

POMIDOR MEVASI JIGARRANG BUJMAYISHI (*TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV)*) VIRUSINING AYRIM BIOEKOLOGIK XUSUSIYTLARI

Gulhayo Abduaid qizi Pulatova

Chirchiq Davlat Pedagogika Universiteti magistranti, Tabiiy fanlar fakulteti Biologiya kafedrası 2-bosqich magistranti

ANNOTATSIYA

Ushbu maqolada viruslarni biologik tozalash va ko'paytirish, yuqumli shira tayyorlash va o'simliklarni mexanik usulda kasallantirish, indikator o'simliklar yordamida kasallik alomatlarini aniqlash, virusning oxirgi suyuqlanish darajasi (OSD) ni aniqlash kabi masalalar muhokama qilingan.

Kalit so'zlar: viruslar, o'simliklar, molekulyar-genetik usullar, biologik tozalash, toza preparat olish.

ABSTRACT

This article discusses issues such as biological purification and reproduction of viruses, preparation of infectious sap and mechanical infection of plants, detection of disease symptoms using indicator plants, and determination of final liquefaction level (OSD) of the virus.

Key words: viruses, plants, molecular-genetic methods, biological purification, pure preparation.

АННОТАЦИЯ

В данной статье рассматриваются такие вопросы, как биологическая очистка и репродукция вирусов, приготовление инфекционного сока и механическое заражение растений, выявление симптомов болезни с помощью растений-индикаторов, определение конечного уровня разжижения (ОСР) вируса.

Ключевые слова: вирусы, растения, молекулярно-генетические методы, биологическая очистка, чистый препарат.

KIRISH

So'ngi yillarda o'simliklarni kasallantiradigan 1000 dan ortiq fitoviruslar aniqlangan bo'lib, bu viruslar yovvoyi o'simliklar bilan bir qatorda muhim qishloq xo'jalik o'simliklarni kasallantirib, hosildorlikni va mahsulot sifatini pasaytirib, xalq xo'jaligiga katta zarar yetkazmoqda. Bunday o'simliklar qatoriga pomidor, bodring, g'o'za, bug'doy,

kartoshka, bulg'or qalampiri, baqlajon, beda va loviya kabilarni keltirib o'tish mumkin. Shu jumladan, pomidor (*Lycopersicum esculentum*) o'simligining 20 dan ortiq o'simlik viruslari kasallantirishi aniqlangan [1]. Bularga quydagilarni misol qilib olishimiz mumkin: pomidor mozaikasi virusi, tamaki mozaikasi virusining tomat shtami, pomidorning dog'dor so'lish kasalligi, bodring mozaikasi virusi kabi viruslar [2]. Virusli kasalliklar bilan kasallangan pomidor o'simligining hosildorligini kamaytirishi, pomidor mevasi sifatining pasayishi bundan tashqari pomidor o'simligini vegetatsiya davrining qisqarishi ham o'rganilgan. Bu esa qishloq ho'jaligiga va mamlakat iqtisodiyotiga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Shunday ekan virusli kasalliklarga qarshi kurashishda va ularning tarqalishini aniqlash hamda qarshi kurash choralarini ishlab chiqish uchun ularni identifikatsiya qilish muhim sanaladi.

ADABIYOTLAR TAHLILI VA METODOLOGIYA

Tadqiqotning obyekti: Pomidor dalalari va issiqxonalaridagi virus bilan kasallangan pomidor ekinlari. Tadqiqotning predmeti: O'zbekiston iqlimi sharoitida ekib o'stiriladigan, turli pomidor (*Lycopersicum esculentum*) o'simligi navlari: Sulton, TMK, Yakobovich va Volgograd o'simliklari va bir qator indikator o'simliklar: (*Nicotina tabacum*), *Green Cucumber*), bangidevona (*Datura stramonium*), (*Datura metel*), qizil sho'ra (*Chenopodium amaranticolor*), no'xot (*Vigna sinensis*), Yopishqoq tamaki (*Nicotina glutinosa*) kabilar.

Ishning maqsadi. Pomidor o'simligining virusli kasalliklarini o'rganish va ulardan ayrimlarini ajratish hamda identifikatsiya qilish. Bularni amalga oshirish uchun quydagi vazifalar belgilab olindi: Ishning vazifalari:

1. Pomidor o'simligining virusga xos simptomlarini pomidor ekin maydonida monitoring qilish;
2. Pomidor o'simligidan Pomidor mevasi jigarrang bujmayishi virusini (*Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)*) - TShni ajratish va biologik tozalash.
3. Virusning indikator o'simliklardagi kasallik alomatlarini aniqlash orqali biologik identifikatsiya qilish;
4. Virusni molekulyar-genetik usullar yordamida identifikatsiyalash;
5. Virus infeksiyasiga turli preparatlarining ta'sir darajasini in vitro va in vivo aniqlash orqali qarshi kurash choralarini ishlab chiqish.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi. O'zbekiston sharoitida pomidordagi ToBRFV ni dala va issiqxona sharoitida monitoring qilish va bu virusning xarakteristikasini o'rganish. Tadqiqotda qo'llanilgan uslublarning qisqacha tavsifi. Ushbu bajarilgan bitiruv malakaviy ishda yuqumli shira tayyorlash va o'simliklarni mexanik usulda kasallantirish,

o'simliklarning kasallanish darajasini aniqlash, viruslarning identifikatsiya qilish, xo'jayin o'simliklardagi alomatlarini aniqlash kabi bir qator virusologik usullardan foydalanildi.

Ushbu magistrlik dissertasiya ishi CHDPU Tabiiy fanlar fakulteti Biologiya kafedrasida laboratoriyasi va O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti Fitopatogen va boshqa mikroorganizmlar kolleksiyasi "noyob ilmiy" obekti virusologiya laboratoriyasida bajarilgan bo'lib, olib borilgan tajribalar asosida olingan ma'lumotlar asosida yaratilgan. "Invitrogen™ PureLink™ RNA Mini Kit, MMLV-RT revertaza fermenti, 2x Master Mix, 50mM MgCl₂ (Thermo Fisher USA), praymerlar (forward 5'- GTGAGAATAATAGTRGTAA -3' va reverse 5'- ACTACCCTTCGATTTAAGT -3') Integrated DNA Technologies Belgium firmasida sintezlandi. Bundan tashqari ishda xloroform, 96%li etanol, ammoniy sulfat ((NH₄)₂SO₄), fosfat buferi (K₂HPO₄ va K₂HPO₄), tris-HCl (tris-oksümetilaminometan) kabi kimyoviy reaktivlardan kabi bir qator kimyoviy moddalar ishlatildi. Foydalanilgan barcha reaktivlar «kimyoviy toza» yoki «analizlar uchun toza» belgisiga ega.

Yuqumli shira tayyorlash va o'simliklarni mexanik usulda kasallantirish.

Mexanik usulda virus hujayraga barg epidermasidagi mikrojarohatlar orqali kiritiladi. Barg epidermasida mikrojarohatlarni diatom suvo'tlari (selit) yoki karborund (kremniy karbidi) yoki korund (alyuminiy oksidi) kabi abrazivlarni mayda kukuni yordamida hosil qilinadi. Abrazivlarni mayda kukuni hajmi 400-700 meshni tashkil qiladi (Mesh 2,5 sm² (1dyum) dagi poralar (teshikchalar) soni). Avtoklavda yoki quritish shkafida yaxshilab sterillangan karborund, korund barg yuzasiga inokulyatsiyadan oldinroq changlatiladi. Abraziv ishlatilganda inokulyatsiya effekti 20-50 barobar oshadi.

Virusli namunadan virusli shira ajratish uchun virus bilan kasallangan o'simlik a'zolaridan (ildiz, poya va asosan bargidan) namuna olinib chinni havonchada bufer qo'shib (1:1) ezib maydalanadi. Ko'p miqdordagi namunani maydalash uchun gomogenizatoridan foydalaniladi. So'ng to'rt qavatli dokadan o'tgiziladi. Suzib olingan shira 1 minutda 6000-8000 aylanish tezligida sentrofuga qilinadi. Tayyor bo'lgan virusli shirani o'simliklarga yuqtirish uchun barg satxi korund yoki karborund changlatilib 2-3 tomchi shira sog' o'simlikka bargiga tomiziladi va yaxshilab yuvib havoda quritilgan barmoq yordamida oxistalik bilan surtiladi. Surtishning kuchi bargning holatiga, yoshiga, abrazivlarni sifatiga bog'liq bo'ladi. 10-15 minutdan so'ng virus preparati va abrazivlarni ortiqchalarini distillangan suv bilan yuvib tashlanadi. Virus yuqtirilgan o'simlikka virus nomi, sana va boshqalar yozilgan

etiketkalar bog'lanadi. O'simlikni 1-2 soat salqin joyda saqlanadi va kuzatib boriladi [7].

Indikator o'simliklar yordamida kasallik alomatlarini aniqlash. Buning uchun tajriba maydonchasida yetishtirilgan toza holodagi indikator o'simliklarga virusli namuna mexanik usulda yuqtirilib, kasallik alomatlari paydo bo'lguncha kuzatib boriladi. Kasallantirilgan o'simliklarning har biriga alohida-alohida kasallantirilgan namuna va kasallantirish sanasi yozilgan etiketkalar osildi hamda har kuni nazorat qilib borildi. Kuzatishlar natijasida turli indikator o'simliklarda sistemali kasalliklardan mozaika - oddiy, sarg'ish, to'q yashil, tomirlar aro mozaika, barg plastinka deformatsiyalari – barglarning pastga yoki tepaga qarab buralishi, bujmayishi, dag'allashishi, ipsimonlashishi, paporotniksimonlashishi, antotsianoz, enatsiya, pakanalik, bo'g'inoralarining uzayishi yoki qisqarishi (puchkovidnaya verxushka), o'choqli simptomlardan – nekroz va xlorotik dog'lar kabi alomatlar kuzatiladi. Kasallik alomatlari o'simlikning o'sish nuqtasida yaqqolroq kuzatiladi, chunki virus o'simlikning qaysi qismidan kirishidan qat'iy nazar, u avval tepaga harakatlanadi va o'sish nuqtasiga boradi. Turli o'simliklardagi virusli kasalliklar alomatlarini oddiy ko'z bilan, ya'ni visual kuzatish mumkin.

ToBRFV ni biologik tozalash va ko'paytirish. Bir xil virusning har xil shtamlari indikator o'simliklarda turli alomatlarni yuzaga keltirishi mumkin. Kasallik alomatlari mavjud bo'lgan pomidor o'simligi navlaridan 50 g. dan namunalar alohida-alohida yig'ib olinib chinni havonchada fosfat buferi (0,1 M, pH 7,2) qo'shib maydalandi. Hosil bo'lgan gomogenatni o'simlik qoldiqlari, bakteriya va zamburug'lardan tozalash maqsadida 6000 ayl/daq tezlikda 20 daqiqa sentrifugada aylantirildi. Supernatant ajratib olinib laboratoriya sharoitida *Nicotiana glutinosa L.* o'simligiga inokulsiya qilindi. 5 kundan so'ng *Nicotiana glutinosa L.* bargidagi yirik qizil nekroz hozil bo'ldi. Nekrozlardan bittasi ajratib yana qayta gomogenizatsiya qilindi va *Nicotiana tabacum* o'simligiga mexanik yuqtirildi [2]. Mexanik yuqtirilganidan 4-5 kun o'tib *Nicotiana tabacum* bargida dastlab mayda qora nekroz so'ngra sarg'ish mozaika alomati paydo bo'lganligi kuzatildi. Xuddi shunday tartibda uch marta qayta-qayta yuqtirish orqali aralash infeksiyadan tozalangan biologik toza virus olindi va *Nicotiana tabacum*ga inokulatsiya qilindi. *Nicotiana tabacum*da hosil bo'lgan mozaikali barglardan 1 kg dan qilib, -20°C da saqlash uchun qo'yildi. ToBRFV ni tozalangan preparatini olish va tozalik darajasini aniqlash. ToBRFV bilan kasallantirilgan, muzlatkichda saqlanayotgan *Nicotiana tabacum* o'simligi bargidan 1 kg olindi. Ushbu virusli namunaga 0,1M li fosfat buferi (FB) (pH 7.2) (olingan virusli barg vazniga teng miqdorda 1:1 nisbatda bufer) qo'shib gomogenizatorida 15 daqiqa davomida

maydalandi va hosil bo'lgan massa to'rt qavat dokadan o'tkazilgandan so'ng, gomogenat 6000 ayl./daq.da 20 daqiqa sentrifuga qilinib, cho'kma usti suyuqligi (ChUS) olindi va supernatantga nisbatan 8:1 nisbatda xloroform solinib, 20 daqiqa chayqatilgandan so'ng 20 daqiqa 6000 ayl./daq.da sentrifuga qilindi. So'ngra ChUS ga 25% miqdorida $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ammoniy sulfat tuzi qo'shib hona haroratida 1 sutka saqlandi hamda olib 8000 ayl./daq.da 20 daqiqa sentrifuga qilindi. Virusli cho'kma ajratib olindi, ChUS esa tashlab yuborildi. Cho'kma 0,01M li (pH 7,2) FB da eritilib virus eritmaga o'tkazildi va yana 15 daqiqa past 3000 ayl./daq.da sentrifuga qilinib virusning qisman tozalangan preparati olindi. Gomogen virus preparatini olish uchun esa gelfiltrasiya usulidan foydalanildi [2].

TSK NW-65 geli gomogenizatorida FB bilan qo'shib 1 daqiqa davomida aralashtirildi. Maydalangan gel asosiy hajmiga nisbatan 2-3 marta ko'proq bufer solinib chayqatildi va 5 daqiqa tindirilib, ustki qismi ehtiyotkorlik bilan quyib olindi, cho'kkan gel bo'lakchalari kolonkaga joylandi. Kolonkaga gel bo'lakchalari joylanayotganda undagi suv maksimal darajada kamaytirilib, shisha tayoqcha yordamida (orasiga havo kirib qolmasligi uchun) ohistalik bilan aralashtirildi va xromotografik kolonka to'latildi. To'latilgan kolonka 0,1 M li FB (pH 7,2) bilan 1 sutka davomida yuvilgandan so'ng, bufer ostiga juda oz miqdorda saxaroza solinib, 2 ml ToMV ning qisman tozalangan preparati kolonkadagi bufer ostiga solindi. Namuna kolonkaga solingandan so'ng, undan ajralib chiqqan elyuentlar 3 ml dan alohida probirkalarga yig'ib olindi, elyusiya tezligi 4-5 soniyada bir tomchi 1 ta probirkaga 3 ml elyuent to'lish tezligi 4 daqiqa 20 soniyani tashkil etdi. Olingan fraksiyalarning 260-280 nm to'lqin uzunligida UB-nurini yutishiga qarab tozalik darajasi va tozalangan virus miqdori "Cary 60 UV" markali spektrofotometrda aniqlandi [2, 7, 8].

Virusning oxirgi suyuqlanish darajasi (OSD) ni aniqlash. Pamidorning virusli kasalliklarini bir-biridan ajratish uchun oxirgi suyulish darajasini (OSD) aniqlash uchun shu virus bilan kasallantirilgan o'simlik barglaridan 50-60gr olinib, chinni xavonchada ezib maydalandi. Maydalangan massa 4 qavatli dokadan o'tkazildi va 1ml nazorat uchun qoldirildi. So'ngra 9 ml dan buffer solib qo'yilgan 10 ta probirkaning birinchisiga 1 ml virusli shira solib yaxshilab aralashtirilgandan so'ng, bu aralashmadan 1 ml olib, keyingi probirkaga solindi va aralshtirildi. Shu tariqa suyultirish 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} marta amalga oshirildi hamda *Nicotiana glutinosa* L barglarining chap tomoniga nazorat shirasidan, o'ng tomoniga esa suyultirilgan shira yuqtirildi va ularning har biriga etiketkalar osib chiqildi hamda kasallik alomatlari paydo bo'lgunga qadar har 2-3 kunda 15 kungacha kuzatib borildi.

Natijalar paydo bo'lgan nekrotik dog'lar asosida hisobga aniqlandi.

XULOSA

Ishini bajarishda yuqumli shira tayyorlash va o'simliklarni mexanik usulda kasallantirish, indikator o'simliklar yordamida kasallik alomatlarini aniqlash, viruslarni tarqalish darajasini aniqlash, biologik tozalash, toza preparat olish va uning tozalik darajasini aniqlash, virusning oxirgi suyuqlanish darajasi (OSD) ni aniqlash, fitovirusning harorat ta'sirida faolligini yo'qotish (HTFY) nuqtasini aniqlash hamda pamidor o'simligini kasallantiruvchi virusli kasalliklarni PZR usulida aniqlash kabi virusologik usullardan hamda viruslarni pigment (xlorafill a, b va karatinoid)lar miqdori kabi o'simlik fiziologik jarayonlariga ta'siri o'rganildi. QT-PZR tahlili bilan Toshkent viloyati hududidagi ayrim pamidor dalalarida ToBRFV ning tarqalishi aniqlandi.

REFERENCES

1. Vahobov A.H. Virusologiya asoslari. Toshkent: Universitet, 2017. B 289-297
2. Ваҳобов А.Ҳ. Умумий вирусологиядан амалий машғулотлар. I-жилд, – Тошкент: Университет, 2004. – 36-37 б.
3. Ваҳобов А.Ҳ. Ўсимлик вирусларини аниқлашда иммунология усулларини қўллаш. –Тошкент: ТошДД, 1991. – 36 б.
4. Вахабов А.Х. Характеристика наиболее распространенных фитовирусов в экологических условиях Узбекистана: Дис...доктор. биол. наук. – Киев: Институт Микробиологии АН УР, 1989. - 254 с.
5. Власов Ю.И., Ларина Э.И. Сельскохозяйственная вирусология. –М.: Колос, 1982. – 237 с.
6. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. – Москва: Мир, 1978. – 429 с.
7. Мухаммедов И., Эшбоев Э., Зокиров Н., Зокиров М. Микробирология, иммунология, вирусология.–Тошкент:Миллий энциклопедия, 2002.- 519 б.
8. Файзиев.В.Б, Картошка X-вирусининг Ўзбекистонда тарқалган изолятини ажратиш, хусусиятларини ўрганиш ва унинг диагностикаси // Биология фанлари доктори илмий даражасини олиш учун ёзилган диссертация. – Ташкент, 2020.-61-75-91-94 бетлар.
9. Рамазонов, Б. Р. (2021). Сельскохозяйственные культуры и их продуктивность в нижне амударьинском регионе. Academic research in educational sciences, 2(1), 1001-1006.

10. Рамазонов, Б. Р., Кузиев, Р. К., & Абдурахмонов, Н. Ю. (2016). Состояние земельных ресурсов низовьев Амударьи и меры по их рациональному использованию. In *Почвоведение-продовольственной и экологической безопасности страны* (pp. 388-389).
11. Shonazarova, N. I., & Fayziyev, V. B. (2021). KYV shtammlari va ularning ahamiyati. *Academic research in educational sciences*, 2(10), 306-311.
12. А.А.Юсубахмедов, & В.Б.Файзиев (2022). ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ М ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР . *Современная биология и генетика*, 1-2 (1), 14-20.
13. Ramazonov, B. R. (2018). Plant world of the drained bottom of the Aral Sea. Current ecological state of the environment and scientific and practical aspects of rational nature management. In *III International Scientific and Practical Internet Conference/Compilation NA Shcherbakova/FSBSI" Caspian Research Institute of Arid Agriculture"*, p. *Salty Loan.-2018. S* (pp. 716-718).
14. Рамазонов, Б. Р., & Муталов, К. А. (2021). ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЭКОЛОГИЕЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ МОНИТОРИНГ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ. *Academic research in educational sciences*, 2(9), 946-954.

