barley* навиға юктириб кўпайтириб олинди (3-расм). Унда кўпайтирилган вирусни намуна олиштирилди.

копчаларга 250 г дан солиниб тоза препарат олиш учун музлатилган ҳолатда сақлаб қўйилди.

КХВ₂ изолятининг тозиланган препарати вирусли намунани 0,02М ли ФБ (рН 7.5) солиноб гомогенизация қилиш, органик эритувчилар билан ҳужайра компонентларини денатурициялаш, паст айланмида центрифуга қилиш ва 25% ли аммоний сульфат ёрдамида чуқуртириш орқали қисман тозиланган вирус препаратини олиш ва ундан TSK гелини қўллаб гельфилтрация қилиш орқали олинди (4-расм).



4-расм. КХВ₂ изолятининг тоза препаратини олиш схемаси

Олинган вирус препарати спектрофотометр ёрдамида 220–320 нм тўлқин узунлигида ўлчанганда, препаратнинг УВ-нурини минимал ютиш кўрсаткичи 245 нм, максимал кўрсаткичи эса 260 нм ни, 260/280 га нисбати 1,2 ни, яъни спирал симметрия асосида тузилган вирусларга хос бўлган кўрсаткични намоён қилди.

Ажратиб олинган вирус миқдори $E_{260}^{0,1\%} = 2,8$ га асосланиб ҳисоблаб топилди. Модификацияланган усул ёрдамида 1 кг вирусли материалдан дастлабки тадқиқотларимизда 3% ли агар-агар ва сефадекс (G-200) дан иборат бўлган комплекс колоника ёрдамида 135,5 мг ни ташкил этган бўлса (Файзиёв, 2011), кейинги тадқиқотлар натижасида гельфилтрация жараёнида TSK-75 гелини қўллаб дьюция тезлигини сонига 35 мл дан 50 мл га ҳамда тоза вирус препаратини эса 150 мг гача оширишга эришилди.

КХВ₂ изолятига поликлонал зараоб тайёрлаш ва иммунокиммёвий хусусиятларини аниқлаш. КХВ₂ изолятига поликлонал антитазардоб тайёрлаш ҳам КХВ₂ изолятига зардоб тайёрлаш каби амалга оширилди (Файзиёв, 2016). Бунинг учун гельфилтрация усули билан тозиланган гомоген вирус препарати 4 мг/мл дан кўйининг сон мускулларига ва курак териси остига қунора, жами 5 марта 1 мл вирус препарати ва 1 мл дан тўлиқ Фрейд адъюванти қўшилди юборилди. Охириги иммунизациядан 14 кун ўтгандан сўнг қўён қўлок венасидан биринчи марта 10 мл, уч кундан сўнг эса яна 10

мл қон олинди. Олинган қон 1 сутка давомида хона ҳароратида қолдирилгандан сўнг, секин қон зардобни қуйиб олинди ва қолган қоннинг шакли элементлиридан тозалаш учун 2000 айл./дақ.да 5 дақиқа давомида центрифуга қилиниб, чўйма усти қуйиб олинди ва унинг иммунокинезний хусусиятлари ўрганилди. Дастлабки тадқиқотларда вируснинг X_{62} изолятига тайёёрланган зардобнинг титри 1:16 ташкил этган бўлса (Файзиев, 2011), вируснинг X_{62} изолятига тайёёрланган поликлонал зардобнинг титри эса 1:32 ни ташкил этди (5-расм).

Титри аниқланган зардоб алоҳида флакнларга, 0,6 мл зардоб ва 1-2 томчи хлороформ солиб яхшилаб берилтиланган сўнг -4°C да сақлаб қўйилди. Ажратилган зардоб миқдори жами 20 мл олинган қондан 12,5 мл ни ташкил этди. Агар ИФТ усулида битта намунани текшириш учун 10 мкл суюлтирилмаган зардоб сарflanса, 100 мкл 10 та намунага, 1 мл эса 100 та намунани текширишга, 12,5 мл суюлтирилмаган ҳолатдаги зардоб 1250 та намунани текширишга етади.



5-расм. Индикатор AG - КХВ, изолят 62ни касалланган *Nicotiana glauca* Усаннинг вирусни шароити жамин AG, 2 - шунда вирус репродуцирани қириқх жоборни орасини янгиликте аниқланганда шунини зардоб, СП - шунда суюлтириши даражасини кўрсатди.

5-расм. X_{62} изолятига тайёёрланган зардобнинг ИИД усули ёрдамида аниқланган титри

Шундай қилиб, X_{62} изолятига юқори титрли специфик зардоб тайёёрланди. X_{62} изолятига тайёёрланган зардобнинг титри эса 1:32 ни ташкил қилди ва уни титрга мувофиқ равишда суюлтирилса, миқдори 62,5 мл ни ташкил этади, бу 6255 та намуналардан вирусни аниқлаш имконини беради. Тайёёрланган зардоб вируснинг табиий циркуляцияси ва резерватор ўсимликларни аниқлаш ҳамда вирусга чидамли ила ва намуналарни аниқлашда ишлатилди.

КХВ₆₂ изолятига тайёёрланган поликлонал зардобни вирус диагностикасида қўлдан. Бунинг учун "Сабзавот, помидр экинлари ва картошкачилини" институти тажриба даласида экилган 30 дан ортиқ навларни лаборатория шароитида ИФТ ва ИИД ёрдамида текширилиб, чидамлилиги аниқланди (5-жадвал).

Олиб борилган тадқиқотлар ва ушбу йўналишдаги дастлабки иммунологик текширишлар натижасида, аввалги шу йўналишда олиб борилган тадқиқотлардаги сингари ушбу вирусга иммун бўлган картошка навлари аниқланмади (Файзиев, 2011), фикратига Кондор ва Курало навлари асосий чидамли эканлиги, Вирго, Невский, Пикассо ва Сарнов каби навлар КХВ билан қучмас касалланувчи гуруҳга мансублиги, ўртача касалланган

навларга Дитте, Романо, Арнова, Мирям, Марфона, Писком, Дюманд, Гулиер, Розара-Агате, Кординал каби қатор навлар мансублиги аниқланган бўлса, чидамсиз навларга эса Ред-скарлет, К-10 (Қизгалдоқ), Умид, Радуга, Алявара кабилар мансублиги аниқланди (5-жадвал).

5-жадвал

Картошка навлари ва клоналарининг КХВ билан касалланиш даражасини аниқлаш

Картошка навлари ва яратилган давлат номи		касалланиш даражаси, % хисобда	Картошка навлари ва яратилган давлат номи		касалланиш даражаси, % хисобда
Пикассо	Голландия	23,0	Дитте	Голландия	35,2
Ред-скарлет	Голландия	68,4	Дезири	Голландия	45
Дюманд	Голландия	45	Сингз	Голландия	36,3
Қизгалдоқ	Ўзбекистон	72,2	Курадо	Голландия	10,0
Фреско	Голландия	66,7	Романо	Голландия	30,0
Липик	Ўзбекистон	52,9	Арнова	Голландия	30,0
Гулиер	Голландия	38,7	Мирям	Германия	30,4
Умид	Ўзбекистон	63,2	Вирго	Германия	20,2
Розара-Агате	Германия	48,7	Марфона	Германия	40,5
Туйман	Ўзбекистон	30,5	Невский	Россия	15,3
Кординал	Голландия	47,8	Кониор	Голландия	5,0
Арпада	Россия	40	Писком	Ўзбекистон	40,6
Радуга	Россия	54,2	Серросия	Ўзбекистон	62,7
Алявара	Германия	66,7	Сарпоз	Ўзбекистон	24,7
Акраб	Ўзбекистон	32,9	Дюера	Ўзбекистон	61,2

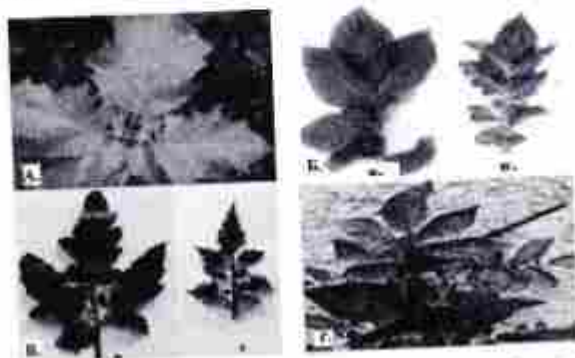
Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин, демак, тайёрланган специфик зардоб вирус диагностикасида, жумладан чидамли навларни аниқлашда қўлланилади. Ўтказилган текширишлар натижасида нав ва намуналар ичида КХВга имзасиз навлар аниқланмади, шунинг учун Курало, Кондор каби амалий чидамли; Вирго, Невский, Пикассо ва Сарпоз каби навлар эса кучсиз касалланувчи навлар эканлиги аниқланди. Бу навлардан келажакда селекционерлар вирусга чидамли навлар яратишда фойдаланиши, самарали натижаларга эришилади.

Диссертациянинг “КХВнинг иммунологик ва молекуляр-генетик усулда диагностика қилиш ҳамда филогенетик анализи” деб номланган бешинчи бобида вируснинг иммунологик ва ПЗР усули ёрдамида ўрганилган хушсизликлари устида олиб борилган тадқиқот натижалари ҳақидаги маълумотлари келтирилган. Бунинг учун дастлаб бир қатор иммунологик усуллар сезирилги КХВ антигени асосида ўрганилди ва уларнинг ичидан ИФТ “сандвич” вариантнинг сезирилги 10^9 эканлиги (Файзиев, 2011), кейинги тадқиқотларда эса нитроцеллюлоза мембранасида иммуноблотнинг усулининг сезирилгиини ҳам солиштирилди ва унинг сезирилги 10^{10} тенг эканлиги аниқланди. Шунинг учун кейинги тадқиқотларда ИЦМ

вариантлари қўлланилиб олинган баъзи ноаник бўлган натижалар ушбу усул ёрдамида қайта кўриб чiqилди.

КХВнинг табиий-резерватор ўсимликларини НЦМ иммуноблотнинг усули ёрдамида аниқлаш. Вируснинг табиий-резерватор ўсимликларини урганиш бўйича олиб борилган дастлабчи тадқиқотларда ИФТнинг «сеядич» варианты ёрдамида 16 онлага маъсуб 37 тур ёввойи ва маланий ўсимликлар текширилган бўлиб, уларнинг ичидан вирус бор йўқлиги номаълум бўлган ўсимликлар аниқланган эди (Файзиев, 2009). Кейинги тадқиқотларда эса НЦМда иммуноблотнинг усули ёрдамида ушбу ўсимликлар қайта текшириб чиқилди ва вируснинг олабути (*Atriplex micrantha* С.А.Мей), итузум (*Solanum nigrum*), думбил шўра (*Ch. virale*), оддий шўра (*Ch. quinea*), ёввойи гултожиқхўроз (*Amaranthus retroflexus*), бургон шувоғи (*Artemisia annua*), эрмон шувоғи (*Artemisia vulgaris*), даш рангўти (*Sinapis arvensis* L.), хартол қарами (*Brassica juncea* (L.) Czern) каби ИФТ сезгирлигидан четда қолган янги табиий резерватор ўсимликлари аниқланди. Бу вируснинг мамлакатимиз иқлим шароитида табиий ширкуляциясини ҳамда «табиий ўчоқ» типини аниқлаш ҳамда қарши кураш чораларини ишлаб чиқиш учун асос бўлиб хизмат қилади.

КХВ изолятларини туран табиий намуналардан ҚТ-ПЗР усули ёрдамида диагностика қилиш. Сўнгги йилларда фитовируслар диагностикасида молекуляр-генетик усуллар кенг қўлланилган бўлиб, мамлакатимизда эса бугунги кунгача ИФТ анализи усули қўлланилган бўлиб, унинг сезгирлиги вариантларга боғлиқ равишда $\sim 10^4$ - 10^2 ед/мл ва ПЗР усулининг сезгирлиги эса $\sim 10^1$ - 10^2 ед/мл натиғига тенглиги келтирилган (Шяхов, 2017). Шунинг учун ушбу ишда турли касаллик аломатлари маъжуд бўлган ўсимликлардан (8-расм) олинган намуналардан ҚТ-ПЗР усули ёрдамида КХВни диагностика қилинди.



8-расм. ҚТ-ПЗР усулида КХВга текширилган ўсимликлар: А - систематики ҳал-қол маълум аломатлари маъжуд дўрмон ўсимлиги (*D. stramonium*); Б - ҳал-қол номаълум аломатлари бўлган қартошка ўсимлиги барги (*S. tuberosum*), Дашра пани; В - маъжуд аломатлари маъжуд помидор ўсимлиги (*L. esculentum* Mill) (МДУ тақриби майкўнанида олинган); Г - ҳал-қол маълум аломатлари бўлган қартошка ўсимлиги барги, Умид пани.

Ўсимликлардан олинган намуналар диофил журитилган ҳолатда МДУнинг Вирусология кафедраси “Ўсимлик вируслари биохимияси” илмий лабораториясида б.ф.д., проф. С.Н. Чирков билан биргаликда, КТ-ПЗР усули ёрдамида аниқланди ва ушбу берилган методик ва амалий ёрдам учун б.ф.д., проф. С.Н. Чирковга ўз миннатдорчилигини билдирамыз. КТ-ПЗР натижалари электрофорез курилмасида 2% агароза гелида визуализациялаштирилди ва электрофореграммада келтирилган (9-расм).



Электрофорез 2%-ли агароза гелида амалга оширилди. M1 – 100bp DNA ladder (Pulsar); M2 – 150 bp DNA ladder. Psa. 1 – дўрмо (*Datura innoxiosa*) ўсимлигининг янгиликдан олинган киритилган КХВ (11-расм), A2 2 – қармоқсимлиг Уюл2 нисидан олинган оловоздан киритилган КХВ (11-расм), B1, 2 – янгиликдан олинган дўрмо (*Datura innoxiosa*) (*Datura innoxiosa* M1) (M2) олинган ширинлик киритилган КХВ (11-расм, B), 4 – қармоқсимлиг Дюда ширинлик олинган ширинлик киритилган КХВ (11-расм, Г). Праймерлар PVZIF/PVZIR. ПЗР киритилган Ahmad et al. de (2023) келтирилган усулига амалга оширилди.

9-расм. КХВни КТ-ПЗР усули ёрдамида ўсимликларда диагностика қилиш

Расмдан кўриниб турибдики, КТ-ПЗР усули ёрдамида ўтказилган текшириш натижасида намуна олинган ҳар тўрттада ўсимликларнинг барчаси КХВ билан касалланганлигини электрофореграмма линиялари асосида маълум бўлди.

Демак, ўтказилган текширишлар натижасида касаллик аломатлари мавжуд ўсимликлардан КХВ КТ-ПЗР усули ёрдамида диагностика қилинди ва бу кейинги тадқиқотлар олиб бориш, яъни вирусни молекуляр-генетик ҳусусиятларини ўрганиш учун асос бўлиб хизмат қилади.

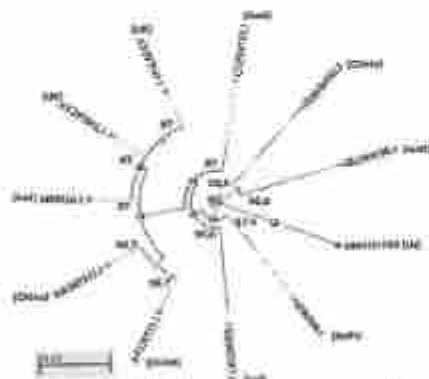
Ўзбекистон иқлим шароитидан ажратилган КХВ, изолятини *ORF15* гени асосида ўрганиш ва филогенетик анализ қилиш. Бунинг учун диофиллазиши қилинган вирусдан намунадан ва журитилган дўрмо баргидан вируснинг суммар (total) ва геном РНКси икки усулда ажратилди. Биринчи усул вирусга тайёрланган поликлонал антитангага вирус заррасини иммуносорбция қилиш йўли билан вирус геном РНКси ажратилган бўлса (10-расм, 1,3), иккинчи усулда эса вируснинг суммар РНКси махсус тўқлам (RNeasy Plant Mini Kit) таркибига кирувчи селенагелли колонка ёрдамида ажратилди (10-расм, 2,4).



Электрофорез 1,2%-ли агароза гелида амалга оширилди. M – 150 bp DNA ladder. Psa. 1, 2 – диофиллазиши қилинган дўрмо (*Datura innoxiosa*) ўсимлигининг киритилган КХВ; 3, 4 – қармоқсимлиг дўрмо баргидан киритилган КХВ. 1, 3 – ажратилган суммар вируснинг натижасида вирус заррасини иммуносорбция қилиш йўли билан ажратилган КХВнинг геном РНКси (Ag15, Ag20); 2, 4 – RNeasy Plant Mini Kit келтирилган ёрдамида ажратилган КХВнинг умумий РНКси (Orn1, Ag20) Қўйилган триафтороин ва бекетонинг ёқилиш натижасида ажратилган (Andino Isolation).

10-расм. КХВ_а изоляти *ORF15* генига тайёрланган специфик праймерлар ёрдамида олинган ПЗР махсулоти электрофореграммаси

ПЗР махсулоти гелдан скальпел ёрдамида кесиб олиниб тозаланди ва секвенс қилиш учун топширилди (Евроген, Россия). Секвенс натижаларини кура, КХВнинг Ўзбекистон иллим шартлида ажратилган изоляти ORF₂5 генининг нуклеотид кетма-кетлиги аниқланди ҳамда у Халқаро ген банк – NCBIга PVXUZ номи билан MN702769 риками остида жойлаштирилди. Изолятининг ўрگانланган нуклеотид кетма-кетлиги кейинги биоинформатик таҳлил ўтказиш учун фойдаланилди. Ўтказилган таҳлиллар натижасида мамлакатимизда тарқалган (MN702769) КХВ, изоляти D00344.1 изоляти (Нидерландия) билан 97,48%, GU384732.1 (Австралиядан), AY297843.1, AY297842.1 ва M95516.1 изолятлари (Буюк Британия) билан эса 97,06% гомологияга эга эканлиги аниқланди ва унинг филогенетик шажараси яратилди (11-расм). Филогенетик шажарадан кўриниб турибдики, ушбу изолят келиб чиқиши жиҳатдан Нидерландиядан ажратилган изолят D00344.1 билан жуда яқин келиб чиқишга эгаллиги, GU384732.1 изоляти билан эса филогенетик шажарада узоқ шохда жойланганлиги, уларнинг битта яқин ақлоддан тарқалгани ва кейинчалик уларнинг географик бўлиниш натижасида фарқларининг пайдо бўлиши натижасида келиб чиққанлигини далилат беради (11-расм).



11-расм. Ўзбекистонда ажратилган КХВ, изолятининг филогенетик шажараси

Сўнг маълум ўзгаришга учраган янги изолят сифатида қайд этиш мумкин.

КХВ, изоляти оксал қобиғи аминокислота таркибининг қиссий таҳлили. Бунинг учун изолятининг оксал қобиғи аминокислота таркиби дунёнинг бошқа минтақаларда тарқалган D00344.1 (Netherlands (X3)), M95516.1 ва X88788.1 (UK), KR605395.1 (India), KJ620846.1 (China), AF260641.1 (South Korea), GU384732.1 (Australia) изолятлари билан солиштирилиб, улар орасида аминокислота соми ва таркиби жиҳатидан фарқлар маъжудлиги аниқланди. Жумладан, мамлакатимиздан ажратилган изоляти оксал қобиғинининг умумий 236 аминокислотадан иборатлиги ва D00344.1 изолятидан Ser, Thr, Asp, Iso, Val – қоби аминокислоталар соми жиҳатдан тифовут қилини аниқланди.

ХУЛОСАЛАР

“Қартошқа Х вирусининг Ўзбекистонда тарқалган изолятини ажратиб, хусусиятларини ўргатиш ва унинг диагностикаси” мавзусидаги докторлик диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар асосида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Диссертация мавзуси бўйича олиб борилган тадқиқотлар асосида КХВнинг бир-биридан фарқ қилувчи хўжайин ўсимликда оддий мозанка аломатини келтириб чиқарувчи “оддий” X_0 ва *Datura stramonium* ўсимлигида барг эти некрози аломатини келтириб чиқарувчи “некротик” X_n изолятлари ажратилди, тест-индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатлари аниқланди, биологик ва физик-кимёвий хусусиятлари асосида идентификация қилинди ҳамда вируснинг хлорофил “a” пигменти миқдорини назоратта (9,96 $\mu\text{g/l}$) нисбатан 4,4 баравар (2,23 $\mu\text{g/l}$) ва хлорофил “b” миқдорини назоратта (5,16 $\mu\text{g/l}$) нисбатан 2,3 баравар (2,2 $\mu\text{g/l}$), каротиноид миқдорини эса назоратта (2,24 $\mu\text{g/l}$) нисбатан (0,42 $\mu\text{g/l}$) 5,3 баравар камайтириши қайд этилди.

2. КХВ_n изоляти билан касалланган ва соғлом ўсимликда эрувчан ва хужайра девори билан кучсиз боғланган пероксидаза ферменти динамикаси аниқланди, ўтказилган тажрибалар асосида хужайра девори билан кучсиз боғланган пероксидаза миқдори соғлом ўсимликдаги 9,75 ммоль/мл ни ташкил этса, вирус билан касалланган даражасига қараб 7,4-14,0 ммоль/мл гача, эрувчан фермент миқдори эса соғлом ўсимликда 10,85 ммоль/мл ни, касалланган ўсимликда эса 12,5-24,3 ммоль/мл гача ошишини маълум бўлди.

3. Вирус дифференциатор *D. stramonium* ўсимлиги ёрдамида хўжайини ўсимликдан ажратилиб, *G. glabra* ўсимлиги ёрдамида мононекроздан ўтказиш орқали биологик тозаланди ва туғилувчи *Nicotiana glauca* ўсимлигида максимал кўнайитириб олинди ҳамда гелифильтрация қилиш орқали тозаланган препарат олинди, препарат нур юзишнинг максимал даражаси 260 нм ни, минимали эса 245 нм ни, 260/280 нисбати эса 1,2 ни, яъни спирал симметрия асосида тузилган вирусларга хос эканлигини намойиш қилади.

4. Гомоген вирус препарати асосида КХВ_n изолятига специфик поликлонал АТ тутувчи зардоб тайёрланди, тайёрланган зардобнинг титри 1:32 ни ташкил этди ҳамда олинган зардоб ИИД, ИФТ каби усулларда ишлатилиб, вирус билан кучсиз касалланувчи Қурадо, Кондор каби амалий чидамли; Вирго, Невский, Писсасо ва Сарнов каби кучсиз касалланувчи навлар аниқланди ва селекционерларга вирусга чидамли навлар яратиб учун тавсия этилди.

5. ИЦМда иммунобластинг усули ёрдамида 16 оиллага мансуб 32 тур ўсимликлар текширилиб, вируснинг олабута (*Atriplex nigranthes* С.А.Мей), итузум (*Solanum nigrum*), думбия шўра (*Ch. murale*), оддий шўра (*Ch. quinoa*), ёввойи гултожичўроқ (*Amaranthus retroflexus*), бурғон шувоги (*Artemisia annua*), эрмон шувоги (*Artemisia vulgaris*), дала рангўти (*Sinapis arvensis* L.), хартол харам (*Brassica juncea* (L.) Czern) каби ИФТ сезгирлигидан четда қолган вируснинг янги табiiй резерватор ўсимликлари қайд этилди.

6. КХВнинг оксил кобиги синтезига жавобгар гени асосида помидор, картошка ва дурмон усимликларидан олинган табiiий намуналардан КТ-ПЗР усули ёрдамида вирус изолятларининг диагностикаси амалга оширилди.

7. Ўзбекистон иқлим шaroитида ажратилган КХВ₁ изоляти ORF₅ гени нуклеотид кетма-кетлиги билан D00344.1 изоляти билан 97,48%, AY297843.1, AY297842.1, M95516.1 каби Европа изолятлари ҳамда Австралиядан ажратилган GU384732.1 изоляти билан 97,06% гомологлиги аниқланган бўлса, филогенетик тахлиллар асосида эса D00344.1 изоляти билан яқин ва битта шажара шохида жойлашганлиги унинг Европа изолятидан келиб чиққанлиги ҳамда мамлакатимиз иқлим шaroитига тушгандан сўнг маълум ўзгаришга учраганлиги кайд этилди ва ушбу изолят MN702769 рақам билан PVXUZ изоляти сифатида NCBI базасига жойлаштирилгани билан изоҳланади.

8. КХВ₁ изолятининг оксил кобиги аминокислота таркиби бўйича 97,48% гомологияга эга бўлган ва филогенетик шажара дарахтида битта шохада жойлашган шжодои (X3) D00344.1 изолятидан Ser, Thr, Asp, Iso, Val – каби аминокислоталар сони жиҳатидан тафовут қилиши кайд этилди.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. КХВ-уз изолятнинг ажратилиши ва индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатларини ўргатиши // ЎзМУ хабарлари, Махсус сон: Биология туркуми, -Тошкент, 2013. -№4/2. 179-181-б. (03.00.00; №9).

2. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Картошка Х-вирусини ажратилиши, тоза препаратини тайёрлаши ва баъзи хусусиятларини ўргатиши // Ўзб. биол. журн. - Тошкент, 2013. - № 5. 29-34-б. (03.00.00; №5).

3. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Картошка Х-вирусининг Ўзбекистонда тарқалган изолятнинг ажратилиши ва идентификация қилиши // Ўзб. биол. журн. - Тошкент, 2015. - № 4. 18-21-б. (03.00.00; №5).

4. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Ўзбекистонда тарқалган картошка Х-вирусининг штаммига хос хусусиятларини аниқлаши // ЎзМУ хабарлари, Махсус сон: Биология туркуми, -Тошкент, 2015. -№3/2. 56-59-б. (03.00.00; №9).

5. Файzieв В.Б., Марасулов А.Ф. Технология распознавание как диагноз-прогноз и решение задач иммунодиагностики вирусов картофеля // ЎзМУ хабарлари, -Тошкент, 2016. - № 3/2. 64-68-б. (03.00.00; №9).

6. Файzieв В.Б., Фатхуллаева Ф.Э., Ваҳобов А.Х. Картошка Х-вирусига поликлонал антителардоб тайёрлаши ва титрини аниқлаши // Инфекция, иммунитет ва фармакология, - Тошкент, 2016. - № 4. 163-167-б. (15.00.00; №6).

7. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х., Журасева У.М. Изучение некоторых биологических свойств S-вируса картофеля с методом иммуноферментного анализа // Ўзб. биол. журн. - Тошкент, 2017. - № 2. 27-33-б. (03.00.00; №5).

8. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Картошка Х-вирусини тўқловчи хўжайини ўсимликларини аниқлаши // ЎзМУ хабарлари, - Тошкент, 2017. - № 4/2. 179-181-б. (03.00.00; №9).

9. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х., Жавлиева Д.Т., Журасева У.М. Выделение, очистка и изучение иммунохимических характеристик ХВК // Ўзбекистон биология журнали, 2019. № 2 сон, Тошкент, 27-33 бет. (03.00.00; №5)

10. Файzieв В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х., Жавлиева Д.Т., Журасева У.М. Изучение распространения и определение растений резервуаров X и L вирусом методом иммуноферментного анализа // Научное обозрение: Биологические науки. №2, 2019. -с. 79-86. (03.00.00; №23).

11. Fayziev V.B., Javlieva D.T., Chirkov S.N., Jurayeva U.M. Study of some biological properties necrotic isolyat of Potato virus X and phylogenetic

analysis//International Journal of Psychosocial Rehabilitation, Vol.24, Issue 09, 2020. PP. 455-462. ISSN:1475-7192 (№3, Scopus, Impact Factor -0,08).

12. Fayziyev V.B., Javlieva D.T., Jurayeva U.M., Jaloliddin Sh., Eshboyev F.B. Effect of PVX-Uz 915 necrotic isolate of Potato veris X on amount of pigments of *Datura stramonium* leaves// Journal of Critical Reviews, Vol 7, Issue 9, 2020. PP. 400-403. DOI: <http://dx.doi.org/10.31838/jcr.07.09.82> (№3, Scopus, Impact Factor -0,6).

II бўлим (II часть; II part)

13. Fayziyev V.B., Vakhobov A.KH. The study of the biological properties of potato virus X in common environmental conditions of Uzbekistan// European Sciences review. № 1-2 2019 (January-February). Volume 2, 46-50 p. (№5, Global Impact Factor -1,44).

14. Файзиёв В.Б., Қоширова З.Н., Ваҳобов А.Х., Эшбоев Ф., Жураева У.М. Изучение распространения у естественных растений резерваторов УВК методом ИФА // Вестник Прикаспия, Астраханская обл., 2014. №2 (5), С. 6-10.

15. Файзиёв В.Б., Қадирова З.Н., Ваҳобов А.Х., Жураева У.М. Выявление ХБК и изучение некоторых биологических свойств // Материалы II Международной научно-практической конференции молодых учёных «Теоретическое и практическое развитие науки в современных социально-экономических условиях», -Россия, Москва, 2013. С. 109-110.

16. Fayziyev V.B., Kadirova Z.N., Eshboyev F., Vakhobov A.KH. Spreading of PVL over Samarqand and Tashkent Regions // Regional Conference of Young Scientists on Recent Trends in Physical and Biological Sciences, March 7-8, 2014. Bangalore, P. 56.

17. Махкамов С.А., Файзиёв В.Б., Ваҳобов А.Х. Турли ёввойи ўсимликлардан ажратилган пероксидаза ферментининг термостабиллиги хусусиятини аниқлаш // Биология ва экологиянинг долзарб муаммолари, Республика миксидлаги илмий-амалий конференция, Тошкент, 2015. 400-401-бетлар.

18. Файзиёв В.Б., Фатхуллова Ф.Э., Ваҳобов А.Х. Картошка Х-вирусига таъбириланган антигарадобнинг титрини иккиёқлама иммунодиффузия усули ёрдамида аниқлаш // Биология ва экологиянинг долзарб муаммолари, Республика илмий-амалий конференция, Тошкент, 2015. 323-324 бетлар.

19. Файзиёв В.Б., Ваҳобов А.Х. Картошка ўсимлиги бағр тўқимасидаги Х ва L вирус микдорини ИФА усули ёрдамида аниқлаш // Академик Тўрақулов Ёлқин Холматовичнинг 100 йиллик таваллудига бағишланган «Физик-кимёвий биология ва эндокринологиянинг долзарб муаммолари» маълумидлаги Республика миксидлаги илмий-амалий конференция, Тошкент, 16 ноябрь, 2016. 7-8 бетлар.

20. Шохиддинова М.Н., Файзиёв В.Б. Агмагазия rustikana ўсимлиги турли аъзоларидаги фермент микдорини аниқлаш // Академик Тўрақулов Ёлқин Холматовичнинг 100 йиллик таваллудига бағишланган «Физик-

кимёвий биология ва эндокринологиянинг долзарб муаммоларини мавзусидаги Республика миқёсидаги илмий-амалий конференция, Тошкент, 16 ноябрь, 2016. 14-15 бетлар.

21. Махкамов С.А., Шохиддиқова М.Н., Файzieв В.Б. Усимлик пероксидазасининг қисман тозаланган препаратини олиш // «XXI аср – интеллектуал ашлод асри» мавзусидаги Ёш олимлар ва талабаларнинг Республика миқёсидаги илмий-амалий конференция, Тошкент, 18 май, 2017. 52-53 бетлар.

22. Махкамов С.А., Файzieв В.Б. Усимлик пероксидаза ферментининг активлигини температурага боғлиқ ҳолда ўргиниш // «Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари» Республика миқёсидаги илмий конференция, Тошкент, 12-13 май, 2017. 183-184 бетлар.

23. Махкамов С.А., Файzieв В.Б., Откулок (A. rustikana) пероксидаза ферментининг хужайра девори билан қучиқсиз боғланган ва эрувчан формасини ўргиниш // «Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари» Республика миқёсидаги илмий конференция, Тошкент, 18-19 май, 2018. 110-112 бетлар.

24. Файzieв В.Б., Қадирова З.Н., Вахобов А.Х. Картошқа клинларининг картошқа Х-вирусига чидамлигини баҳолаш // «Биологиянинг долзарб муаммолари» Республика миқёсидаги илмий-амалий конференция, Фарғона, 17 май, 2018. 265-266 бетлар.

25. Махкамов С.А., Файzieв В.Б. Откулок (A. rustikana) пероксидаза ферментининг хужайра девори билан қучиқсиз боғланган ва эрувчан формасини ўргиниш // «Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари» Республика миқёсидаги илмий конференция, Тошкент, 18-19 май, 2018. 110-112 бетлар.

26. Ахмадалиев Б.Ж., Файzieв В.Б. Тошкент вилоятига картошқа М вирусининг тарқалишини ИФА усули ёрдамида аниқлаш // «Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари» Республика миқёсидаги илмий конференция, Тошкент, 18-19 май, 2018. 39-40 бетлар.

27. Файzieв В.Б., Вахобов А.Х. Картошқа Х вирусини «стабил ўчоқ» типини аниқлашнинг назарий ва амалий аҳамияти // Меж. научной конферен. «Непрерывное образование и устойчивом развитии: проблемы и решения», Чирчик, 2019. 2-том, -С. 300-302.

28. Файzieв В.Б., Жаълиева Д.Т. Картошқа турли вазуналаридан Х вирусини ажратиш ва қучиқсизлик даражасини аниқлаш // «Непрерывное образование и устойчивом развитии: проблемы и решения», Чирчик, 2019. 2-том. С. 300-302.

29. Тўрақонова Э.Э., Жаълиева Д.Т., Файzieв В.Б. Картошқа Х вирусининг *Datura stramonium* ўсимлигини барғидаги хлорофил микродорига таъсирини аниқлаш // «Аграр содани истиқболли ривожлантиришда ресурс тежовати инновацион технологиялардан самарали фойдаланиш» мавзусидаги Халқаро миқёсидаги илмий конференция, Андижон, 20-21 сентябрь, 2019. 321-323 б.

30. Тоғиев С.А., Нугмонова К.И., Файзиёв В.Б., Вахобов А.Х. // Картошка X вирусининг умумий хусусиятлари // «Состояние и перспективы развития микробиологии и микробной биотехнологии в Узбекистане» Республиканская научно-практическая конференция, посвященная 80-летию выдающегося ученого биохимика и биотехнолога Узбекистана академика А.Г.Халмурадова, Ташкент, 24 октября, 2019.С. 51-52.

31. Файзиёв В.Б., Жавидова Д.Т. Выделение некротическое штамма X вируса картофеля и изучение некоторых свойств // Меж. научной конферен. «V Образовские чтения: Вклад тюркской цивилизации в развитие науки и образование», Шымкент, 30 октября, 2019. 2-том. С. 421-423.

32. Файзиёв В.Б., Бахтиёрва М.С., Ботирова Н.Т., Сулаймонов О.А., Вахобов А.Х. Картошка вирусларини ИФА ёрдамида аниқлаш ва картош кураш чоралари бўйича тавсиянома // Тошкент, Адабиёт учкувлари, 2019. 38 бет.