

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ФАНЛАР АКАДЕМИЯСИ
МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ**

Қўлёзма ҳуқуқида

УДК 578.74: 578.85: 578.083: 577.15

ФАЙЗНЕВ ВОХИД БАХРОМОВИЧ

КАРТОШКА ВИРУСЛАРИНИНГ ИММУНОДИАГНОСТИКАСИ

03.00.23 – биотехнология

03.00.06 – вирусология

биология фанлари номзоди илмий даражасини олиш
учун тақдим этилган диссертация

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т И

Тошкент – 2011

Диссертация иши Мирзо Улугбек номидаги Ўзбекистон Миллий университетида бажарилган.

Илмий раҳбарлар:

биология фанлари доктори, профессор
Ваҳобов Абдурасул Ҳакимович

биология фанлари номзоди
Қодирова Зарифа Носировна

Расмий оппонентлар:

биология фанлари доктори
Ҳасанов Ботир Ачилович

биология фанлари номзоди
Маҳсумханов Аҳмаджон Аъзамхонович

Етакчи ташкилот:

ЎзР ФА Иммунология институти

Ҳимоя ЎзР ФА Микробиология институти ҳузуридаги биология фанлари доктори илмий даражасини бериш учун мўлжалланган Д 015.02.01 рақамли Ихтисослашган кенгашнинг "5" ИЮЛ 2011 йил соат 9³⁰ да ўтadиган мажлисида бўлади.

Манзил: 100128, Тошкент ш., Абдулла Қодирий кўчаси, 7^б уй.

Тел.: (+99871) 244-25-19; факс: (+99871) 244-25-82.

E-mail: imbasru@uzsci.net

Диссертация иши билан ЎзР ФА Микробиология институтининг кутубхонасида танишish мумкин.

Автореферат 2011 йил «4» ИЮН да тарқатилди.

Ихтисослашган кенгаш
илмий котиби
биология фанлари номзоди



С.М. Насметова

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ УМУМИЙ ТАВСИФИ

Мавзунинг долзарблиги. Сўғи йилларда ўсимлик, ҳайвон, микроб биотехнологияси билан бир каторда, вируслар биотехнологияси ҳам ривожланимокда. Ген муҳандислигида бактерियोфаглари (λ , бир зашжирли бактерियोфаглари) вектор сифатида ишлатилиш, вирусга қарши вакциналар, интерферонлар, ген инженерия йўлида тайёрланган вакциналар, моноклонал антителалар олиш, улар асосида иммунодиагностика усулларини ишлаб чиқиш, ҳужайра культураларини ва вируссиз ўсимлик олиш кабилар биотехнологиянинг долзарб масалаларидан биридир. Мазкур муаммоларнинг ҳал қилиниши аналитик ва препаратив биотехнологиянинг ривожланишига бевосита боғлиқдир. Айниқса, аналитик биотехнологиянинг ривожланиши натижасида имунофермент анализи (ИФА), нитроцеллюлоза мембранасида (НЦМ) имуноблотнинг усули сингари иммунодиагностиканинг тезкор, сезгир усуллари яратилган бўлиб, улар жуда кўплаб биологиянинг, жумладан, вирусологиянинг фундаментал ва амалий муаммоларини ечишда қўлланилмокда. Бу усуллар ёрдамида илгари сезгирлиги анча паст бўлган усулларни кўлаб ечилган муаммолар ва амалий ишларни қайтадан кўриб чиқиш, олинган маълумотларнинг кўплаб нуқсонлардан холи эмаслигини кўрсатди. Шунинг учун булдай замонавий ва сезгир иммунодиагностика усулларни кўлаб фитопатоген вирусларни аниқлаш, бугунги кундаги вирусология ва биотехнологиянинг муҳим муаммоларидан биридир.

Муаммонинг ўрганилганлиги даражаси. Картошка ўсимлиги вирусларидан Х-вирус (КХВ) биринчи марта Англияда (1938) Саламон тамонидан аниқланган бўлиб, кейинчалик Германияда (1964) кенгрок ўрганилган (Ваупе Е.Н., 2005). Москва давлат университетининг «Ўсимлик вируслари биохимияси» илмий лабораториясида академик И.Г.Атабеков бошчилигида КХВни молекуляр даражада ўрганишга муваффақ бўлинган (Карпова О.В., 2006). Бундан ташқари Р.В.Гнутова картошкани касаллантирувчи S, Y, M, A, L каби вирусларни тоза ҳолда ажратиш олиб, уларга антизardоб тайёрлаган (Гнутова Р.В., 2004). Мамлакатимизда эса дастлаб X ва S (Мирзаахмедов В., 1964), кейинчалик эса L ва Y-вирусларининг кенг тарқалганлиги қайд этилган (Эргашев И.Т., 2007).

Диссертация ишининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация иши Ўзбекистон Миллий университети биология-тупроқшунослик факультети «Микробиология ва биотехнология» кафедраси илмий тадқиқотлари ҳамда CIP (International Center of Potato) нинг «Жанубий-ғарбий ва Марказий Осиёда картошка навларини клонлаш йўли билан абвотик омилларга чидамлилигини ошириш орқали унинг ҳосилдорлигини ва маҳсулот сифатини ҳамда даромадини яхшилаш» номида халқаро лойиҳаси илмий тадқиқотлари йўналиши асосида бажарилган.

Тадқиқот мақсади: ИФА усули ёрдамида картошка ўсимлиги вирус касалликларини аниқлаш, ҳамда улардан қишлоқ хўжалигига катта зарар келтирадиган вирусни ажратиш, тезиллаш ва иммунодиагностика қилишдир.

Тадқиқот вазифалари:

- ИФА усули турли вариантларининг сезгирлигини ўзаро ҳамда бошқа иммунологик усуллар билан солиштириш ва картошка вирусларини аниқлашда қўланиш;

- картошка ўсимлигини касаллантирувчи вирусларнинг тарқалиш даражасини ҳамда табиий-резерватор ўсимликларини аниқлашда ИФА усулидан фойдаланиш;

- КХВни ажратиш, биологик тозалаш ва юқори концентрацияли тоза вирус-препаратини олиш усулларини ишлаб чиқиш;

- КХВнинг биологик, физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш ва унга специфик антизардоб тайёрлаш;

- КХВга чидамли картошка клонларини аниқлаш ҳамда селекционерларга тавсия қилиш.

Тадқиқот объекти ва предмети. Илмий тадқиқот объекти сифатида лаборатория шаронтида тоза ҳолда ажратиб олинган, баъзи биологик ва физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилган картошканинг Х-вируси (КХВ) дан фойдаланилди. Илмий тадқиқот предмети сифатида эса, Ўзбекистон Республикасининг турли экологик зоналарида экиллаётган, маҳаллий ва инклимлаштириш учун келтириб келинган картошканинг навлари, клонлари ҳамда турли индикатор ўсимликлардан фойдаланилди.

Тадқиқот усуллари. Илмий ишда иммунофермент анализи (ИФА), фитовирусларни ажратиш ва тозалаш, индикатор ўсимликлар усули, искиёклама иммунодиффузия (ИИД), электрон микроскопия, спектрофотометрия каби бир қатор биотехнологик ҳамда вирусологик усуллардан фойдаланилди.

Ишонччилик ва асосланганлик. Олинган натижаларнинг статистик таҳлили «Microsoft Excel» компьютер дастурининг умумий қабул қилинган услубларидан фойдаланиб бажарилди (Лакин Г.Ф., 1990).

Тадқиқот фарази. КХВнинг эндемик штаммига тайёрланган специфик антизардоб (АЗ) ёрдамида касаллик тарқалиши кучаймасдан аввал унинг тарқалиш даражаси аниқланиб, вирус эпифитотийсининг олдини олиш мумкин.

Ҳимояга олиб чиқилаётган асосий ҳолатлар:

1. ИФА усули бошқа иммунологик усуллар билан солиштирилиб, афзаллик томонлари аниқланди ва Тошкент ҳамда Самарқанд вилоятларида картошка Х, S, Y, M, A ва L-вирусларининг тарқалиш даражаси ва резерватор ўсимликлари аниқланди.

2. Картошка Х-вирусининг гомоген, тоза ва юқори концентрацияли препаратини олишнинг оптимал усули ишлаб чиқилиб, вируснинг тоза препарати олинди. Шу асосда специфик антизардоб тайёрланиб, вируснинг баъзи биологик ва физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди.

3. Ўзбекистонда экиллаётган картошканинг турли нав ва клонлари ИФА ёрдамида текширилиб, КХВга чидамли клонлар аниқланди.

Ишнинг илмий янгилиги. Бугунги кунгача мамлакатимизда картошка вирусларининг факат тўрттаси, яъни X, Y, S ва L-вируслари тарқалганлиги аниқланган эди (Ваҳобов А.Х., 1989), ammo кейинги олиб борилган тадқиқотларимиз натижасида бу вируслардан ташқари картошканинг A ва M-вируслари ҳам тарқалганлиги ҳамда уларнинг табиий-резерватор ўсимликлари ва тарқалиш даражаси ИФА ёрдамида биринчи марта аниқланди. Аниқланган ўсимликлар ичида биринчи бор ўрганилаётган ҳамда резерватор ўсимликлар каторига киритилаётган турлари ҳам мавжуд.

Ўрганилган вируслардан КХВнинг мамлакатимиз ҳудудида тарқалган изоляти (КХВ-Ўз) илк бор ажратилиб, унинг баъзи биологик ва физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди, ҳамда вируснинг тоза препарати олинди. Тоза вирус препарати 3% ли агар-агар (Difco) ва сефадексан (G-200) иборит бўлган хроматографик колонкада гелифилтрация қилиш орқали олинди. Бу тоза препарат асосида вирусга специфик АЗ тайёрланди.

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

Натижаларнинг жорий қилиниши. Диссертация ишини бажариш давомида олинган илмий тадқиқот натижалари асосида КХВга чидамли картошка клонлари аниқланди ва селекционерларга янги навлар олиш учун тавсия қилинди. Шунингдек, тадқиқот натижалари Ўзбекистон Миллий университети (ЎЗМУ) биология-тупроқшунослик факультетининг «Микробиология ва биотехнология» кафедрасида «Микробиология» йўналиши магистратура босқичи махсус фанларини ўқитишда фойдаланилмоқда (ФИКҚ кўчирмаси 29.08.2010).

Ишнинг синондан ўтиши. Диссертация ишининг натижалари «Biotechnology in the Republic of Kazakhstan, problems and trends of innovation development» (Almaty, 2008), «Биология, экология ва тупроқшуносликнинг долзарб муаммолари» (Тошкент, 2008), «Биология ва кимёнинг долзарб муаммолари» (Тошкент, 2009), «Замонавий микробиология ва биотехнология муаммолари» (Тошкент, 2009), «XVII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных» (МГУ-2010), III Международная научно-практическая конференция «Молодежь и наука: реальность и будущее» (Невинномысск-2010) конференцияларида ҳамда ЎЗР ФА Микробиология институти ҳузуридаги

Д.015.02.01. Ихтисослашган Кенгаш қонида ташкил этилган Илмий семинар йиғилишининг 9-сонли мажлиси муҳокама қилинган.

Натижаларнинг эълон қилинганилиги. Диссертация иши юзасидан 3 та илмий мақола ва 6 та маърузалар тезиси чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация иши кириш, адабиётлар шарҳи (1-боб), материаллар ва иш услублари (2-боб), тадқиқот натижалари ва уларнинг муҳокамаси (3-боб), хотима, хулосалар ва 137 номдаги фойдаланилган адабиётлар рўйхати ҳамда иловалар қисмидан иборат. Диссертация иши 117 саҳифани ташкил қилиб, унда 14 та жадвал ва 19 та расм келтирилган. Ишнинг илова қисмида эса 18 бетдан иборат бўлган лаборатория регламенти ва ахтлар келтирилган. Фойдаланилган адабиётлар 137 та бўлиб, шулардан 122 таси хорижий олимлар ишлари ҳисобланади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Диссертациянинг **кириш қисмида** мавзунинг долзарблиги, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, шунингдек илмий ва амалий аҳамияти баён қилинган.

Адабиётлар таҳлили. Диссертациянинг биринчи бобида картошка ўсимлигининг вирус касалликлари тавсифи, уларнинг асосий ҳусусиятлари, КХВни тоза препаратини олиш, специфик антизардоб тайёрлаш ва унинг ўзига хос ҳусусиятлари ҳамда ИФА усули ва турлари таҳлил қилинган.

Тадқиқот материаллари ва усуллари. Картошка вирусларининг тарқалиш даражаси ва резерватор ўсимликларини аниқлаш ИФА усулидан фойдаланиб амалга оширилди. Бунинг учун зарур бўлган картошка вирусларининг антитаналари (АТ), конъюгат (АТ+фермент (ишқорий фосфатаза)), субстрат (p-нитрофенилфосфат) ва турли реактивлар «International Center of Potato» СІР ташкилотидан олинди.

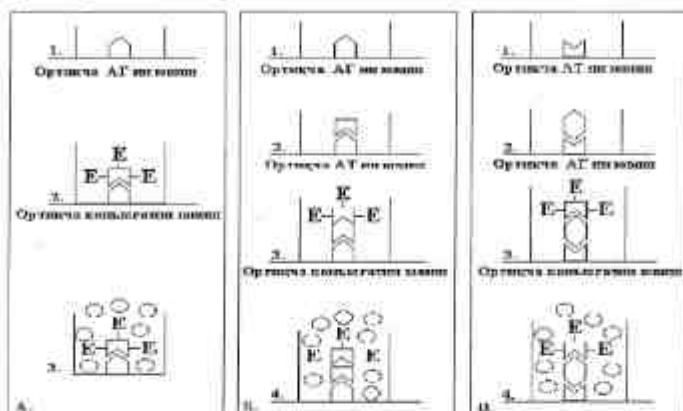
Шунингдек, КХВни ажратиш, биологик тозалаш ва унинг юқумчилигини назорат қилишда *D. stramonium* L., *G. globosa* каби ўсимликлардан, тўпловчи ўсимлик сифатида эса *D. metel* L. ва *D. stramonium* L. кабилардан фойдаланилди. Тўпловчи ўсимликда вирус миқдори максимал даражага етказиб олингандан сўнг вирусли материалдан модификацияланган усул ёрдамида вируснинг тоза препарати олинди ҳамда физик-кимёвий ва биологик ҳусусиятлари ўрганилди. Тоза вирус препарати (АГ) анъанавий усулда, яъни қуён сон мушаклари ва курак териси остига юборилиб, вируста специфик АЗ тайёрланди. Унинг титри ИИД (Ouchterlony) ва томчи усулларида фойдаланилиб аниқланди.

Тайёрланган АЗ ИФА усулининг «сэндвич» варианты ва ИИД усулларида қўлланилиб, КХВни диагностика қилишда фойдаланилди.

Тадқиқот натижалари ва уларнинг муҳокамаси

ИФА вариантлари ва бошқа иммунологик усуллар сезгирлигини солиштириш. ИФАнинг «тўғри», «нотўғри», «сэндвич» вариантлари ҳамда

ИИД ва томчи усуллари ёрдамида КХВ диагностика қилиниб, ушбу усуллар сезгирлиги таққосланди. ИФА вариантлари ёрдамида диагностика қилиш босқичлари 1-расмда келтирилган.



Шартли белгилар: $\square$ - каддик фаза (полистирол), $\bigcirc$ - АГ, $\square$ - АТ, $\square$ - Е, $\square$ - Е - конъюгат (IgG+иншкорий фосфатаза), $\bigcirc$ - субстрат, Е - фермент (иншкорий фосфатаза).

А - «тўғри» вариант: 1 - АГни иммобиллаш, 2 - конъюгатни иммобиллаш, 3 - субстрат солиш; В - «нотўғри» вариант: 1 - АГни иммобиллаш, 2 - АТни иммобиллаш, 3 - конъюгатни иммобиллаш, 4 - субстрат солиш; В - «созданич» варианты: 1 - АТни иммобиллаш, 2 - АГни иммобиллаш, 3 - конъюгатни иммобиллаш, 4 - субстрат солиш.

1-расм. Вирусларни ИФА усулининг турли вариантлари ёрдамида диагностика қилиш схемаси

КХВни диагностика қилишда қўлланилган иммунологик усулларнинг сезгирлиги эса 1-жадвалда келтирилган.

1-жадвал

ИФА вариантлари ва бошқа иммунологик усуллар сезгирлигини солиштириш

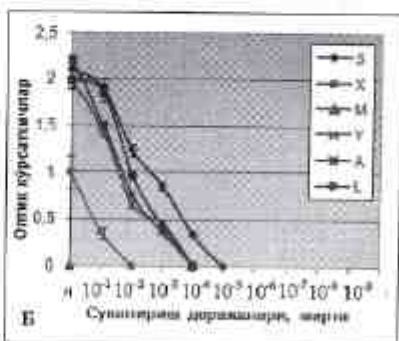
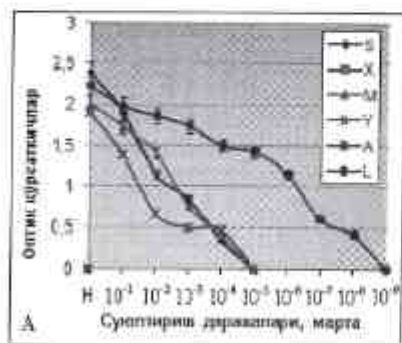
Т.р.	ИФА вариантлари ва усуллар	Суюлтириш даражаси, марта									
		Н	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	10^9
		Реакция кўрсаткичлари									
1	Томчи усули	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	ИИД	++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
3	Нотўғри	++++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
4	Тўғри	++++	++++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
5	Сындович	++++	++++	+++	+++	++	++	++	+	+	-

Изоҳ: жадвалдаги Н - назорат, яъни суюлтирилмаган ўсимлик ширасини; реакция кўрсаткичлари: «+» - кучсиз, «++» - ўртача, «+++» - кучли, «++++» - жуда кучли реакцияни, «-» эса реакция йўқлигини аниқлатади.

Жадвалдан кўриниб турибдики, КХВни диагностика қилишда қўлланилган усуллар ичида ИФАнинг «сэндвич» варианты энг сезгир, яъни вирусни 10^{-2} гача, кейинги ўринда «тўғри» вариант, вирусни 10^{-7} гача аниқлай олиши, қолган ИФАнинг «нотўғри» варианты ва ИИДнинг сезгирлиги анча паст бўлиб, вирусни 10^{-4} гача аниқлай олиши маълум бўлди. Шунингдек, ИИД усулининг бир қатор қулайлик томонлари ҳам мавжуд бўлиб, АЗнинг тўғриги аниқлаш, вирусларнинг серологик яқинлигини аниқлашда жуда яхши самара беради.

Демак, картошка вирусларини аниқлашда ИФАнинг «сэндвич» варианты қўлланилса самарали натижаларга эришиш муқаррардир.

ИФАнинг «сэндвич» варианты ёрдамида картошка вирусларини аниқлаш. Олиб борилган тажрибалар ва бир қатор муаллифларнинг (Бобкова А.Ф., 1983; Гнутова Р.В., 2005) таъкидлашича бу вариант фитопатоген вирусларни аниқлашда яхши самара беради. Шунинг учун вирус билан касалланган картошканинг Тўйимли ва Санте навларидан намуна олиниб вируслар аниқланди. Бунинг учун касалланган ўсимликлар баргидан тайёрланган ширадан даслаб ҳар бир вирус АТси иммобилизация полистирол планшет чуқурчаларига суюлтирилмаган назорат иммобилизациядан сўнг, қолган чуқурчаларга эса 10^{-10} гача суюлтирилган намуналардан суюлтириш даражасининг ортиси йўналишида қуйиб чиқилди. Вируссиз назорат сифатида эса Ўзбекистон Миллий университетининг (ЎЗМУ) «Биоорганик кимё» кафедрасида аниқал меристемадан биотехнологик усул ёрдамида етиштирилётган картошка микротуганакларидан тайёрланган намуналардан фойдаланилди. Ўсимликлардаги вирус эса А.Ф. Бобкова ва А.М. Adams ишлаб чиққан усуллардан фойдаланиб, ИФА натижалари асосида аниқлаб чиқилди (Adams A.M., 1977; Бобкова А.Ф., 1983) ва натижалар 2-расмда келтирилди.



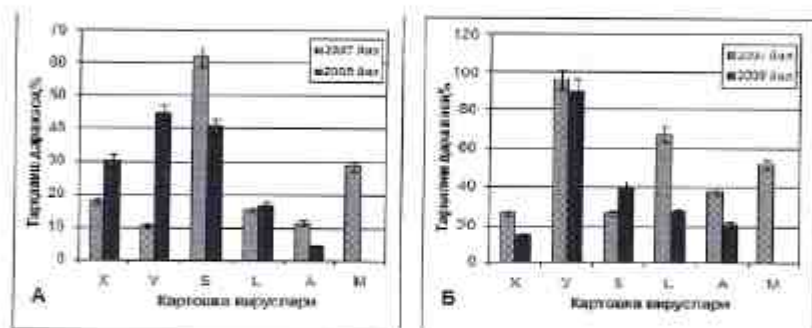
Изох: D 0,300-0,500 нм - «+» нн; 0,501-1,0 нм - «++» нн; 1,01-1,500 нм - «+++» нн; 1,501 нм ва ундан юқори ҳолатлар - «++++» нн; 0,299 дм паст бўлган ҳолатлар эса «-» нн, яъни намунада вирус йўқлигини англатади.

2-расм. Картошканинг Тўйимли (А) ва Санте (Б) навларида аниқланган вирусларнинг тўпланиш даражаси

Расмдан кўришиб турибдики, картошканинг Тўйимли навида S, M ва Y-вируслар 1мкг/мл, L-вирус эса жуда юкори концентрацияда, яъни 10 мг/мл тўпланганлиги аниқланган бўлса, X ва A-вируслар эса ўсимликда умуман йўқлиги аниқланди (2-расм, А). Санте навида S-вирус 1 мкг/мл, L ва A-вируслари 10 нг/мл, Y-вирус 100 мкг/мл, X-вирус 1 нг/мл тўпланганлиги, M-вируси эса аниқланмади (2-расм, Б).

Демак, олинган натижалар асосида ИФА усулининг «сэндвич» варианты ёрдамида ўсимликда тўпланган фитопатоген вирусларни аниқлаш мумкин. Бу ўз навбатида вирусологиянинг бир қатор назарий ва амалий муаммоларини ҳал қилишга ёрдам беради.

Тошкент ва Самарқанд вилоятларида картошка вирусларининг тарқалишини ИФА ёрдамида аниқлаш. Бунинг учун вилоятларнинг бир неча туманларига 2007 ва 2009 йилларнинг сентябрь ойида экспедиция уюштирилиб, картошка далавларидан намуналар йиғилди ва ИФА усули ёрдамида текширилиб, вирусларнинг тарқалиши аниқланди (3-расм).



3-расм. Тошкент (А) ва Самарқанд (Б) вилоятларида картошка вирусларининг тарқалиши даражаси

Текширишлар натижасида 2009 йили Тошкент вилоятида картошка X, Y ва L-вирусларининг тарқалиши 2007 йилга нисбатан ортганлиги, яъни KXB 17,9% дан 30% га, KYB 10,6% дан 44,4% га, KLB эса 15,6% дан 16,9% га ортганлиги, қолган KSB 62,1% дан 40,7% га, KAB эса 11,7% дан 4,3% гача пасайганлиги аниқланди. КМВнинг тарқалиш даражаси дастлабки (2007 й.) мониторинг натижасида 28,8% ни ташкил этганлиги аниқланган (3-расм, А).

Самарқанд вилоятида эса Тошкент вилоятидан фарқли ўлароқ, бир қатор вирусларининг тарқалиш даражаси пасайганлиги аниқланди. Улардан: KXB 26,6% дан 15% га, KYB 96,6% дан 90,8% га, KLB 67,5% дан 26,88% га, KAB эса 38,1% дан 21,2% га пасайганлиги, KSB эса 26,2% дан 40,3% гача кўпайганлиги маълум бўлди. КМВ дастлабки мониторинг натижасида 52,1% тарқалганлиги аниқланган бўлса, кейинги олиб борилган мониторингда ҳар иккала вилоятда ҳам бу вирус текширилмаган (3-расм, Б).

Демак, Тошкент вилоятида картошканинг Х, Y ва L-вируслари тарқалишининг ортганлиги, Самарқанд вилоятида эса пасайганлиги аниқланди.

Картошка вирусларининг резерватор ўсимликларини ИФА ёрдамида аниқлаш. Бунинг учун Тошкент вилоятида тарқалган 16 онлага мансуб 40 дан ортиқ бир ва кўп йиллик ўсимлиklar ИФА ёрдамида текшириб чиқилди. Текширилган ўсимлиklarдан картошканинг (*Solanum tuberosum* L.) бир қатор навлари (Диёра, Умид, Тўйемли), баклажон (*S. melongena* L.), помидор (*Lycopersicon esculentum* Mill.), шўра (*Ch. amaranticolor* Coste et Reyn.), бодринг (*Cucumis sativus* L.), ялғиз (*Mentha asiatica* Boriss.) ва петунья (*Petunia hybrida*) каби ўсимлиklar KSBнинг; қўйпечак (*Convolvulus arvensis* L.), картошканинг (*S. tuberosum* L.) Диёра ва Умид навлари KABнинг; баклажон (*S. melongena* L.), помидор (*Lycopersicon esculentum* Mill.), картошканинг (*S. tuberosum* L.) бир қатор навлари (Санте, Акраб), қўйтакан (*Xanthium strumarium* L.) каби ўсимлиklar KMBнинг; сурья отқулоғи (*R. syriacus* Meisn.) KYBнинг; помидор (*Lycopersicon esculentum* Mill.), дағалканон (*Abutilon theophrasti* Medic.) ва отқулок (*Rumex crispus* L.) каби ўсимлиklar эса KLBнинг табиий резерваторлари эканлиги аниқланди.

Демак, бу аниқланган ўсимлиklar картошка вирусларининг табиий резерватор ўсимликлари бўлиб, уларнинг кенг тарқалишига сабаб бўлади.

KXBни ажратиш, биологик тозалаш ва кўпайтириш. Бунинг учун вирус билан табиий касалланган картошканинг Диёра навидан инокулум олиниб, дифференциатор ўсимлик, яъни дўрмон (*D. stramonium* L.) ўсимлигига ўтказилди. Бу ўсимликда касаллик аломати пайдо бўлгандан сўнг, ундан инокулум олиниб *G. globosa* ўсимлигидан уч марта монокнекрот сифатида ўтказилди. Пайдо бўлган монокнекротлар кесиб олиниб *D. metel* L., *D. stramonium* L., *G. globosa*, *Ch. amaranticolor* Coste et Reyn., *Ch. album* L. каби бир қатор индикатор ўсимлиklarга юктирилди ва бошқа вирусдан ҳоли, яъни «вирусологик тоза» бўлганлигига ишонч ҳосил қилгандан сўнг, вирус яна тўпловчи *D. stramonium* L. ўсимлигига ўтказилди ва кўпайтириб олинди. Бу ўсимликдан вирусли намуналар олиниб 250г дан полиэтилен халтачаларга жойланди ва -4°C да препаратив тозалаш учун музлатиб қўйилди.

KXBнинг тоза препаратини олишнинг оптимал йўлларини излаб чиқиш. Бунинг учун бир нечта вариантлардан фойдаланилди ва уларнинг ичидан KXBни тоза препаратни олишнинг модификацияланган оптимал усули аниқланди. У қуйидаги босқичлардан иборат: 250г музлатилган вирусли материал олиниб, таркибида 0,01М ли ЭДТА ва натрий тиосульфат бўлган 0,02М ли ФБ (1:1) солиниди (pH 7,5) ва гомогенизаторда 15 дақиқа майдаланди. Майдаланган қуюқ масса 4 қават докадан сузиб олиниб, 5000 айл./дак да 20 дақиқа центрифуга қилинди ва ЧУС олинди. ЧУСга хлороформ (8:1) солиниб, 20 дақиқа қаттиқ чайқалгандан сўнг, яна 5000 айл./дак да центрифуга қилинди ва ЧУС олинди. Унга 25% аммоний сульфати солиб эритилгандан сўнг, 1 соат давомида совуттида (+4°C) сақланди. Совуттичдан олиб, 5000 айл./дак да 20 дақиқа центрифуга қилиниб чўкма олинди. Чўкма

0,02М ли ФБ (рН 7,5) солиб эритилди ва 4000 айл./дақда 10 дақиқа центрифуга қилиниб, ЧУС олинди. Бу вируснинг қисман тозаланган препарати бўлиб, ундан тоза препарат олиш учун гелфильтрация усулидан фойдаланилди ва вируснинг гомоген, тоза препарати олинди (4-расм).

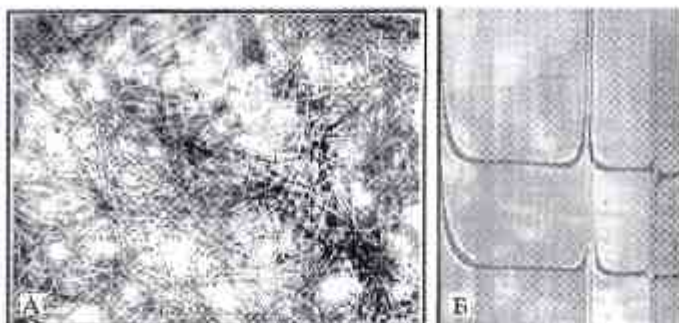


4-расм. КХВ тоза препаратини олишнинг оптимал варианти

Олинган вирус препарати спектрофотометр ёрдамида 220-320 нм тўлқин узунлигида ўлчанганда, препаратнинг УБ-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. Вируснинг электрон микрофотографияси ва гомогенлигини аналитик ультрацентрифугада аниқлаш, Москва давлат университетининг «Ўсимлик вируслари биохимияси» лабораторияси ҳамкорлигида бажарилди (5-расм).

Ажратиб олинган вирус микдори $E_{260}^{0,1\%} \approx 2,8$ га (Ваҳобов А.Х., 1991) асосланиб ҳисоблаб топилди. Юқорида қайд этилган модификацияланган усул ёрдамида 1 кг вирусли материалдан 135 мг тоза вирус препарати

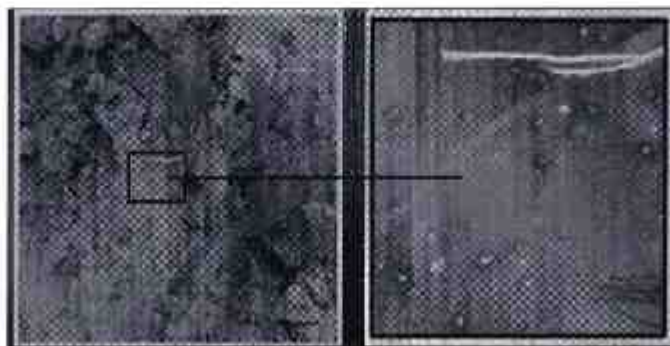
ажратиб олинди ва юкумлилик хусусияти *G. globosa* ўсимлигида текширилди.



Изоҳ: контрастлаш 1% ли уранил ацетат ёрдамида амалга оширилган, киталангирдлigni 50 000 $\times$.

5-расм. КХВнинг электрон микроскопдаги кўриниши (А) ва препаратнинг седиментограммаси (Б)

КХВнинг индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатларини аниқлаш. Бунинг учун 20 дан ортиқ турли оилага мансуб маданий ва индикатор ўсимликлар вирус препарати ёрдамида механик усулда касаллантирилиб, касаллик аломатлари кузатиб борилди. Бу вирус *G. globosa* ўсимлиги баргида касаллантирилгандан 5-6 кун ўтгач кизил ҳалқали некрозларни (6-расм), шўранинг *Ch. amaranticolor* Coste et Reyn. ва *Ch. quinoa* Will. каби турларида йирик сарик доғларни, *Datura stramonium* L. ўсимлигида эса системали касаллик аломатларини келтириб чиқаради.



Изоҳ: Чанга ўсимлигининг умумий кўриниши; ўнгга КХВ-ўзини келтириб чиқарган касаллик аломатлари, яъни баргдagi кизил ҳалқали некрозлар.

6-расм. КХВнинг *Gomphrena globosa* ўсимлигидаги касаллик аломатлари

Вируснинг охириги суюлиш даражаси (ОСД) ва ҳарорат таъсирида фаоллигини йўқотиш (ХТФЙ) даражаларини аниқлаш. Вируснинг ОСД ни аниқлаш учун ўсимликдан ажратилган вирусли препарат олиниб 1 мл назорат учун қолдирилгандан сўнг қолган қисми алоҳида пробиркаларда 10^{-10} гача суюлтирилди ва ҳар бир намуна билан алоҳида 4-5 тидан *G. globosa* ўсимлигининг барги касаллантирилди. Касаллантирилгандан 5-6 кун ўтгач, 10^{-5} марта суюлтирилган намунагача бўлган барча намуналар билан касаллантирилган ўсимлик баргларида касаллик аломатлари пайдо бўлганлигини, 10^{-6} дан кейинги намуналар билан касаллантирилган ўсимликларда ҳеч қандай касаллик аломатлари пайдо бўлмади.

Вируснинг ХТФЙ даражасини аниқлаш учун юқумли шира олиниб 8 та пробиркага 1 мл дан солиб чиқилди, улардан биттаси назорат учун сақланиб, қолгани эса турли ҳароратларда (50, 60, 65, 70, 75 ва 90°C) сув ҳаммомида 10 дақиқадан қиздирилиб, совуқ сув тағида совутилгандан сўнг ҳар бири билан *G. globosa* ўсимлиги касаллантириб чиқилди ва 5-6 кун ўтгач 70°C гача қиздирилган барча вирусли намуналар билан касаллантирилган ўсимликларда касаллик аломатлари пайдо бўлди. Ундан юқори даражада қиздирилган намуналар билан касаллантирилган ўсимликларда касаллик аломатининг пайдо бўлмаганлиги, вирус юқумлилик хусусиятини 70°C да йўқотганлигидан далолат беради.

Демак, КХВнинг Ўзбекистонда тирқалган изоляти, яъни КХВ-Ўзнинг ОСД 10^{-5} , ХТФЙ даражаси эса 70°C эканлиги аниқланди.

КХВнинг сақланиш муддатини ва штаммининг аниқлаш. Бунинг учун КХВ билан касалланган *D. stramonium* L. ўсимлигининг барги ва ундан ажратилган юқумли шира уч хил шаронгта: хона, +4°C ва -4°C да сақланиб, 3 кундан 1 йилгача бу намуналардан олиниб *G. globosa* ўсимлиги механик усулда касаллантирилиб вируснинг сақланиш муддати аниқланди.

Вирус хона ҳароратида ўсимлик барги ва ундан ажралган юқумли ширада бир хил муддат, яъни 10-12 кун гача, +4°C да ҳар иккала намунада ҳам 96 кун, музлатилганда (-4°C) эса баргда 1 йилдан ортиқ, юқумли ширада эса 192 кунгача сақланиши аниқланди.

Картошканинг Диёра навидан ажратилган КХВ-Ўз изолятини юқоридаги аниқланган хусусиятларига асосланиб Польшада Прикульский ранний навидан ажратилган юқори юқумлиликка эга бўлган Х_а-штаммига солиштирадиган бўлсак, бу штаммининг ҳарорат таъсирида фаоллигини йўқотиш даражаси 69°C (Сиверс Н.А., 1970), Диёра навидан ажратилган изолятининг ХТФЙ даражаси эса 70°C эканлиги ва хона ҳароратида 10-12 кун сақланиши аниқланди. Х_а-штамми эса хона ҳароратида қургитилган баргда 1,5 ойгача сақланиши адабиётларда келтирилган (Angell S.M. & Baulcombe D.C., 1999; Гнутова Р.В., 2004). ОСД эса ҳар иккала изолятда ҳам бир хил, яъни 10^{-5} ни ташкил этади.

Демак, КХВ-Ўз изоляти айрим хусусиятлари (кучли юқумлилик, ОСД) билан Х_а-штаммига ўхшаш, аммо айрим хусусиятлари (ХТФЙ, хона ҳароратида сақланиши) билан фарқланади.

Вирустга специфик антизардоб тайёрлаш. Модификацияланган усул ёрдамида тозаланган, физик-кимёвий ва биологик хусусиятлари ўрганилган КХВнинг тоза препарати Шингилла зотли қуён сон мушаклари ва курак териси остига 0,4 мг/мл дан 1 мл Фрейнд адъюванти билан қўшиб жами 5 марта юборилди. Иммунизация оралиғи эса 3-4 кунни ташкил этиб, охириги иммунизациядан 14 кун ўтгандан сўнг, 10 мл кон олинди. Орадан 3-4 кун ўтгандан сўнг, қуённинг худди шу қулогидан яна 10 мл кон олинди ва кондан зардоб қисми ажратиб олинди. Бу зардоб таркибда вирусни таний оладиган АТлар мавжуд бўлиб, специфик АЗ деб юритилади. АЗ тайёрлаш схемаси 7-расмда келтирилган. АЗнинг титри ИИД ёрдамида аниқланганда 1:16 ни ташкил этди (8-расм).



7-расм. КХВга специфик антизардоб тайёрлаш схемаси



Изоҳ: С-сувоқтирилмаган ва 2, 4, 8, 16, 32 - марта сувоқтирилган АЗ.

8-расм. КХВ антизардобни титрини ИИД усули ёрдамида аниқлаш

Олинган АЗ КХВни диагностика қилишда, вирусга чидамли нав ва клонларни аниқлашда ИИД ва ИФА усулларида қўлланилди. Ажратилган АЗ миқдори биринчи олинган қонда 5 мл, иккинчи олинган қонда эса 7,5 мл ни, жами 20 мл олинган қондан 12,5 мл ни ташкил этди. Агар ИИД усулида битта намунани текшириш учун 10 мкл дан (ичкича чуқурча учун) АЗ сарфланса, 100 мкл 10 та намунага, 1 мл эса 100 та намунани текширишга, 12,5 мл суюлтирилмаган ҳолатдаги АЗ 1250 та намунага етади, аммо биринчи ажратилган АЗнинг титри 1:4, иккинчисиники эса 1:16 эканлигини ҳисобга олган ҳолда, АЗни яна 1:8 марта суюқлантиргунча ишлаши юқоридаги тажрибалар асосида аниқланди. Демак, 12,5 мл ни 1:8 марта суюлтирилса 50 мл ни ташкил этади, 12,5 мл 1250 та намунани текширишга эса, 50 мл эса 5000 та намунани текширишга етади.

Шундай қилиб, КХВга юқори титрли специфик антизардоб тайёрланди. Дастлабки тайёрланган АЗнинг титри 1:4 ни ташкил этган бўлса, кейингисиде эса 1:16 эканлиги ИИД усули ёрдамида аниқланди ва олинган АЗ КХВ-Ўзни диагностика қилишда қўлланилди.

КХВнинг резерватор ўсимликларини аниқлаш. Бунинг учун Ўзбекистон иқлим шароитида ўсувчи бир қанча ёввойи ва маданий ўсимликлар ИФА ёрдамида текшириб чиқилди. Натижада, бодринг (*Cucumis sativus* L.), итузум (*Solanum nigrum* L.), жингалак откулок (*Rumex crispus* L.), дўрмон (*Datura stramonium* L.), баклажон (*Solanum melongena* L.), картошканинг (*Solanum tuberosum* L.) бир қатор навларида (Днёра, Умид), ялпиз (*Mentha asiatica* Boriss.), қўйпечак (*Convolvulus arvensis* L.), гулхайри (*Althaea officinalis* L.), помидор (*Lycopersicum esculentum* Mill.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) каби бир қатор ўсимликларда КХВ аниқланди ва ИФА натижалари ELISA-Reader қурилмаси ёрдамида ўлчанганда оптик кўрсаткичнинг 1,5-2,0 бўлиши, бу ўсимликларда вирус концентрацияси ўта юқори эканлигидан далолат беради.

Демак, олинган маълумотлар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин. Юқорида турли вёзоларида вирус аниқланган ўсимликлар КХВнинг табиий резерваторлари бўлиб, вируснинг кенг тарқалиши ва табиатда айланишида катта аҳамият касб этади.

КХВга чидамли картошка клонларини аниқлаш. Бунинг учун Ўзбекистон сабзавот, поллиз экинлари ва картошкачилик илмий-тадқиқот институтини (ЎЗСПЭ ва КИТИ) тажриба даласида экилаётган 20 дан ортиқ клонларнинг ҳар биридан алоҳида-алоҳида намуна (ҳар бир клондан 5 тадан) йигиб олиниб, ИФА усули ёрдамида текширилиб, уларнинг КХВ-Ўз билан касалланиш даражаси аниқланди, ҳамда чидамлилиқ гуруҳларига ажратилди. Текширилган клонларнинг вирус билан касалланиш даражасининг энг қуйи даражаси К-3, К-4, К-5 каби клонларда 20% ни, К-1, К-2, К-10 каби клонларда 40% ни, К-6, К-7, К-11 каби ўндан ортиқ клонларда эса касалланиш даражасининг жуда юқори, яъни 50-100% гача эканлиги аниқланди.

Юқорида ўтказилган текширишлар асосида К-3, К-4, К-5, К-8, К-9 каби клонлар КХВ билан кучсиз касалланувчи; К-1, К-2, К-10, К-15, К-18 каби клонлар КХВ билан ўртача касалланувчи; К-6, К-7, К-11, К-12 каби клонлар эса вирусга чидамсиз эканлиги маълум бўлди. Фонд ҳисобида кўрсатадиган бўлсак, текширилган клонларнинг 50% кучсиз ва ўртача касалланувчи гуруҳларга (ҳар бир гуруҳга 25% дан), қолган 50% клон эса, бу вирусга чидамсиз эканлиги текширишлар натижасида аниқланди.

Олинган натижалар асосида қуйидагича хулоса қилиш мумкин. Демак, текширилган клонлар ичидан иммун ва амалий чидамли турлари аниқланмади, аммо К-3, К-4, К-5, К-8, К-9 каби кучсиз касалланувчи клонлар аниқланди. Бу клонлардан келажақда селекциянерлар янги навлар олишда фойдаланса, самарали натижаларга эришилади.

ХОТИМА

Мазкур мавзуга оид тадқиқотларни олиб бориш натижасида картошка вирусларини диагностика қилишда ишлатиладиган бир қатор иммунологик усуллар, жумладан ИФАнинг «тўғри», «нотўғри» ва «сўзловчи» каби вариантлари бир-бирига солиштирилди. Натижада, улардан энг сезгири ИФАнинг «сўзловчи» варианты эканлиги аниқланди. Бу вариант ёрдамида картошка (*S. tuberosum* L.) навларида Х, S, M, Y, A ва L каби вируслар диагностика қилинди ва бу вирусларининг Самарканд ва Тошкент вилоятларида тарқалиш даражаси ҳамда уларнинг мамлакатимиз иқлим шароитида тарқалган табиий-резерватор ўсимликлари аниқланди. Уларнинг ичидан қишлоқ хўжалиғига катта зарар келтирувчи КХВнинг Ўзбекистонда тарқалган изоляти КХВ-Ўз илк бор ажратилиб, баъзи физик-кимёвий ва биологик хусусиятлари ўрганилди. Ажратилган КХВ изоляти тоза препаратини олишнинг оптимал варианты ишлаб чиқилди ва шу асосда тоза препарат олинди. Тоза препарат сефадекс (G-200) ва агар-агардан (3%) иборат бўлган хроматографик колонкада гельфилтрация қилиш орқали олинди.

Вирус препаратининг тозалик даражаси спектрофотометрия, электронмикроскопия ва аналитик ультрацентрифуга ёрдамида аниқланди. Спектрофотометрия усулида препаратнинг УБ-нурини ютиш кўрсаткичи аниқланганда, нур ютишнинг максимал нуктаси 260 нмни, минимал даражаси 245 нмни, 260/280 га нисбати эса 1,2 ташкил этди. Бу ажратилган препарат МДУнинг “Ўсимлик вируслари биохимияси” лабораториясига юборилиб, вируснинг гомогенлиги ва электронмикротографияси ўрганилди. Олинган маълумотлар ажратилган вируснинг айнан КХВга ҳосиллигини ҳамда препаратнинг бошқа аралашмалардан холи, гомоген ҳолатда эканлигини кўрсатди.

Олинган вирус препарати куён организмига иммунизация қилиниб вирусга специфик АЗ тайёрланди. Бу АЗ ИИД ва ИФА усулларида қўлланилиб КХВ-Ўзнинг резерватор ўсимликларини, табиатда айланиш доираси ҳамда «табiiий ўчок» тини каби хусусиятларини аниқлашда фойдаланилди. Бу текширишлар натижасида вируснинг ялпиз (*M. asiatica* Boriss.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), бодринг (*Cucumis sativus* L.), жингалак откулoқ (*Rumex crispus* L.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) каби бир катор янги табiiий резерваторлари аниқланди. Ўтказилган текширишлар ҳамда академик Е.Н.Павловскийнинг «Трансмиссив касалликларнинг табiiий ўчоқлари» хақидаги назариясига кўра, вируснинг тарқалиш механизми касалликни «Маданий ўсимликлар ичида турғун айланиш циркуляциясига эга бўлган табiiий ўчоқли касалликлар» типига мансублигини кўрсатди.

КХВ-Ўз изоляти *D. stramonium* L. ўсимлиги баргида 10-12 кунда корамтир системали мозанка, *Datura metel* L. ўсимлигида эса системали яшил мозанка каби аломатларни келтириб чиқарса, *Chenopodium quinoa* Will. ўсимлигида 13-14 кунда, *Ch. amaranticolor* Coste et Reyn. да 10-12 кунда йирик (3-4 мм) сарик доғларни, думбил шўра (*Ch. murale* L.) ўсимлигида эса уларга нисбатан кичикроқ (1-2 мм) сарик некрозларни келтириб чиқариши аниқланди.

Ўтказилган тадқиқотлар асосида КХВнинг биологик хусусиятлари, вируснинг резерватор ўсимликлари, табиатдаги циркуляцияси, Ўзбекистоннинг турли экологик шароитларида тарқалиш даражаси, индикатор ўсимликлардаги касаллик аломатлари ҳамда физик-кимёвий хусусиятлари аниқланди. Шунингдек, КХВни ажратиш, тозлаш, унга антизардоб олиш ва иммунодиагностика қилишнинг лаборатория регламенти ҳам ишлаб чиқилди.

Хулосалар

1. Бир катор иммунобиотехнологик усулларнинг сезгирлиги солиштирилди ва улардан энг сезгири ИФА усулининг «сэндвич» варианты эканлиги аниқланди, бу вариант КХВни 10^{-9} гача аниқлай олиши маълум бўлди.

2. ИФА ёрдамида Х, S, Y, M, A ва L-вирусларнинг тарқалиш даражаси аниқланди ва бу вируслардан Самарканд вилоятида КҮВ энг юкори даражада (93%), Тошкент вилоятида эса КSB (51%) тарқалганлиги ҳамда уларнинг ялпиз (*M. asiatica* Boriss.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), булғор қалампири (*Capsicum annuum* L.), итузум (*S. nigrum* L.) каби табiiий-резерватор ўсимликлари аниқланди.

3. КХВни тоза препаратини олишнинг модификацияланган оптимал варианты ишлаб чиқилди ва бу вариант ёрдамида 1 кг вирус билан касалланган бангидевона (*D. stramonium* L.) ўсимлигидан йиғилган вирусли намунадан 135 мг тоза вирус препарати ажратиб олинди.

4. Тоза КХВ препаратига специфик антизардоб тайёрланди. АЗнинг титри 1:16 ни ташкил этди ва олинган АЗ ИИД ҳамда ИФА усулларида ишлатилиб, вируснинг бодринг (*Cucumis sativus* L.), жингалак откулук (*Rumex crispus* L.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), доривор гулхайри (*Althaea officinalis* L.), тугмачагул (*Malva neglecta* Wall.) каби бир катор янги табиий резерваторларини ва табиатда айланиш доираси ҳамда «табиий ўчоқ» типини аниқлашда асос бўлди.

5. Картошка клонлари ИФА усули ёрдамида текширилиб, уларнинг ичидан К-3, К-4, К-5, К-8, К-9 каби кучсиз касалланувчи клонлар аниқланди ва селекционерларга янги навлар олиш учун тавсия қилинди.

6. КХВни ажратиш, тозалаш ва специфик антизардоб олиш ҳамда иммунодиагностика усулининг лаборатория регламенти ишлаб чиқилди.

Амалий тавсиялар

Диссертация ишини бажариш давомида олинган илмий тадқиқот натижалари асосида картошка ўсимлигини КХВ-ЎЗ билан касаланишидан муҳофаза қилиш юзасидан қуйидаги **амалий тавсиялар** ишлаб чиқилди:

- экилаётган картошка уруглари ва картошка ўсимликларини ИФА сингари сезгир иммунологик усуллар ёрдамида назорат қилиш;

- уруғчилик хўжаликлари ва картошка экиладиган майдонлар ҳамда уларнинг атрофларида бангидевона (*D. stramonium* L.), мингидевона (*D. metel* L.), итузум (*S. nigrum* L.), ялғиз (*M. asiatica* Boriss.), хартол карам (*Brassica juncea* Czern.), хўйпечак (*C. arvensis* L.) каби бир ва айниқса кўп йиллик вирус сакловчи ёввойи ўсимликларни ўсишига йўл қўймаслик;

- фитосанитария ишларини олиб бориш, яъни касалланган картошка ўсимликларни илдизи билан олиб, даладан чиқариб ташлаш;

- алмашиб экишни жорий этиш ва картошка экиш агротехникаси ҳамда вируснинг механик тарқалишини ҳисобга олган ҳолда, уруғ экилиш вақтида катор оралиғи кенлиги ва экиш зичлиги қабиаларга эътибор қилиш;

- экилган вируссиз картошка уруғларини «иккиламчи» зарарланишдан сақлаш учун вирус ташувчи ҳашаротлар, асосан ўсимлик шираларига кимёвий кураш чораларини жорий қилиш;

- К-3, К-4, К-5, К-8, К-9 каби кучсиз касалланувчи картошка клонларини селекционерларга янги навлар олиш учун тавсия этиш.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ

1. Файзиев В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Картошка Y-вирусининг резерватор ўсимликларининг иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш// Биология, экология ва тупроқшуносликнинг долзарб муаммолари: Республика илмий амалий конференция материаллари. ЎЗМУ. 15-16 сентябр. –Тошкент, 2008. –Б. 142-144.
2. 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.
3. Файзиев В.Б. Картошка X-вирусининг резерватор ўсимликларининг иммунофермент методида аниқлаш// ЎЗМУ хабарномаси. –Тошкент, 2008. – №4. –Б. 152-153.
4. Файзиев В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Тошкент вилоятида картошка вирусларининг тарқалишининг иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш// Ўзбекистон биология журнали. –Тошкент, 2008. –№5. –Б. 24-25.
5. Файзиев В.Б., Қодирова З.Н., Бегмиев С.Р. Картошка S-вирусининг резерватор ўсимликларининг иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш// Биология ва кимёнинг долзарб муаммолари: Республика ёш олимлар илмий-амалий конференцияси материаллари. 14-15 май 2009. –Тошкент, 2009. –Б. 134-136.
6. Файзиев В.Б., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. Картошка вирусларининг резерватор ўсимликларининг иммунофермент анализи ёрдамида аниқлаш// Ўзбекистон биология журнали. –Тошкент, 2009. –№6. –Б. 24-29.
7. Файзиев В.Б., Қодирова З.Н., Давронов К.С., Ваҳобов А.Х. Картошка X-вирусининг биологик ва физик-кимёвий хусусиятларининг ўрганиш// Замонавий Микробиология ва Биотехнология муаммолари: академик А.Ғ. Холмуродовнинг хотирасига бағишланган Республика илмий конф. мат. 23 октябрь 2009. –Тошкент, 2009. –Б. 94.
8. Файзиев В.Б., Хусанов Т.С. Очистка X-вируса картофеля и приготовление антисыворотки// Международной молодёжный научный форум «Ломоносов-2010»: Материалы VII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов». 12-15 апреля 2010. – Москва, 2010. –С. –48.
9. Файзиев В.Б., Кадырова З.Н., Хусанов Т.С., Жураева У.М. Изучение распространенности вирусов картофеля методом ИФА в Узбекистане// Молодежь и наука: реальность и будущее. Материалы III Международной научно-практической конференции. 10-15 март 2010. –Невинномысск, 2010. –С. 64–66.

Биология фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Файзиев Вохид Бахромовичнинг 03.00.23 – Биотехнология ва 03.00.06 – Вирусология ихтисосликлари бўйича «Картошка вирусларининг иммунодиагностикаси» мавзундаги диссертациясининг

РЕЗЮМЕСИ

Таянч сўзлар: картошканинг X-вируси (KXB), картошканинг S-вируси (KSB), картошканинг Y-вируси (KYB), картошканинг A-вируси (KAB), картошканинг M-вируси (KMB), картошканинг L-вируси (KLB), иммунофермент анализи, антитаня (АТ), антиген (АГ), антизардоб (АЗ).

Тадқиқот объектлари: картошканинг турли нав ва клонлари, вирус зардоблари, турли индикатор ўсимликлар, картошка ўсимлигини касаллантирувчи турли вируслар.

Тадқиқот мақсади: ИФА усули ёрдамида картошка ўсимлиги вирус касалликларини аниқлаш ҳамда улардан қишлоқ хўжалигига катта зарар келтирадиган вирусни ажратиш, тозалаш ва иммунодиагностика қилишдир.

Тадқиқот усули: диссертация ишида умумий қабул қилинган биотехнологик ҳамда вирусологик усуллар билан биргаликда фитовирусларни ажратиш, тозалаш, иккиёклама иммунодиффузия, ИФА ва электрон микроскопия каби усуллардан фойдаланилган.

Олинган натижалар ва уларнинг аниқлиги: мамлакатимизда картошка ўсимлигини касаллантирувчи X, Y, A, M, S ва L-вирусларнинг тарқалганлиги ҳамда уларнинг резерватор ўсимликлари ИФА ёрдамида аниқланди. KXBнинг мамлакатимиз ҳудудинда тарқалган KXB-Ўз изоляти илк бор ажратилди ва унинг тоза препарати олинди. Вируснинг тоза препаратини олишда гелифилтрация усулидан фойдаланилди ва унинг айрим биологик, физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди, ҳамда вирусга специфик антизардоб тайёрланди.

Амалий аҳамияти: тайёрланган специфик АЗ KXBни диагностика қилиш учун ишлатиладиган сезгир иммунологик усул, яъни иммунофермент ва иккиёклама иммунодиффузия усулларида қўлланилди. Бу усуллар ёрдамида картошка нав ва клонларининг KXBга чидамлилиги даражаси ўрганилди.

Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: илмий тадқиқот натижалари KXBга специфик антизардоб тайёрлашда, вирусни диагностика қилишда қўлланилган ИФА ва ИИД каби усулларда, вирусга чидамли нав ва клонларни аниқлашда, намуналарни селекционерларга тавсия этишда, вирусиз картошка етиштиришда ҳамда олий ўқув юртиларида таълим олаётган бакалавр, магистр талабалари учун вирусология ва биотехнологияга оид дарслик ва қўлланмалар дратинида қўлланилиши мумкин.

Қўлланиш соҳаси: биотехнология, вирусология, қишлоқ хўжалиги.

РЕЗЮМЕ

диссертации **Файзиева Вахида Бахрамовича** на тему:
«Иммунодиагностика вирусов картофеля» на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальностям 03.00.23 –
Биотехнология, 03.00.06 – Вирусология

Ключевые слова: X-вирус картофеля (ХВК), S-вирус картофеля (SBK), Y-вирус картофеля (YBK), L-вирус картофеля (LBK), M-вирус картофеля (MBK), A-вирус картофеля (ABK), иммуноферментный анализ (ИФА), антитела (АТ), антиген (АГ), антисыворотка (АС).

Объекты исследования: вирусы, разные виды и клоны картофеля, индикаторные и резерваторные растения.

Цель работы: изучение вирусных заболеваний картофеля с применением методов ИФА, выделение, очистка и иммунодиагностика наиболее вредоносного вируса картофеля в сельском хозяйстве.

Методы исследования: в диссертационной работе использованы общепринятые биотехнологические и вирусологические методы исследования: препаративное выделение и очистка фитовирусов, реакция двойной диффузии (РДД), ИФА и электронная микроскопия.

Полученные результаты и их новизна: с помощью метода ИФА изучены растения - резерваторы и распространенность X, Y, S, M, A и L-вирусов, поражающих растения картофеля в нашей республике. Впервые в Узбекистане выделен изолят ХВК-Уз и получен его очищенный препарат. При получении гомогенного препарата ХВК вируса был использован метод гельфильтрации. Изучены некоторые биологические, физико-химические свойства вируса, получена специфическая антисыворотка к нему.

Практическая значимость: полученная специфическая антисыворотка использована при проведении иммунодиагностических методов ИФА и РДД для диагностики ХВК. С помощью этих методов была изучена степень устойчивости различных сортов и клонов картофеля к ХВК.

Степень внедрения и экономическая эффективность: результаты исследований использованы при приготовлении специфической антисыворотки, диагностических методах ИФА и РДД, определении устойчивых к вирусу сортов и клонов картофеля, рекомендации образцов картофеля селекционерам, выращиванию безвирусного картофеля. Кроме того могут быть использованы при подготовке учебников и учебных пособий по вирусологии и биотехнологии для бакалавров и магистров высших учебных заведений.

Область применения: биотехнология, вирусология, сельское хозяйство.

RESUME

Thesis of Fayziyev Vokhid Baxromovich on the scientific degree competition of the doctor of philosophy in biology on specialties 03.00.23 – Biotechnology and 03.00.06 – Virology subject: «The immunodiagnostic analyses of potato viruses».

Key words: potato virus X (PVX), potato virus S (PVS), potato virus Y (PVY), potato virus A (PVA), potato virus M (PVM), potato virus L (PVL), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), antibody, antigen.

Subject of the research: the lines and varieties of potato, virus serum, the indicator plants, the infectious reservations plants potato viruses.

Purpose of work: screening and monitoring of potato viruses by using methods of enzyme immunodetection, those damage crops in condition of Uzbekistan. Isolation, purification, and studying the biological, physical and chemical properties of PVX - that yields loss to rural economy, preparing the specific antiserum and conducting the immunodiagnostic.

Methods of the research: the common methods of biotechnology and virology: preparative isolation and purification of plant viruses, double diffusion, enzyme immune detection and electron microscopy were used.

The results achieved and their novelty: The extension of X, Y, S, M, A, L-viruses and virus reserving plants were studied by using the enzyme immunodetection method, those damage potato crops of the Republic lands. The first PVX-Uz isolate was gained and the purified preparation was obtained. The purified virus preparation was isolated by chromatographic column. The biological, physical-chemical properties of the virus were studied and the specific antiserum to the virus was obtained.

Practical value: the obtained specific antiserum was used in sensitive immunodiagnostic methods such as enzyme immunodetection and double diffusions for diagnosis of PVX. By using these methods the degree of potato resistance to virus diseases was studied.

Degree of embed and economical affectivity: the results are important for preparing specific antiserum, for diagnostic methods: enzyme immunodetection and double diffusion, identifying the virus resistant lines and varieties of potato and recommending them for selections, and for cultivating virus free potato.

Field of application: biotechnology, virology, agriculture.

Тадкилотчи:

Миннатдорчилик

Вируснинг электрон микрофотографияси ва сидементограммасини олишда берган ёрдамлари учун МДУнинг «Ўсимлик вируслари биохимияси» лабораторияси ходимларига, ИФА тўплами ва зарур реактивларни олиб келишда берган ёрдами учун «Халқаро картошкачилик маркази» (CIP) нинг Тошкентдаги бўлими бошлиғи С.Carli га, берган қimmatли маслаҳатлари учун б.ф.д., проф. М.М.Рахимовга, берган ёрдамлари учун б.ф.н. У.М.Жураева, б.ф.н., доц. Т.Х.Расулова, З.А.Қодирова, б.ф.н. Г.М.Умароваларга, берган ёрдамлари ва илмий маслаҳатлари учун илмий раҳбарларим б.ф.д., проф. А.Х.Ваҳобов ва б.ф.н. З.Н.Қодироваларга ҳамда магистр Т.Хусановга самимий миннатдорчилик ихлос этаман.

Босишга рухсат этилди: 26.05.2011. Ҳисоб наприйет таъоти: 1,75
Шартли босма таъоти: 1,5. Бичиш: 84×60 1/16. Адади: 100. Бузуртма №15

МШ «РАК ҲО'ЛИ ПОЛИГРАФ» босмахонасида чоп этилди.
100170, Тошкент шаҳри, М. Таробий кўчаси 9 уй