

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI QOSHIDAGI  
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI  
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI  
DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

---

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI  
INSTITUTI**

**AXMADALIYEV BOBURBEK JAXONGIR O‘G‘LI**

**TOMAT (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.) O‘SIMLIGINI  
KASALLANTIRUVCHI VIRUSLARNI AJRATISH, XUSUSIYATLARINI  
O‘RGANISH VA ULARNING DIAGNOSTIKASI**

**03.00.04 – Mikrobiologiya va virusologiya**

**biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi  
AVTOREFERATI**

**Toshkent – 2023**

**Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)**

**Axmadaliyev Boburbek Jaxongir o‘g‘li**

Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) o‘simligini kasallantiruvchi viruslarni ajratish, xususiyatlarini o‘rganish va ularning diagnostikasi ..... 3

**Ахмадалиев Бобурбек Жахонгир угли**

Выделение вирусов, поражающих растения томата (*Lycopersicum esculentum* Mill.), изучение их свойств и диагностика..... 23

**Akhmadaliyev Boburbek Jakhongir ugli**

Isolation of viruses affecting tomato plants (*Lycopersicum esculentum* Mill.), study of their properties and diagnostics ..... 45

**E‘lon qilingan ishlar ro‘yxati**

Список опубликованных работ  
List of published works ..... 49

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI QOSHIDAGI  
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI  
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI  
DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

---

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI  
INSTITUTI**

**AXMADALIYEV BOBURBEK JAXONGIR O‘G‘LI**

**TOMAT (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.) O‘SIMLIGINI  
KASALLANTIRUVCHI VIRUSLARNI AJRATISH, XUSUSIYATLARINI  
O‘RGANISH VA ULARNING DIAGNOSTIKASI**

**03.00.04 – Mikrobiologiya va virusologiya**

**biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi  
AVTOREFERATI**

**Toshkent – 2023**

**Falsafa doktori (PhD) dissertatsiya mavzusi O‘zbekiston Respublikasi Oliy ta’lim, fan va innovatsiya vaziligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2023.1.PhD/B861. raqami bilan ro‘yxatga olingan.**

Dissertatsiya ishi Genetika va o‘simliklar eksperimental biologiyasi institutida bajarilgan. Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o‘zbek, ingliz, rus (rezyume)) Ilmiy kengash veb-sahifasida ([www.tiame.uz](http://www.tiame.uz)) va «ZiyoNet» Axborot ta’lim portalida ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)) joylashtirilgan.

**Ilmiy rahbar:**

**Qodirova Zarifa Nosirovna**

biologiya fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim

**Fayziyev Voxid Baxramovich**

biologiya fanlari doktori, professor

**Rasmiy opponetlar:**

**Xusanov Toxir Sunnatovich**

biologiya fanlari falsafa doktori (PhD), katta ilmiy xodim

**Yetakchi tashkilot:**

Guliston davlat universiteti

Dissertatsiya himoyasi “TIQXMMI” Milliy tadqiqot universiteti qoshidagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar instituti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 raqamli Ilmiy kengashning 2023 yil «\_\_\_» \_\_\_\_\_ kuni soat \_\_\_ dagi onlayn majlisida bo‘lib o‘tadi. (Manzil: 100000, Toshkent shahri, Qori Niyoziy ko‘chasi, 39-uy, Tel.:(+99871) 237-19-31, faks:(+99871)237-38-79; e-mail: [ifar@tiame.uz](mailto:ifar@tiame.uz))

Dissertatsiya ishi bilan “TIQXMMI” Milliy tadqiqot universiteti qoshidagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar institutining axborot resurs markazida taninshish mumkin (№\_\_ raqami bilan ro‘yxatga olingan) (Manzil: 100000, Toshkent shahri, Qori Niyoziy ko‘chasi, 39-uy, Tel.:(+99871) 237-19-31, faks:(+99871)237-38-79; e-mail: [ifar@tiame.uz](mailto:ifar@tiame.uz))

Dissertatsiya avtoreferati 2023 yil «\_\_\_» \_\_\_\_\_ kuni tarqatildi.

(2023 yil «\_\_\_» \_\_\_\_\_ dagi \_\_\_\_\_ raqamli reyestr bayonnomasi).

**D.R.Egamberdiyeva**

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash raisi, q/x.f.d.

**F.B.Eshboyev**

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash ilmiy kotibi, PhD

**F.N.Kushanov**

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash huzuridagi Ilmiy seminar raisi, b.f.d., professor

## **KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)**

**Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati.** Dunyodagi keng tarqalgan va inson iste'mol qiladigan ko'plab vitaminlar, minerallarga boy bo'lgan, ochiq maydon hamda issiqxonalarda yetishtiriladigan sabzavot ekinlaridan biri pomidor (*Solanum lycopersicum* L.) hisoblanadi. FAO (2020) ma'lumotlariga ko'ra, dunyoda yiliga 177 million tonna pomidor yetishtiriladi. Dunyoda yetishtiriladigan pomidor hosilining katta qismi Xitoy (56 million tonna/yil), Hindiston (18 million tonna/yil), Turkiya (12,6 million tonna/yil), Rossiya Federatsiyasiga (3 million tonna/yil) to'g'ri keladi. O'zbekistonda 50 ming gektar maydonda pomidor yetishtiriladi, ishlab chiqarish hajmi yiliga 2,6 million tonnani tashkil etadi.

Hozirgi vaqtda pomidor yetishtiriladigan mavsumda olingan pomidor mevalarini saqlash va qayta ishlab, yilning boshqa davrida ham aholiga yetkazib berish muhim masaladir. Bu esa ilm-fan sohasi xodimlari oldiga hosilni turli zararkunanda va patogen organizmlardan himoya qilib, nobud qilmay yetishtirish, uni sifatli saqlash va qayta ishlashni tashkil etish vazifalarini yuklaydi.

Butun dunyoda oziq-ovqat, yem-xashak, texnik va dekorativ o'simliklar sifatida yetishtirilayotgan ekinlarning aksariyati fitopatogen viruslar bilan kasallanib, ular hosilni sezilarli darajada yo'qotadi va qishloq xo'jaligi mahsulotlari sifatini buzilishiga sabab bo'lmoqda. So'nggi o'n yil ichida o'simliklarda aniqlangan yangi kasalliklarining deyarli yarmi virus kasalliklari ekanligi qayd etilgan.

Virus kasalliklari pomidorda va boshqa madaniy o'simliklarni yetishtirishda eng asosiy cheklovchi omildir. O'simliklardagi virusli infeksiyalar xavfini minimallashtirish masalasi har doim olimlarning e'tiborini tortgan, chunki virusli infeksiyalar nafaqat hosilni katta qismini yo'qotishiga olib keladi, balki davolab bo'lmaydigan kasalliklarning rivojlanishiga sabab bo'ladi. Yangi qishloq xo'jalik amaliyotlarini joriy etilishi, global isish va vektorlarning (virusli infeksiyalarni tashuvchi hasharotlar) tarqalishi, globallashuv, dunyoning turli mintaqalari o'rtasida urug'lar va ko'chat materiallarining tez-tez almashinuvi tufayli virusli kasalliklar tobora ortib bormoqda.

Mamlakatimizda sanoatlashtirish, sanoatda ishlab chiqarishni jadal rivojlanishi va qishloq xo'jaligida kimyoviy preparatlarning keng qo'llanilishi agrotsenozlarda kuchli ekologik o'zgarishlarga olib kelmoqda, shu jumladan fitopatogen virus turlar tarkibi va xilma-xilligining o'zgarishiga, mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotasining ortishiga bevosita ta'sir ko'rsatmoqda. Bu esa, fitopatogen virus tur va shtammlarining paydo bo'lishiga va mavjud turlarning agressivligining oshishiga olib kelmoqda. Sabzavot ekinlarini viruslar populyatsiyasi dinamikasining o'zgarishini o'rganish viruslarga chidamli navlarni yoki genetik modifikatsiyalangan o'simliklarni yaratish, virusli kasalliklarga qarshi kurash choralarini ishlab chiqarish hamda amaliyotga joriy etish, bio-ekologik xavfni kamaytirish, ishlab chiqarish rentabelligini, milliy oziq-ovqat strategiyasi va biologik xavfsizlikni ta'minlash imkonini beradi.

Mamlakatimizda meva-sabzavot, poliz, dekorativ va boshqa o'simliklarni bir qator zararkunanda va patogen organizmlardan himoya qilish bo'yicha ijobiy ilmiy ishlar olib borilib, qishloq xo'jaligi amaliyotiga joriy qilinmoqda. O'simliklarda

kasallik keltirib chiqaruvchi patogen viruslarni tur tarkibini aniqlab, ularga qarshi kurash choralarini ishlab chiqish bo'yicha qator ilmiy-tadqiqotlar olib borilib, muayyan natijalarga erishilmoqda.

O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasida<sup>1</sup> yuqori mahsuldorlikka ega, kasallik va zararkunandalarga chidamli, turli tuproq-iqlim va ekologik sharoitlarga moslashgan qishloq xo'jalik ekinlarining yangi seleksiya navlarini yaratish va ishlab chiqarishga joriy etish bo'yicha ilmiy-tadqiqot ishlarini kengaytirish vazifalari belgilangan. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020-yil 25-noyabrda PQ-4899-son "Biotexnologiyalarni rivojlantirish va mamlakatning biologik xavfsizligini ta'minlash tizimini takomillashtirish bo'yicha kompleks chora-tadbirlar to'g'risida" gi qarori hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

**Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mosligi.** Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining V. «Qishloq xo'jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi» ustuvor yo'nalishiga muvofiq bajarilgan.

**Muammoning o'rganilganlik darajasi.** Pomidor (*Lycopersicon esculentum* Mill.) o'simligida Tomat mozaikasi virusini birinchi bo'lib (G.P.Clinton 1909; Westerdijk 1910) Gollandiyada aniqlagan. Tamaki mozaikasi virusi (TMV) bilan yaqin serologik o'xshashligi tufayli ToMV ko'pincha "TMV shtammi" deb qaralgan (Van Regenmortel, 1975, 1981; Van De Walle va Siegel, 1976; Dawson va boshqalar, 1979; Kukla va boshqalar, 1979; Fraser va Loughlin, 1980; Fraser va boshqalar, 1980; Burgyan va Gaborjanyi, 1984). Biroq, Tamaki mozaikasi virusi hamda Tomat mozaikasi virusining xo'jayin o'simliklar diapazoni va oqsil tarkibidagi farqlar bilan osongina ajratish mumkinligi sababli, ToMV alohida virus turi sifatida belgilandi (Harrison va boshq., 1971; Fenner, 1976; Hollings va Xuttinga, 1976; Gibbs, 1977). Pomidor o'simligini kasallantiruvchi viruslarining biologiyasi, tuzilishi, genomining tavsifi, o'simliklarning fiziologiyasiga ta'sirini o'rganish bo'yicha bir qator olimlar tomonidan ilmiy izlanishlar olib borilgan (N.B.Hao, 2003; N.V. Dinh, 2005; N.T. Xuyen, 2005; S.Kumar, 2011; S.S.Hashemi, 2014; Jones, 2014; K.Fillmer, 2015; E.F.Olive, 2019; J.N.Castillo, 2019; S.Davino, 2020).

Mustaqil davlatlar hamdo'stligi (MDH) mamlakalari olimlari (K.S.Suxov, 1965; A.Ye.Protsenko, 1966; R.V.Alekseyev, 1975; Yu.I.Vlasov, 1956; E.I.Larina, 1982; S.M.Ambrosova, 1994; A.K.Axatov, 2002; S.N.Chirkov, 2009; D.Z.Bogoutdinov, 2012; L.N.Samsonova, 2018; T.S.Fominix, 2000, 2019) va boshqa bir qator olimlar ushbu yo'nalishda ilmiy izlanishlar olib borgan.

Mamlakatimizda o'simlik viruslarini aniqlash, ularning xususiyatlari va tarqalish darajalarini o'rganish bo'yicha qator olimlar (Yu.I.Vlasov, 1961; A.H.Vahobov, 1974; V.Mirzaaxmedov, 1964; M.Z.Isamuxamedov, 1969; Q.S.Davronov, 1984; J.Yuldashev, 1991; Z.N.Dehqonova, 1992; U.M.Jurayeva,

<sup>1</sup> O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022-yil 28-yanvardagi "2022-2026 yillarga mo'ljallangan yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to'g'risida"gi PF-60-son qarori // Elektron manba: lex.uz/docs/5841063.

1997; I.T.Ergashev, 2007; G.M.Umarova, 2009; Z.A.Qodirova, 2020; V.B.Fayziyev, 2011, 2020; T.S.Xusanov, 2020) tadqiqotlar olib borgan.

Ammo, mamlakatimizda pomidor va boshqa qishloq xo'jaligi ekinlarini kasallantiruvchi ToMV ajratilib, alohida virus turi sifatida o'rganilmagan hamda molekulyar-genetik identifikatsiya qilinmagan. Ochiq va issiqxona sharoitida yetishtirilayotgan o'simliklarni kasallantiruvchi fitopatogen viruslarni molekulyar-genetik usullarda aniqlash va ularni bio-ekologik, morfologik, genetik xususiyatlarini o'rganishga oid ilmiy tadqiqotlar olib borish zaruriyati mamlakatimizda mavjud bo'lib, ushbu yo'nalishda olib borilayotgan ilmiy izlanishlar viruslarga chidamli navlarni seleksiya qilish jarayonida muhim ilmiy-amaliy ahamiyat kasb etadi.

**Tadqiqotning dissertatsiya bajarilgan oliy ta'lim yoki ilmiy-tadqiqot muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi.** Dissertatsiya tadqiqotlari Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik ilmiy tekshirish instituti Samarqand ilmiy tajriba stansiyasining QX-A-QX-2018-127 "Samarqand viloyati sharoitida yangi navlarni yaratish uchun pomidorning virusli mozaika kasalliklari (*Tomato mosaic tobamovirus*) va shirin qalampirning oq pashsha (*Aeyrodidae Hemoptera*)ga chidamli dastlabki materialini yaratish" (2018-2020) hamda O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutining IZ-2020122512 "Tomat mozaikasi virusini immunodiagnostikasini ishlab chiqish" (2021-2024) amaliy loyihalari doirasida bajarilgan.

**Tadqiqot maqsadi:** Pomidor o'simligini kasallantiruvchi fitopatogen viruslarni aniqlash, ajratish, xususiyatlarini o'rganish va molekulyar-genetik identifikatsiya qilish hamda viruslardan himoyalash choralarini izlashdan iborat.

**Tadqiqot vazifalari:**

Respublikamiz ayrim hududlarini pomidor o'simliklaridagi virusga xos kasallik alomatlariga asosan hamda serologik usullar yordamida fitovirusologik monitoring qilish;

ToMV ni ajratish, biologik tozalash va virusning tozalangan preparatini olish;

ToMV ning biologik, fizik-kimyoviy xususiyatlarini aniqlash;

ToMV ni molekulyar-genetik identifikatsiya qilish va molekulyar filogeniya tahlillarini amalga oshirish;

ToMV ga spetsifik poliklonal antitanali zardob olish va virus diagnostikasida qo'llash hamda pomidorning turli nav va tizmalarini ToMV ga chidamliligini baholash;

Kimyoviy va biologik preparatlarning ToMV ga ta'siri samaradorligini in vitro usulida aniqlash;

**Tadqiqot obyekti** sifatida respublikamiz agrotsenozida tarqalgan pomidor va boshqa o'simliklarni kasallantiruvchi ToMV izolyatlari hisoblanadi.

**Tadqiqot predmeti** sifatida esa, respublikamizning turli hududlarida ekilayotgan pomidorning mahalliy va xorijiy navlari, duragaylari, laboratoriya sharoitida virusni ko'paytirishda qo'llanilgan turli indikator o'simliklar hamda ToMV ga spetsifik antizardob olishda quyoning "Albinoz" va "Shinshila" zotlaridan foydalanildi.

**Tadqiqot usullari:** Ilmiy tadqiqot ishida fitoviruslarni ajratish va tozalash, spektrofotometriya, aniqlagich o‘simliklar usuli, immunoxromotografik analiz usuli, ikkiyoqlama immunodiffuziya (IID), molekulyar-genetik (RNK ni ajratish, gel-elektroforez, PZR, sekvinslash) va bioinformatik usullardan foydalanildi.

**Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:**

respublikamizning ayrim hududlarida yetishtirilayotgan pomidor maydonlari tezkor zamonaviy diagnostika usullar yordamida ToCV, TICV, ToMV, PepMV, TSWV, INSV viruslariga fitosanitar monitoring qilinib, ular orasidan ToMV eng keng tarqalgani aniqlangan;

ilk bor O‘zbekiston sharoitida *Tomato chlorosis virus* va *Tomato infectious chlorosis virus* respublikamizda yetishtirilayotgan pomidor maydonlarida uchrashi aniqlangan;

respublikamizda ilk bor ToMV virusining “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” izolyati qobiq oqsili (CP) gen fragmentining nukleotidlar ketma-ketligi sekvins qilindi va dunyoning boshqa mintaqalaridagi ToMV izolyatlari solishtirilib, filogenetik tahlili o‘tkazildi;

“TSK HW-75” gel yordamida ToMV ning toza preparati olinib, virusga spetsifik zardob tayyorlash usuli takomillashtirilgan, ToMV ning ba’zi biologik va fizik-kimyoviy xususiyatlari aniqlangan;

ToMVga spetsifik poliklonal antitanali antizardob olindi va bu antizardob pomidorning turli nav va liniyalarining ToMVga chidamliligini skrining qilishda qo‘llanildi;

termoterapiya usuli yordamida urug‘da saqlangan ToMV infeksiyasini zararsizlantirishda vaqt va haroratning optimal rejimi aniqlangan;

pomidor o‘simligini Tomat mozaikasi virusidan himoyalashda kimyoviy va biologik preparatlarning ta’sir etish darajasi baholangan va qiyosiy taqqoslagan.

**Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:**

Tadqiqotlar davomida TSWV, INSV, PepMV, ToCV, TICV, ToMV viruslarining tarqalish darajasi aniqlangan;

ToMV mamlakatimizda tarqalgan izolyati CP genining fragmenti nukleotidlar ketma-ketligi sekvinsi bo‘yicha olingan natijalar NCBI (AQSH Milliy Biotexnologiya Axborot Markazi) ma’lumotlar bazasida [OQ076774.1](#) ID raqami bilan ro‘yxatdan o‘tkazilgan;

Tozalangan ToMV ni quyonga inyeksiya qilish sxemasi ishlab chiqilgan va unga poliklonal antitanali zardob olingan;

Olingan antizardob ToMV diagnostikasida hamda “Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik” ilmiy tekshirish instituti Samarqand ilmiy tajriba stansiyasida ekib urug‘lik material olinayotgan pomidor navlari va duragaylarining ToMV ga chidamliligini baholashda qo‘llanilgan;

ToMV infeksiyasiga kimyoviy “Kuprumxit” va “Farmayod” preparatlari hamda biologik “Bioazot” va “Mikrozim-2” preparatlarining antiviral ta’siri o‘rganilgan.

**Tadqiqot natijalarining ishonchliligi.** Tadqiqot natijalarining ishonchliligi tahlillar zamonaviy virusologik, biotexnologik, molekulyar genetik usullardan foydalangan holda o‘tkazilganligi, ilmiy natijalar Statistica 6.0 dasturidan

foydalangan holda zamonaviy statistik tahlillar yordamida tahlil qilingani, shuningdek, SnapGene, MEGA11 dasturlari yordamida bioinformatik tahlil, GenBank NCBI ma'lumotlar bazasiga o'rganilgan virus izolyatining nukleotidlar ketma-ketligini joylashtirilganligi, natijalarini respublika va xalqaro konferensiyalarda muhokama qilinganligi va tadqiqot natijalarini O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasi tomonidan tavsiya etilgan ilmiy jurnallarda nashr etilganligi bilan izohlanadi.

**Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.** Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati respublikamizda ayrim hududlarida yetishtirilayotgan pomidor maydonlari tezkor va sezgir zamonaviy diagnostika usullar yordamida TICV, ToCV, ToMV, TSWV, INSV virus turlari, ular orasidan ToMV eng keng tarqalgani aniqlanganligi, aralash infeksiya bilan kasallangan pomidor o'simligidan ToMV ni ajratib, toza gomogen preparati olinganligi, ToMV ning gomogen preparatiga spetsifik quyvon zardobini tayyorlash sxemasi ishlab chiqilganligi, urug'da saqlangan ToMV infeksiyasini zararsizlantirishda vaqt va haroratning optimal rejimini to'g'ri tanlash muhim ahamiyatga egaligi ilmiy isbotlanganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarini amaliy ahamiyati olingan poliklonal antitanali antizardob IID usulida pomidorning 25 dan ortiq navlar va duragaylaridan ToMV ga immun, chidamli va chidamsizlarini baholashda hamda virusni erta diagnoz qilishda qo'llanilganligi, pomidor o'simligini ToMV bilan zararlanishini oldini olishda biologik preparatlarni qo'llash kimyoviy preparatlarga nisbatan samarali ekanligi, O'zbekistonda tarqalgan ToMV izolyatining CP genining fragmenti asosida molekulyar-genetik identifikatsiyasi natijasida genom nukleotidlar ketma-ketligi GeneBank NCBI bazasiga [OQ076774.1](#) raqam bilan joylashtirilganligi, bu esa dunyo bo'yicha ushbu yo'nalishdagi ilmiy-tadqiqot ishlarida ToMV ning boshqa mamlakatlaridan ajratilgan izolyatlar bilan mamlakatimizdan ajratilgan izolyatini o'zaro solishtirishda foydalanish uchun asos bo'lib xizmat qilishi bilan izohlanadi.

**Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi.** Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) o'simligini kasallantiruvchi viruslarni ajratish, xususiyatlarini o'rganish va ularning diagnostikasi bo'yicha olib borilgan ilmiy-tadqiqot natijalari asosida:

pomidor va boshqa sabzavot ekinlarini kasallantiruvchi Tomat mozaikasi virusining respublikamizda tarqalgan izolyati "Fitopatogen va boshqa mikroorganizmlar noyob ilmiy obyekt kolleksiyasi" genofondiga topshirilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi 2023-yil 14-fevraldagi 4/1255-314-son ma'lumotnomasi). Natijada fitopatogen mikroorganizmlar shtammlari kolleksiya genofondini boyitish, virus turlari xilma-xilliklari elektron bazasi axborot tahlil tizimini shakillantirish imkonini bergan;

ToMV virus bilan kasallangan pomidor o'simligidan ajratib olingan izolyati "*Tomato mosaic virus ABJ-1*" nomi bilan Jahon mikroorganizmlar ma'lumotlar markazining Patogen Mikroorganizmlar Milliy kolleksiyasining (World Data Center for Microorganism (WDCM) National Collection of Phytopathogenic Microorganisms (NCAM)) ma'lumotlar bazasiga WDCM 1035-raqami orqali ro'yxatdan o'tkazilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Genetika va

o'simliklar eksperimental biologiyasi institutining 2023-yil 9-fevraldagi dalolatnomasi hamda O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi 2023-yil 14-fevraldagi 4/1255-314-son ma'lumotnomasi). Natijada dunyoning turli mintaqalarida tarqalgan "Tomat mozaikasi virusi" ni tadqiq qilishda global doirada foydalanish imkonini bergan;

ToMV ning tozalangan preparatidan KA-12-001 "Xitozan va uning xosilalari polimer metallokomplekslarini olish texnologiyasini ishlab chiqish, ularning qishloq xo'jaligi ekinlarini kasalliklarini oldini olish va davolashda ishlatilishi (vilt, ildiz chirishi va monilioz)" mavzusidagi amaliy loyiha doirasida olingan "Kuprumxit" preparatining antiviral ta'sirini baholashda foydalanilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining 2023-yil 21-fevraldagi 4/1255-351-son ma'lumotnomasi). Natijada, fitopatogen viruslarga qarshi antiviral preparat sifatida "Kuprumxit" preparatini amaliyotga tavsiya etish imkonini bergan;

O'zbekistonda tarqalgan ToMV izolyatining CP genining fragmenti asosida molekulyar-genetik identifikatsiyasi natijasida genom nukleotidlar ketma-ketligi fragmentiga asoslangan tur sekvinsi bo'yicha olingan natijalar NCBI, EMBL-EBI Yevropa nukleotid arxivi (Buyuk Britaniya, Kembridj) va DDBJ Yaponiya DNK ma'lumotlar bazasida [OQ076774.1](#) ID raqami bilan ro'yxatdan o'tkazilgan. Natijada O'zbekiston hududida tarqalgan Tomat mozaikasi virusining nukleotidlar ketma-ketliklari ma'lumotlarini dunyoning turli mintaqalarida uchrovchi ToMV shtammlari bilan taqqoslash imkonini beradi.

**Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi.** Mazkur tadqiqot natijalari 2 ta xalqaro va 10 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

**Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi.** Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 18 ta ilmiy ish, shulardan 6 tasi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiya vazirligi xuzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasining doktorlik dissertatsiyalar asosiy ilmiy natijalarini chop etish uchun tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda, jumladan 5 tasi respublika va 1 tasi xorijiy ilmiy jurnallarda nashr qilingan.

**Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi.** Dissertatsiya ishi kirish, to'rtta bob, xulosalar, adabiyotlar ro'yxati hamda ilovalardan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 112 betni tashkil etgan.

## DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

**Kirish** qismida dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyligi, maqsad va vazifalari asoslab berilgan, tadqiqotning obyekt va predmetlari tavsiflangan, tadqiqotning respublika fan va texnologiyalarni rivojlantirishning ustuvor yo'nalishlariga muvofiqligi keltirilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning nazariy va amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilish, nashr etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilishi bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «**Pomidor o'simligini kasalantiruvchi viruslar va ularni aniqlashga oid ilmiy adabiyotlar sharhi**» deb nomlangan birinchi bobida pomidor va boshqa sabzavot ekinlarini kasalantiruvchi fitopatogen viruslarning

tavfisi, fitopatogen viruslarni aniqlashning klassik va zamonaviy usullari, fitopatogen viruslarni tabiatda tarqalishi va o‘simliklarga yuqish yo‘llari, viruslar diagnostikasida qo‘llaniluvchi antizardob va uning xususiyatlari, fitopatogen viruslardan o‘simliklarni himoyalash choralariga oid chop etilgan ko‘plab maqolalardagi natijalarning tahlili mazkur ishning asosiy maqsadi va vazifalarini shakllanishiga imkon bergan.

Dissertatsiyaning «**Fitopatogen viruslarni identifikatsiya qilish va xususiyatlarini o‘rganishda qo‘llaniladigan usullar**» deb nomlangan ikkinchi bobida dissertatsiya ishi davomida foydalanilgan material va tadqiqot uslublari keng tavsiflangan. Tadqiqot uslublarida kasallangan o‘simliklardan namunalar yig‘ish va kasallanish darajasini aniqlash, aniqlagich o‘simliklar usuli, PZR usulida viruslarni molekulyar-genetik identifikatsiyasi, Senger sekvins reaksiyasi usuli, ToMV ni gelfiltratsiya usulida tozalash, ToMV ni biologik tozalash usuli, ToMV ni ayrim biologik va fizik-kimyoviy xususiyatlarini aniqlash usuli, tozalangan ToMV preparatini quyon organizmiga inyeksiya qilish va zardob olish usuli, olingan poliklonal antitanali zardob titrini ikkiyoqlama immunodiffuziya usulida aniqlash, ToMV ni pomidorning urug‘ unuvchanligiga ta‘sirini aniqlash hamda ToMV ning tozalangan preparatiga biologik va kimyoviy preparatlarining antiviral ta‘sirini aniqlash usullaridan foydalanilgan.

Dissertatsiyaning «**Tomat mozaikasi virusini ajratish, toza preparatini olish, molekulyar-genetik identifikatsiyasi hamda spetsifik zardob tayyorlash**» nomli uchinchi bobida mamlakatimizning ayrim hududlarida yetishtirilayotgan pomidor o‘simliklarini viruslarga xos kasallik alomatlariga asosan monitoringi, ToMV ni ajratish, tozalash va biologik, fizik-kimyoviy xususiyatlarini aniqlash, molekulyar-genetik usullar yordamida ToMV ni diagnostika qilish va uning filogenetik tahlili, ToMV ning toza preparatiga quyon antizardobini olish bo‘yicha tadqiqot natijalari keltirilgan.

Respublikamizning Andijon, Samarqand hamda Toshkent viloyatlarida yetishtirilayotgan pomidorning turli nav va duragaylari vizual tekshirilganida barglarda turli mozaika alomatlari, deformatsiyalar, mevalarda virusga xos chiziqlar, dog‘lar, mevaning qattiqlashishi, o‘simlik o‘sish konusining o‘zgarishi, pakanalik kabi viruslarga xos kasallik alomatlari mavjudligi kuzatildi va ushbu kasallangan o‘simliklardan namunalarni virusologik ekspertiza o‘tkazish uchun olindi (1-rasm).



**1-rasm.** Pomidor o‘simligidagi virus kasalliklariga xos belgilar. 1-barglarning qayiqsimon qayrilishi; 2-barglarning mozaikali kichrayishi, “chashkasimon burishishi”; 3-xloroz; 4-tomirlararo xloroz; 5-bargning nekrozlanishi; 6-bargning dag‘allashuvi va mozaika; 7-mevaning dog‘lanishi va “toshdek” qotishi; 8-pomidor mevasining dog‘lanishi.

Olib borilgan monitoring kuzatuvlarida kasallik alomatlarini viruslarga xosligini aniqlashda “Loweinfo” (Germaniya) kompaniyasining immunoxromotografik kasetalar to‘plami hamda “Agdia” (AQSH) kompaniyasining immunoxromotografik tayoqchalaridan foydalanildi. Monitoring olib borilgan hududlarda pomidor va boshqa sabzavot ekinlarini kasallantiruvchi ToMV, PepMV, TSWV, INSV, TICV, ToCV kabi viruslarni tarqalish darajasini aniqlash uchun namunalar laboratoriya sharoitida immunoxromotografik tahlillar o‘tkazildi (2-rasm).



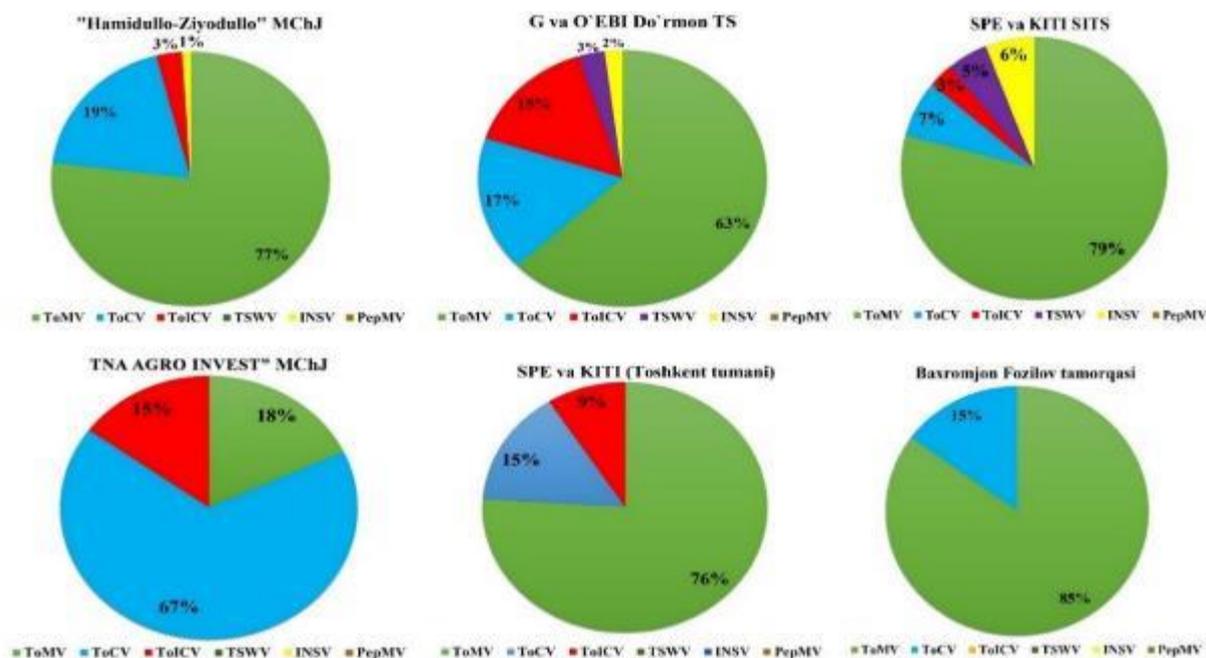
**2-rasm.** Immunoxromotografik usulda fitopatogen viruslarni aniqlash  
1-Impatiens necrotic spot virus (INSV); 2-Tomato mosaic virus (ToMV) (Qibray);  
3-Tomato spotted wilt virus (TSWV); 4-Tomato mosaic virus (ToMV) (Paxtaobod); 5-Pepino mosaic virus (PepMV).

**Izoh:** o‘ngdan 1-chiziq nazorat, 2-chiziq virus borligini bildiradi.

Tekshirilgan namunalarda ToMV, TSWV, INSV kabi viruslar bilan kasallanganligi, PepMV bilan esa kasallanmaganligi aniqlandi (2-rasm). Immunoxromotografik tahlillar natijasida monitoring olib borilgan jami 12,5 ga pomidor maydonlarining barchasida ToMV keng tarqalganligi ma’lum bo‘ldi (3-rasm).

Immunoxromotografik tahlil natijalari shuni ko‘rsatdiki, tekshirilgan maydonlardan yig‘ilgan namunalarda kasallanish darajasi: “Hamidullo-Ziyodullo” MCHJ (Qibray tumani) ToMV 77%, ToCV 19%, TICV 3%, INSV 1%, TSWV va PepMV tarqalmaganligi, FA G va O‘EBI Do‘rmon tajriba stansiyasida ToMV 63%, ToCV 17%, TICV 15%, TSWV 2%, INSV 3%, tarqalganligi PepMV esa uchramaganligi, SPE va KITI Samarqand ilmiy tajriba stansiyasida ToMV 79%, ToCV 7%, TICV 3%, TSWV 5%, INSV 6%, TNA AGRO INVEST” MCHJ (Bo‘ka tumani) maydonida ToMV 18%, ToCV 67%, TICV 15% uchraganligi INSV, TSWV va PepMV mavjud emasligi, SPE va KITI (Toshkent tumani) maydonida ToMV 76%, ToCV 15%, TICV 9%, INSV, TSWV va PepMV mavjud emasligi hamda Baxromjon Fozilov tamorqasida (Andijon viloyati Paxtaobod

tumani) ToMV 85%, ToCV 15%, TICV, INSV, TSWV va PepMV uchramasligi aniqlandi (3-rasm). Tekshirilgan barcha dalalarda ToMV keng tarqalgan bo‘lib, umumiy miqdorda 18-85% ni tashkil etganligi aniqlandi.



**3-rasm.** Ilmiy tadqiqot institutlari va jamoa xo‘jaliklarida pomidor ekinini viruslar bilan kasallanish darajasi

Virus bilan zararlangan o‘simliklardan olingan urug‘lar viruslarning asosiy tarqalish manbalari hisoblanadi. Urug‘larda saqlangan virus uzoq vaqt davomida yuqumli bo‘lib, virus urug‘ vazniga va unuvchanligiga salbiy ta‘sir ko‘rsatadi. Viruslarning urug‘lar orqali tarqalish darajasi o‘simlikning naviga bog‘liq. Tajribarlarning keyingi qismida ToMV ning pomidor navlarining urug‘larining unuvchanligiga ta‘siri aniqlandi (1-jadval).

1-jadval

### ToMV ning pomidorni turli navlarining urug‘ unuvchanligi ta‘siri

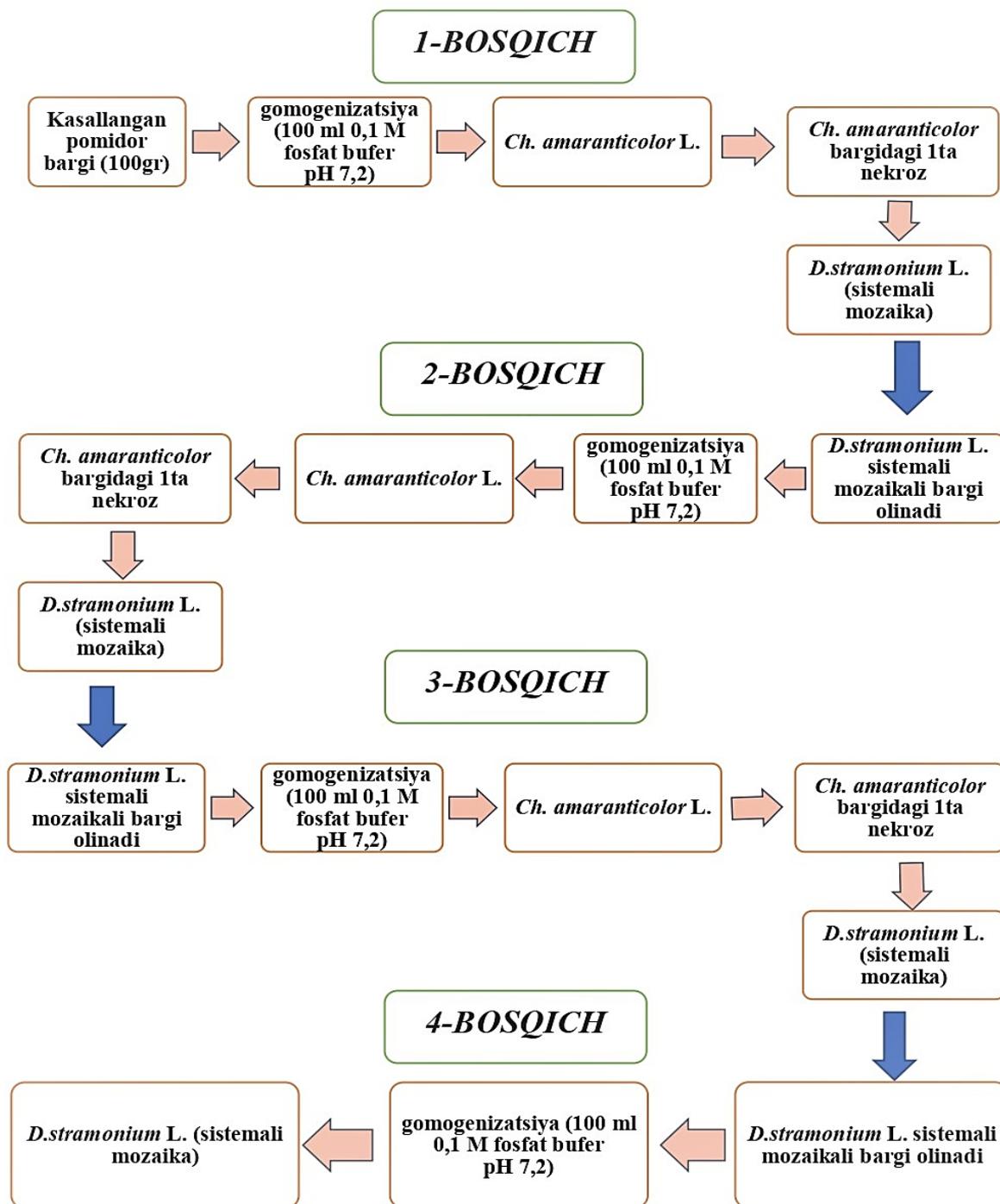
№	Navlar nomi	Ungan urug‘lar miqdori, %		Unib chiqqan nishning uzunligi, Sm		Urug‘ning unuvchanlik kuchi*	
		nazorat	tajriba	nazorat	Tajriba	nazorat	tajriba
1	Yusupov	93,31±0,14	63,31±0,17	2,1±0,53	1,2±0,09	195,95±0,4	75,97±0,18
2	Yutuq	92,43±0,34	30,06±0,31	1,8±0,21	0,7±0,08	166,37±0,09	21,04±0,41
3	Ko‘rkam	90,12±0,19	51,01±0,27	2,3±0,64	1,2±0,11	207,27±0,19	61,21±0,21
4	Fazilat	91,07±0,31	64,13±0,34	1,1±0,09	0,6±0,03	100,17±0,27	38,47±0,3
5	Marvarid	93,33±0,14	53,41±0,09	1,9±0,81	0,7±0,05	177,32±0,15	37,38±0,37
6	Sulton	86,04±0,23	66,71±0,19	2,0±0,73	1,1±0,12	172,08±0,07	73,38±0,09
7	TMK	94,06±0,27	60,83±0,37	1,9±0,04	0,6±0,06	178,71±0,09	36,5±0,17
8	Rubin	86,71±0,51	36,72±0,11	2,2±0,76	0,7±0,6	190,76±0,31	25,71±0,22
9	Volgograd	95,36±0,4	68,33±0,07	1,8±0,7	1,3±0,08	171,65±0,29	88,83±0,32
10	Rozoviy	92,31±0,33	60,74±0,48	1,9±0,89	1,1±0,1	175,39±0,17	66,81±0,24

**Izoh:** Urug‘ning unuvchanlik kuchi quyidagicha hisoblandi

Urug‘ning unuvchanlik kuchi = unib chiqqan urug‘ miqdori (%) x unib chiqqan nishning o‘rtacha uzunligi

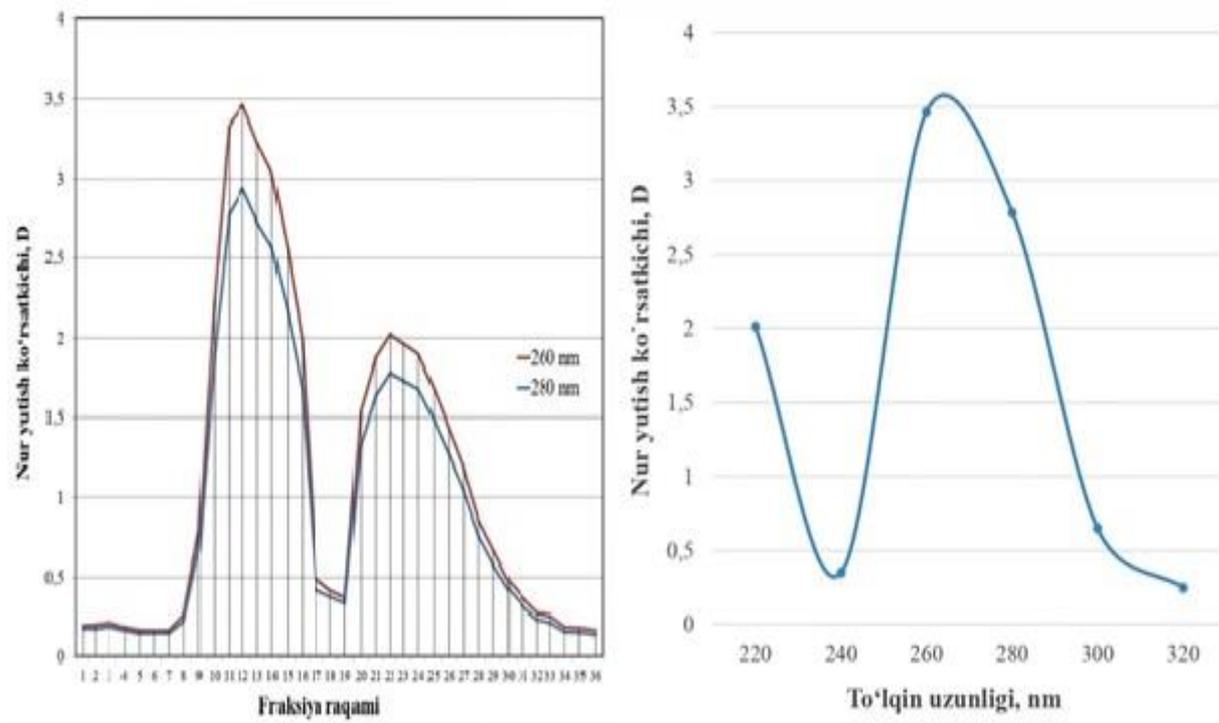
ToMV bilan kasallantirilgan pomidordan olingan, infeksiyalangan urug' unuvchanligi va urug'ning unuvchanlik kuchi tahlili "Sulton", "Volgograd", "Fazilat", "Yusupov", "Rozoviy", "TMK", "Marvarid", "Ko'rkam", "Rubin", "Yutuq" navlaridan eng past ko'rsatkich "Yutuq" hamda "Rubin" navlarida, ya'ni nazoratga nisbatan mos ravishda 3.07 va 2.36 marta kam ekanligi kuzatildi.

Tadqiqotlar davomida ToMV ni ajratish va biologik tozalash usuli ishlab chiqildi (4-rasm). Bunda *Chenopodiaceae* (sho'radoshlar) oilasiga mansub bo'lgan *Ch. amaranticolor* L. differensiator o'simlik, *Solanaceae* (ituzumdoshlar) oilasiga vakili *D.stramonium* L. ToMV ni to'plovchi o'simlik sifatida foydalanish mumkinligi aniqlandi.



4-rasm. Tomat mozaikasi virusini biologik tozalash

ToMV “TSK HW-75” geli yordamida gelfiltratsiya qilinganda virusning elyutsiyalanishi 9-17 fraksiyalarda amalga oshishi kuzatildi (5-rasm).



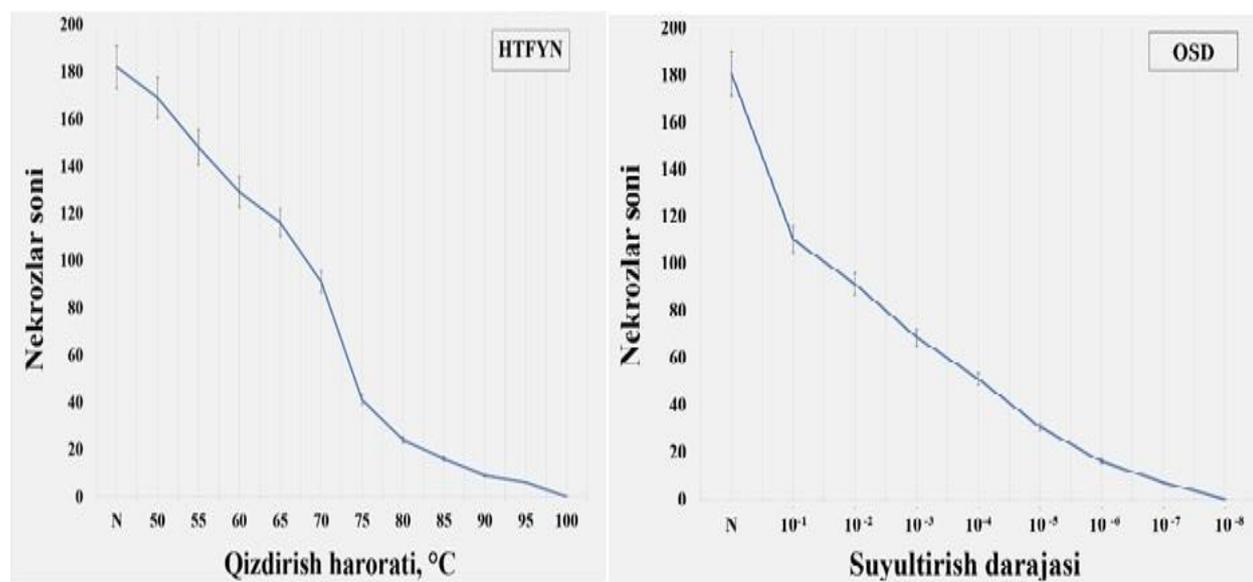
**5-rasm.** ToMV preparatini gelfiltratsiya usulida ajralgan fraksiyalarning UB nur yutish ko'rsatkichi

O'rganilgan virus kasalliklardan Tomat mozikasi virusi *Ch.amaranticolor* differensiator o'simliklar yordamida ajratib olindi, *D.stramonium* o'simligida virus konsentratsiyasi oshirildi va “TSK HW-75” geli yordamida gelfiltratsiya qilish orqali virusning toza gomogen preparati olindi, olingan toza virus preparatining spektrfotometrik tahlili ultrabinafsha nurini yutishining minimal ko'rsatkichi 245 nm ni, maksimal ko'rsatkichi 260 nm ni, ya'ni nukleoproteidlarga xos ekanligini, 260/280 nisbati esa 1,2 tashkil etganligi, ya'ni spiral simmetriya asosida tashkil topgan viruslarga xos ekanligini aniqlandi.

ToMV intikator o'simliklardagi kasallik alomatlari o'rganilganda, *Ch. quinoa* L., *Ch. amaranticolor* L., *Ch.album* L., *Datura stramonium* L., *Nicotiana tabacum* Samsun navi, *N.tabacum* Burley navi, *N.glutinosa* L., *Capsicum annum*, *Cucumis sativus* kabi o'simlik turlarida bir-biridan o'lchami jihatdan farqlanuvchi nekroz va mozaika alomatlarini keltirib chiqarishi kabi biologik xususiyatlari o'rganildi (2-jadval). ToMV ning 98°C haroratda o'z yuqumliligini saqlashi va o'simlik to'qimasida oxirgi suyulish darajasi  $10^{-7}$  gacha to'planishi kabi fizik xususiyatlari aniqlandi (6-rasm).

## ToMV ning indikaor o‘simliklardagi kasallik alomatlarini aniqlash

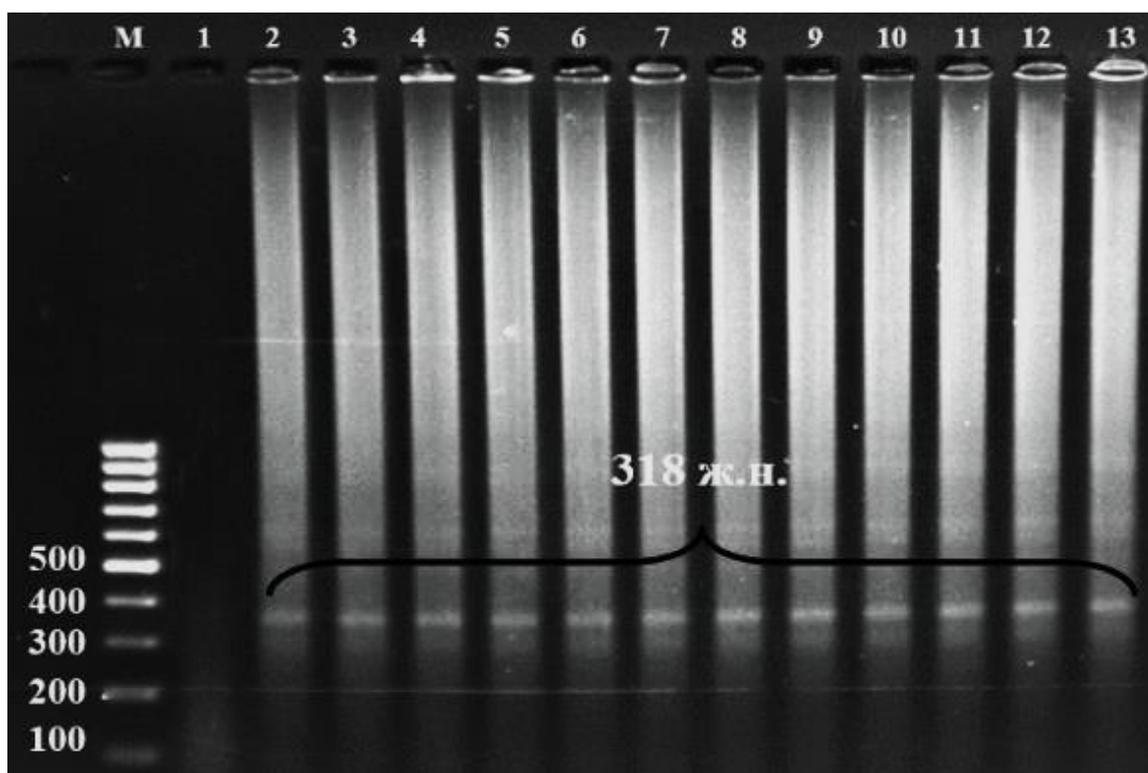
№	Indikator o‘simliklar oilasi va tur nomi	Kasallik alomatlari	Paydo bo‘lish muddati (kun)
	Sho‘radoshlar ( <i>Chenopodiaceae</i> )		
1	Qizil sho‘ra ( <i>Chenopodium amaranticolor L.</i> )	qizil nekroz	4-9
2	Sho‘ra ( <i>Chenopodium quinoa L.</i> )	sariq nekroz	5-10
3	Oq sho‘ra ( <i>Chenopodium album L.</i> )	sariq nekroz	5-10
	<b>Ituzumdoshlar (<i>Solanaceae</i>)</b>		
4	Bangidevona ( <i>Datura stramonium L.</i> )	qora nekrozlar keyinchalik sariq- yashil mozaika	4-5
6	Tamakining ( <i>Nicotiana tabacum L.</i> ) Samsun navi	yirik qoramtir nekroz	3
7	Tamakining ( <i>Nicotiana tabacum L.</i> ) Burley navi	yirik nekroz	3
8	Tamaki ( <i>Nicotiana glutinosa L.</i> )	nekroz (1,5-2 mm kattalikdagi)	2
9	Bulg‘or qalampiri ( <i>Capsicum annum L.</i> )	Mozaika	5
	<b>Dukkakdoshlar (<i>Fabaceae</i>)</b>		
10	Qorako‘z vigna ( <i>Vigna sinensis L.</i> )	-	-
	<b>Qovoqdoshlar (<i>Cucurbitaceae Juss</i>)</b>		
11	Bodring ( <i>Cucumis sativus L.</i> )	Mozaika	5-7



**6-rasm.** ToMV ni harorat ta‘sirida faolligini yo‘qotish nuqtasi (chapda) va ToMV ning oxirgi suyulish darajasi (o‘ngda).

ToMV ni molekulyar-genetik identifikatsiya qilishda ToMV turiga xos praymerlar dizayni NCBI ma‘lumotlar ba‘zasiga kiritilgan ToMV genomlarining ketma-ketligi asosida ishlab chiqildi. ToMV turiga xos praymerlarni dizayn qilishda “Multiple sequence alignment program (ClustalW)” va “Primer-3”

dasturlaridan foydalanildi. Praymerlarning spetsifikligi NCBI ma'lumotlar ba'zasi tomonidan taqdim etilgan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) dasturi yordamida onlayn ravishda tekshirildi hamda *Forward* praymer: 5'-CGAGARGGGCAACAAACAT\* -3` genomning 527-546 nukleotidlar ketma-ketligiga mos; *reverse* praymer esa: 5'-ACCTRTCTCCAYCTCTTTGG-3 genomning 825-843 nukleotidlar ketma-ketligiga mos qilib tanlab olindi. ToMV ning replikaza geniga tanlab olingan praymerlardan foydalanib yig'ilgan namunalar QT-PZR qilinganida virus genomining 318 j.n. segmentini amplifikatsiyaladi va ToMV molekulyar-genetik diagnostika qilindi (7-rasm).

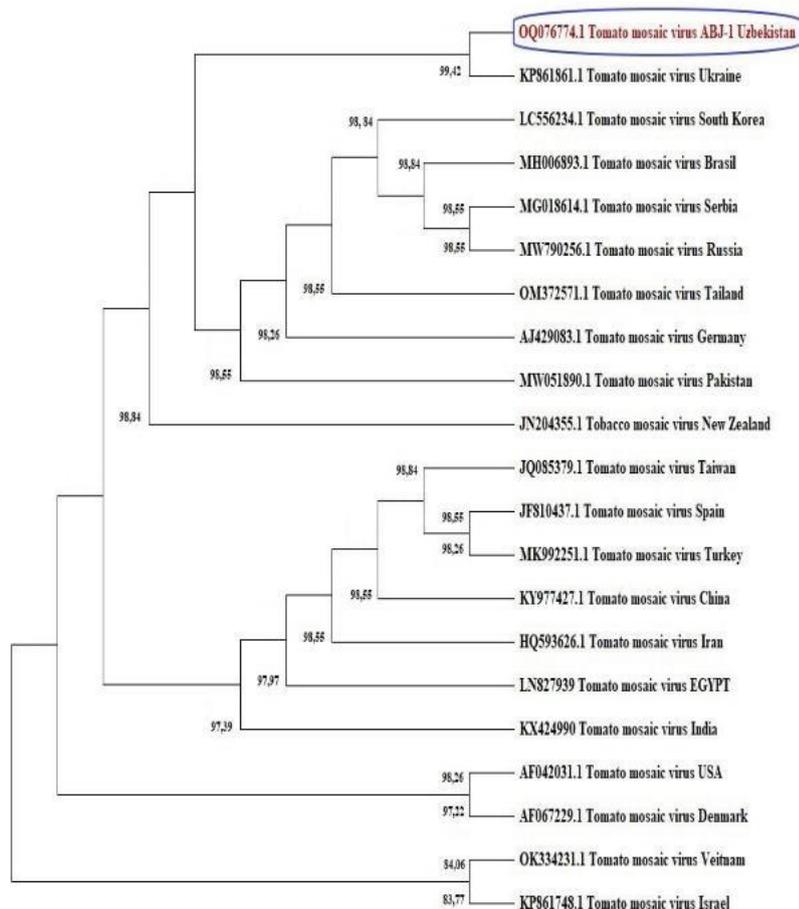


**7-rasm.** ToMVni QT-PZR usuli yordamida diagnostika qilish

M-1000 bp DNA ladder Plus. 1-sog'lom pomidordan olingan namuna, 2-“Yusupov” navi; 3-“Sulton” navi; 4-“Volgograd” navi; 5-“Bo‘ron” navi; 6-“Pink paradise” navi; 7-“Zakovat” navi; 8-“TMK” navi; 9-“Marvarid” navi; 10-“Rozoviy” navi; 11-“Faxriy” navi; 12-“Surxon-142” navi; 13-“Ofarin” navi;

O‘zbekiston iqlim sharoitida tarqalgan ToMV izolyati *CP* geni asosida identifikatsiya qilindi va ushbu virusning ilk marotaba ajratilgan “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” izolyati sifatida Xalqaro – GeneBank NCBI bazasiga OQ076774.1 raqam bilan joylandi hamda nukleotidlar ketma-ketligi asosida bioinformatik tahlil qilindi. Bioinformatik tahlil natijalari MEGA11 dasturi yordamida “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” izolyatining nukleotidlar ketma-ketligi filogenetik shajarasi tuzildi (8-rasm).

\* **Izoh:** IUPAC nomenklaturasiga ko‘ra S=C yoki G; V=A, C yoki G; Y=C yoki T; R=A yoki G

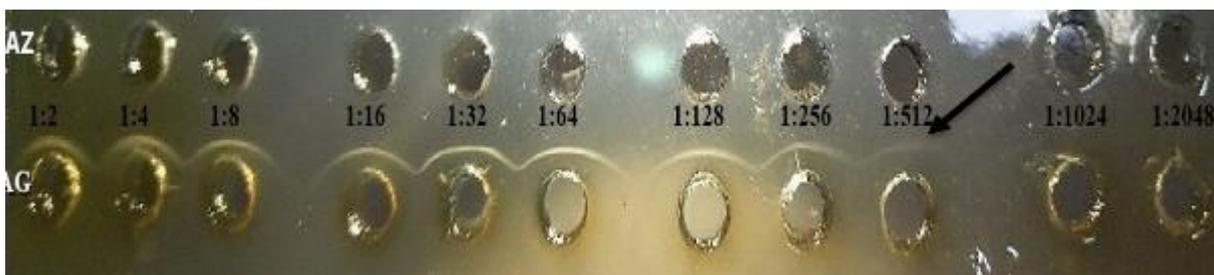


**8-rasm.** ToMV izolyatlari uchun Neighbor-joining (NJ) usulidan foydalangan holda CP gen regionini asosida tuzilgan filogenetik daraxt

O‘zbekistondan ajratilgan ToMV ABJ-1 izolyati nukleotidlar ketma-ketligi ma’lumotlar bazasi bilan solishtirganda BLASTN tahlili natijasi shuni ko‘rsatdiki, bu izolyat genetik jihatdan boshqa izolyatlarga 83,77-99,42% o‘xshash ekanligi kuzatildi. “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” izolyati Ukrainadan ajratilgan “Ukr3” (KP861861,1) izolyati bilan eng yuqori genetik o‘xshashlikni ko‘rsatdi - 99,42%, eng past o‘xshashlik darajasi esa Isroilning 6742 (KP861748) izolyati bilan ya’ni, 83,77% ekanligi qayd etildi.

Malakatimizdan ajratilgan ToMV ABJ-1 izolyatining CP gen regionini nukleotidlar ketma-ketligi GenBankdan olingan 20 ta ToMV izolyatlari bilan solishtirildi. 20 xil gomologik sekvens yordamida tuzilgan filogenetik daraxt natijasiga ko‘ra, ToMV ABJ-1 izolyati quyidagi 9 ta: KP861861.1 (Ukraina), LC556234.1 (Janubiy Koreya), MH006893.1 (Braziliya), MG018614.1 (Serbiya), MW790256.1 (Rossiya), OM372571.1 (Tailand), AJ429083.1 (Germaniya), MW051890.1 (Pokiston), JN204355.1 (Yangi Zelandiya) izolyatlari bilan bitta klasterda joylashganligi kuzatildi.

Toza virus preparati asosida virusga spetsifik AZ tayyorlandi, uning titri IID usuli yordamida aniqlanganda 1:128 ni, reimmunizatsiyadan keyin esa 1:512 ekanligini aniqlandi (9-rasm).

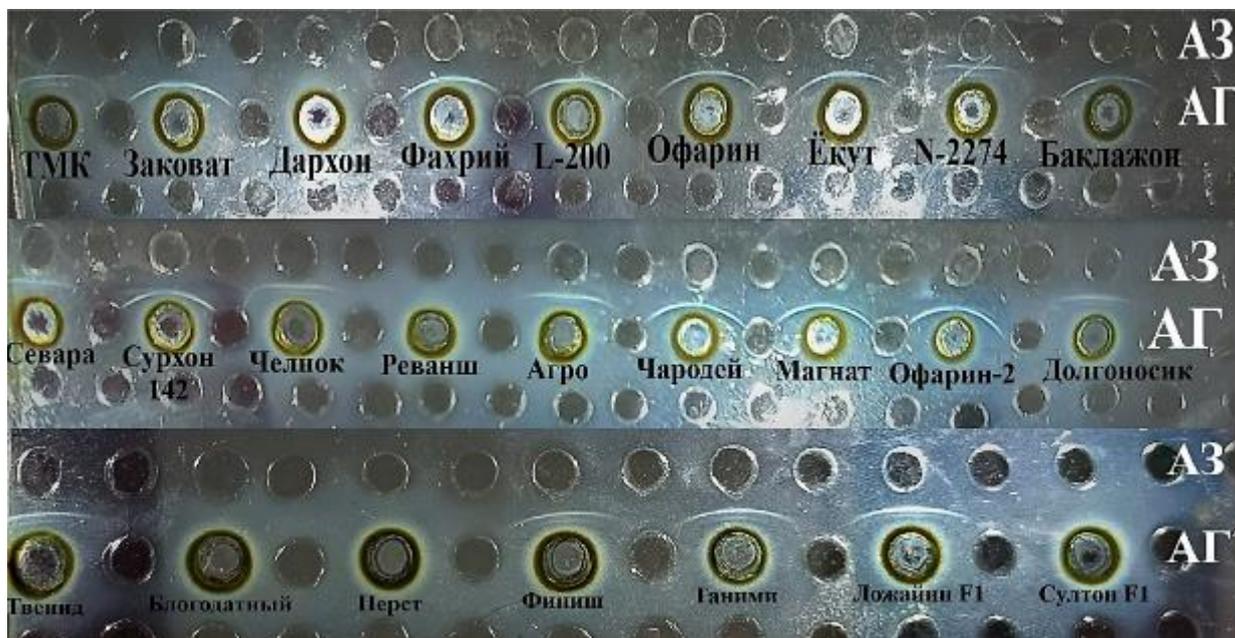


**9-rasm.** Geldagi ikkiyoqlama immunodiffuziya reaksiyasi natijalari.  
**AZ**-antizardob; **AG**-antigen (virus namunasi)

Tayyorlangan yuqori titrli zardob pomidorning turli nav-namunalarida ToMV ni diagnostika qilishda samarali foydalanildi.

Dissertatsiyaning «**Pomidor o‘simligini viruslardan himoyalash choralari**» deb nomlangan to‘rtinchi bobida pomidor o‘simligini turli nav va namunalarini ToMV infeksiyasiga chidamlilik darajasi, pomidor urug‘ida saqlanuvchi ToMV ni termoterapiya usulida zararsizlantirish hamda ToMV ga biologik va kimyoviy preparatlarning antivirus ta‘sirini aniqlash bo‘yicha olingan tadqiqot natijalari bayon etilgan.

Sabzavot poliz ekinlari va kartoshkachilik ilmiy tadqiqot instituti Samarqand ilmiy tajriba stansiyasi “Sabzavot-poliz ekinlari seleksiyasi va urug‘chiligi” laboratoriyasida ekib ko‘paytirilayotgan pomidorning 25 xil nav va duragaylarining ToMV ga chidamliligi indikator o‘simliklar hamda IID usullari yordamida aniqlandi (10-rasm).

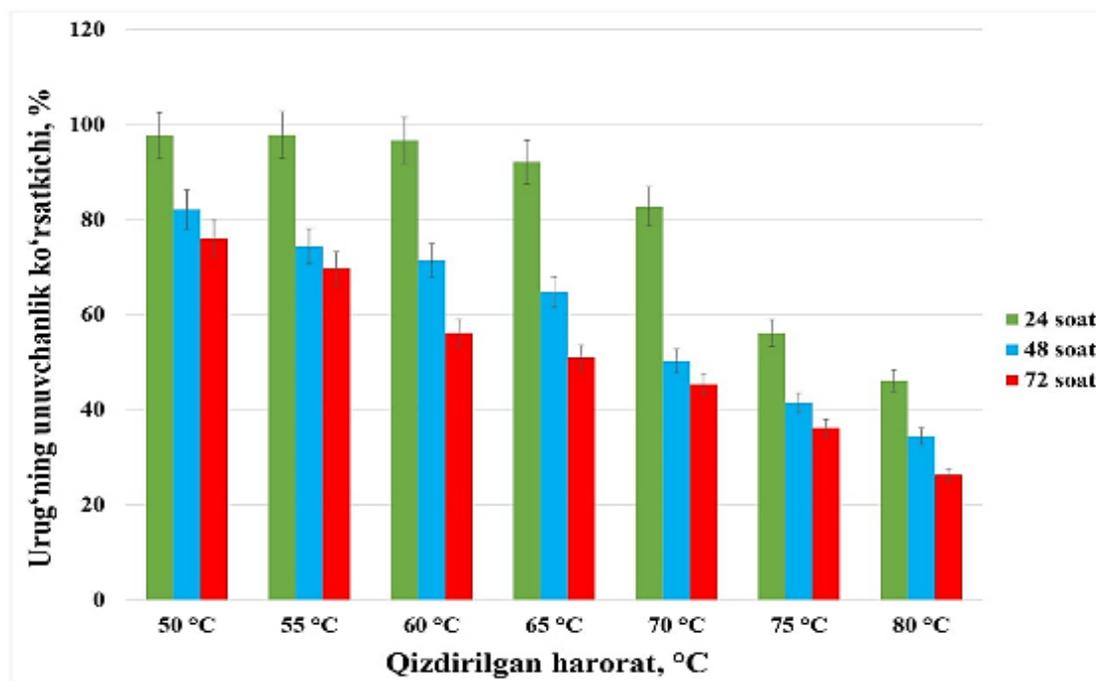


**10-rasm.** Pomidorning turli nav va duragaylarini ToMV ga chidamliligini IID usulida baholash

Antizardobdagi antitanachalar va virus antigeni bilan kompleks hosil qilib, cho‘kmaga tushishi natijasida hosil qilgan pretsipitatsiya chiziqlariga va ularning intensivligiga asosan tekshirilgan pomidor o‘simligining 25 xil nav va duragaylari namunalaridan Darxon, Revansh, Blogodatniy, Perst, Sul'ton F<sub>1</sub> immun, TMK–22,

Sevara, Agro, Tvenid, Finish, Tanimi, Lojayin F<sub>1</sub>, N-2274, Chelnok, Dolgnosik chidamli va Zakovat, Faxriy, Magnat, L-200, Ofarin, Yoqut, Baqlajan, Surxon 142, Charodey, Ofarin-2 ToMV ga chidamsiz ekanligi aniqlandi.

Olib borilgan ilmiy tadqiqotlar natijasida ToMV bilan zararlangan pomidor urug‘laridagi virus infeksiyasini termoterapiya bilan zararsizlantirishda eng maqbul harorat va vaqt optimumi aniqlandi (11-rasm).



**11-rasm.** Turli haroratda qizdirilgan pomidor urug‘larining unuvchanlik ko‘rsatkichi

Olingan natijalar 65°C haroratda 24 soat davomida o‘tkazilgan termoterapiya urug‘ po‘stidagi ToMV ni inaktivatsiya qilishda samarali ekanligini va urug‘ning fiziologik sifatiga kamroq zarar yetkazishini ko‘rsatdi.

Virusga qarshi samarali kurash choralari ishlab chiqish maqsadida “Mikrozim-2”, “Bioazot” kabi biopreparatlarning, “Kuprumxit” va “Farmayod” kimyoviy preparatlarning virus infeksiyasiga ta’siri o‘rganildi (3-jadval).

3-jadval

**Turli preparatlarning ToMV ga qarshi antiviral ta’siri**

№	Preparat nomi	<i>N. glutinosa</i> L. bargida hosil bo‘lgan nekrozlar soni			
		15 daqiqa	30 daqiqa	60 daqiqa	24 soat
1	Nazorat	197,3±0,02	198,8±0,09	194,6±0,08	196,2±0,07
2	"Kuprumxit"	125,1±0,03	123,3±0,07	121,8±0,04	120,01±0,03
3	"Farmayod"	134,4±0,04	124,4±0,04	123,1±0,07	122,8±0,06
4	"Mikorzim-2"	159,1 ±0,07	122,6±0,05	96,3±0,03	90,2±0,06
5	"Bioazot"	167,3±0,04	136,7±0,03	117,6±0,06	95,4±0,03

**Izoh:** natijalarda 6 ta bargda hosil bo‘lgan nekrozlarining o‘rtacha soni keltirilgan

“Mikrozim-2” biologik preparati qo‘llangan variantda nekrozlarning nazorat variantga nisbatan 4 barobarga, “Bioazot” biopreparati ta’sirida esa 3,7 barobarga, “Kuprumxit” va “Farmayod” ning 0.07 % eritmasi bilan ishlov berilgan variantlarda esa kasallik nekrotik dog‘larning 3,1 va 2,7 barobarga kamayganligini, bu preparatlar bilan ekish oldidan pomidor urug‘ini ishlov berish virusga qarshi samarali natija berishi aniqlandi.

## XULOSALAR

Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) o‘simligini kasallantiruvchi viruslarni ajratish, xususiyatlarini o‘rganish va ularning diagnostikasi mavzusi bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar natijalari asosida quyidagi xulosalar taqdim etildi:

1. Respublikamizning ayrim xududlarida yetishtirilayotgan pomidor maydonlari vizual va immunologik usullar yordamida monitoring qilinganida ToCV o‘rtacha  $23,33 \pm 0,13\%$ , TICV  $9,0 \pm 0,07\%$ , ToMV  $66,33 \pm 0,11\%$ , TSWV  $4,0 \pm 0,09\%$ , INSV  $3,0 \pm 0,14\%$  tarqalganligi, PepMV esa qayd etilmaganligi kuzatildi. Aniqlangan viruslar orasida Tomat mozaikasi virusi eng keng tarqalgani umumiy miqdorda 18-85% ni tashkil etganligi, *Tomato chlorosis virus* va *Tomato infectious chlorosis virus* O‘zbekiston sharoitida yetishtirilayotgan pomidor maydonlarida uchrashi ilk bor aniqlandi.

2. Kasallangan tomat o‘simligidan Tomat mozaikasi virusi *Ch.amaranticolor* differensiator o‘simliklar yordamida ajratib olindi, *D.stramonium* o‘simligida virus konsentratsiyasi oshirildi va “TSK HW-75” geli yordamida gelfiltratsiya usuli orqali virusning toza preparati olindi, olingan toza virus preparatining spektrofotometrik tahlili ultrabinafsha nurini yutishining minimal ko‘rsatkichi 245 nm ni, maksimal ko‘rsatkichi 260 nm ni, ya’ni nukleoproteidga xos ekanligini, 260/280 nisbati esa 1,2 ya’ni spiral simmetriya asosida tashkil topgan viruslarga xos ekanligi isbotlandi.

3. ToMV intikator o‘simliklardagi kasallik alomatlari o‘rganilganda, *Ch. quinoa* L., *Ch. amaranticolor* L., *Ch. album* L. turlarida bir-biridan o‘lchami jihatdan farqlanuvchi nekrozlarni keltirib chiqarishi kabi biologik xususiyatlari, 98°C o‘z yuqumliligini saqlashi va o‘simlik to‘qimasida OSD  $10^{-7}$  gacha to‘planishi kabi fizik xususiyatlari aniqlandi.

4. O‘zbekiston iqlim sharoitida tarqalgan ToMV izolyati CP geni asosida identifikatsiya qilindi va ushbu virusning ilk marotaba ajratilgan “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” izolyati Xalqaro – GeneBank NCBI bazasiga OQ076774.1 raqam bilan joylandi hamda bioinformatik tahlil qilinib, ABJ-1 izolyatining dunyoning turli mintaqalarida tarqalgan boshqa ToMV izolyatlari bilan evolyutsion munosabatlarini ko‘rsatuvchi filogenetik shajara daraxti tuzildi.

5. ToMV ning toza preparatini quyonning quloq venasidan inyeksiya qilib virusga spetsifik AZ olish samarali ekanligi aniqlandi. Olingan AZ ning titri IID usuli yordamida aniqlanganda 1:128 ni, reimmunizatsiyadan keyin esa 1:512 ekanligini ko‘rsatdi hamda tayyorlangan yuqori titrli zardob pomidorning turli navnamunalarida ToMV ni diagnostika qilishda samarali foydalanildi va Darxon,

Revansh, Blogodatniy, Perst, Sulton F<sub>1</sub> immun; TMK–22, Sevara, Agro, Tvenid, Finish, Tanimi, Lojayin F<sub>1</sub>, N-2274, Chelnok, Dolgnosik kabi virusga qisman chidamli navlar sifatida ToMV ga chidamli tomat navlarini yaratish uchun amaliy seleksiyaga tavsiya etildi.

6. Virusga qarshi samarali kurash choralari ishlab chiqish maqsadida “Mikrozim-2”, “Bioazot” kabi biopreparatlarning, “Kuprumxit” va “Farmayod” kimyoviy preparatlarning virus infeksiyasiga ta’siri o‘rganildi, natijada “Mikrozim-2” biologik preparati qo‘llangan variantda nekrozlarning nazorat variantga nisbatan 4 barobarga, “Bioazot” biopreparati ta’sirida esa 3,7 barobarga, “Kuprumxit” va “Farmayod” ning 0.07 % eritmasi bilan ishlov berilgan variantlarda esa kasallik nekrotik dog‘larning 3,1 va 2,7 barobarga kamayganligini, bu preparatlar bilan ekish oldidan pomidor urug‘ini ishlov berish hamda bu preparatlardan virus kasalligiga qarshi kurashda foydalanish tavsiya qilinadi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ  
УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ ИНСТИТУТЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И  
ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИИ НАЦИОНАЛЬНОГО  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО УНИВЕРСИТЕТА «ТИИИМСХ»**  

---

**ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ  
РАСТЕНИЙ**

**АХМАДАЛИЕВ БОБУРБЕК ЖАХОНГИР УГЛИ**

**ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСОВ, ПОРАЖАЮЩИХ РАСТЕНИЯ ТОМАТА  
(*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.), ИЗУЧЕНИЕ ИХ СВОЙСТВ И  
ДИАГНОСТИКА**

**03.00.04 – Микробиология и вирусология**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО  
БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшая аттестационная комиссия при Министерстве Высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером B2023.1.PhD/B861.

Диссертация выполнена в Институте Генетики и экспериментальной биологии растений.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, английский, русский (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета ([www.tiame.uz](http://www.tiame.uz)) и Информационного-образовательном портале «Ziyonet» ([www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz)).

**Научные руководители:**

**Кадилова Зарифа Носировна**

кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник

**Файзиев Вохид Бахрамович**

доктор биологических наук, проф.

**Официальные оппоненты:**

**Хусанов Тохир Суннатович**

доктора философии (PhD), старший  
научный сотрудник

**Ведущая организации:**

Гулистанский государственный  
университет

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании Научного совета DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 при Институте фундаментальных и прикладных исследований Национального исследовательного университета «ТИИИМСХ». (Адрес: 100000, Узбекистан, г.Ташкент, ул. Кори Ниязов, дом 39. Тел.: (+99871) 237-19-31; факс: (+99871) 237-38-79; e-mail: [ifar@tiame.uz](mailto:ifar@tiame.uz))

С диссертацией можно ознакомиться в Институте фундаментальных и прикладных исследований Национального исследовательного университета «ТИИИМСХ» (регистрационный номер \_\_\_\_\_). (Адрес: 100000, Узбекистан, г.Ташкент, ул. Кори Ниязов, дом 39. Тел.: (+99871) 237-19-31; факс: (+99871) 237-38-79; e-mail: [ifar@tiame.uz](mailto:ifar@tiame.uz))

Автореферат диссертации разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

(Реестр протокола рассылки № \_\_\_\_\_ от « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.)

**Д.Р.Эгамбердиева**

Председатель Научного совета по  
присуждению учёных степеней, доктор  
сельскохозяйственных наук

**Ф.Б. Эшбоев**

Учёный секретарь научного совета по  
присуждению ученых степеней, PhD.

**Ф.Н. Кушанов**

Председатель научного семинара при научном  
совете по присуждению ученой степени, д.б.н.  
профессор

## **ВВЕДЕНИЕ (аннотация к диссертации доктора философии (PhD))**

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** Томат (*Solanum lycopersicum* L.) считается одной из наиболее распространенных и потребляемых человеком овощных культур в мире, которая богата многими витаминами, минералами и выращиваемая в открытом грунте и в теплицах. По данным ФАО (2020), в мире выращивается 177 млн тонн томатов в год. Большая часть урожая томатов, выращиваемых в мире, приходится на Китай (56 млн тонн/год), Индия (18 млн тонн/год), Турция (12,6 млн), Российская Федерация (3 млн тонн/год). Помидоры возделываются в Узбекистане на площади в 50 тысяч гектаров, объема производства составляет 2,6 млн тонн в год.

В настоящее время хранение и переработка плодов томатов, полученных за период вегетации томатов, а также обеспечение населения продуктами переработки томатов в течении всего года является важной задачей. Это возлагает на научных сотрудников задачу по выращиванию урожая без потерь, путем защиты от различных вредителей и патогенных организмов, а также по организации его качественного хранения и переработки.

Большинство культур, выращиваемых во всем мире в качестве пищевых, кормовых, технических и декоративных растений, поражаются фитопатогенными вирусами, которые значительно снижают урожайность и ухудшают качество сельскохозяйственной продукции. За последнее десять лет почти половина вновь выявленных болезней растений, были определены как вирусные заболевания.

Вирусные заболевания являются основным лимитирующим фактором при выращивании томатов и других сельскохозяйственных культур. Проблема минимизации риска вирусных инфекций растений всегда привлекала внимание ученых, ведь вирусные заболевания не только вызывают потерю значительной части урожая, но и вызывают развитие болезней, которые не поддаются лечению. Внедрение новых методов сельского хозяйства, глобальное потепление и распространение векторов (насекомых–переносчиков вирусных инфекций), глобализация, частый обмен семенами и посадочным материалом между различными регионами мира приводит к увеличению вирусных заболеваний растений.

В нашей стране индустриализация, бурное развитие промышленного производства и широкое применение химических препаратов в сельском хозяйстве приводят к сильным экологическим изменениям в агроценозах, в том числе к изменению видового состава и разнообразия фитопатогенных вирусов, а также оказывают прямое влияние на увеличение частоты возникновения их мутаций. А это приводит к появлению фитопатогенных видов и штаммов вирусов, а также к повышению агрессивности существующих видов. Изучение изменения динамики вирусной популяции овощных культур позволяет создавать вирусостойчивые сорта или генетически модифицированные растения, разрабатывать и внедрять меры по борьбе с вирусными заболеваниями, снижать биоэкологический риск,

обеспечивать рентабельность производства, национальную продовольственную стратегию и биологическую безопасность.

В нашей стране проводятся и внедряются в сельскохозяйственную практику конструктивные научные работы по защите фруктовых, овощных и бахчевых культур, декоративных и других растений от ряда вредителей и патогенных организмов. Проведен ряд научно-исследовательских работ по выявлению видового состава патогенных вирусов, вызывающих заболевания растений, и разработке мер по борьбе с ними, и достигнуты определенные результаты.

В Стратегии развития Нового Узбекистана<sup>3</sup> намечены задачи по расширению научно-исследовательских работ по созданию и внедрению в производство новых высокоурожайных устойчивых к болезням и вредителям приспособленных к разным почвенно-климатическим и экологическим условиям селекционных сортов сельскохозяйственных культур. Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Постановлении Президента Республики Узбекистан, от 25.11.2020 г. № ПП-4899 «О комплексных мерах по развитию биотехнологии и совершенствованию системы биологической безопасности страны» и других нормативно-правовых документах, относящихся к данной сфере.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики:** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики - V «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и защита окружающей среды».

**Степень изученности проблемы.** Впервые вирус мозаики томата в растении томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) был выявлен (G.P.Clinton, 1909; Westerdijk, 1910) в Нидерландах. Из-за его близкого серологического сходства с вирусом табачной мозаики (ВТМ), часто рассматривался как “штамм ВТМ” (Van Regenmortel, 1975, 1981; Van De Walle va Siegel, 1976; Dawson и другие, 1979; Kukla и другие, 1979; Fraser и Loughlin, 1980; Fraser и другие, 1980; Burgyan и Gaborjanyı, 1984). Поскольку вирус табачной мозаики и вирус мозаики томатов (ВМТо) можно легко отличить по растениям-хозяевам, и различиям белкового состава, ВМТо был определен как отдельный вид вируса (Harrison et al., 1971; Феннер, 1976; Hollings, Xuttinga, 1976; Gibbs, 1977). Рядом ученых проводились научные исследования по изучению биологии, строения вирусов поражающих томаты, характеристики их генома, а также их влиянию на физиологию растений (N.B.Hao, 2003; N.V. Dinh, 2005; N.T. Xuyen, 2005; S.Kumar, 2011; S.S.Hashemi, 2014; Jones, 2014; K.Fillmer, 2015; E.F.Olive, 2019; J.N.Castillo, 2019; S.Davino, 2020).

Учеными из стран Содружества Независимых Государств (СНГ) (К.С.Сухов, 1965; А.Е.Проценко, 1966; Р.В.Алексеев, 1975; Ю.И.Власов,

<sup>3</sup> Постановление Президента Республики Узбекистан ПФ-60 от 28 января 2022 года «О стратегии развития нового Узбекистана на 2022-2026 годы» // Электронный источник: lex.uz/docs/5841063.

1961; Э.И.Ларина, 1982; С.М.Амбросова, 1994; А.К.Ахатов, 2002; С.Н.Чирков, 2009; Д.З.Богоутдинов, 2012; Л.Н.Самсонова, 2018; Т.С.Фоминых, 2000, 2019) и рядом других ученых проводились научные исследования в этом направлении.

В нашей стране рядом ученых (Ю.И.Власов, 1982; А.Ҳ.Ваҳобов, 1964; В.Мирзаахмедов, 1964; М.З.Исамухамедов, 1969; Қ.С.Давронов, 1984; Ж.Юлдашев, 1991; З.Н.Дехқонова, 1992; У.М.Жураева, 1997; И.Т.Эргашев, 2007; З.Н.Қодирова, 2019; В.Б.Файзиев, 2011, 2020; Т.С.Хусанов, 2020) проведены исследования по выявлению вирусов растений, их характеристике и степени распространения.

Однако в нашей стране не проводилась молекулярно-генетическая диагностика ВМТо, поражающего томаты и другие сельскохозяйственные культуры. В нашей стране существует необходимость идентификации фитопатогенных вирусов, поражающих сельскохозяйственные культуры выращиваемые в открытом грунте и теплицах молекулярно-генетическими методами, изучения их биоэкологических, морфологических, генетических характеристик, и проводимые в этом направлении научные исследования имеют важное научно-практическое значение в процессе селекции сортов сельскохозяйственных культур устойчивых к вирусам.

**Связь темы диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена работа.** Диссертационное исследование выполнено в Самаркандской научно-опытной станции научно-исследовательского института овоще-бахчевых культур и картофеля в рамках прикладного проекта “ҚХ-А-ҚХ-2018-127” «Создание исходного материала для селекции новых сортов томата устойчивых к вирусным мозаичным болезням томата (*Tomato mosaic tobamovirus*) и новых сортов сладкого перуца устойчивых к белокрылке (*Acyrodidae Hemoptera*) в условиях Самаркандской области» (2018-2020 гг.), а также в Институте Генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз в рамках прикладного проекта “ИЗ-2020122512”- “Разработка иммунодиагностики вируса мозаики томата” (2021-2024).

**Целью исследования** является определение, выделение, изучение свойств и молекулярно-генетическая идентификация фитопатогенных вирусов, поражающих растения томата, а также поиск мер по защите растений от вирусных заболеваний.

#### **Задачи исследования:**

Проведение фитосанитарного мониторинга вирусных болезней растений томатов в некоторых регионах республики путем исследования симптомов, свойственных вирусным инфекциям, а также серологическими методами;

Выделение ВМТо, биологическая очистка и получение очищенного вирусного препарата;

Определение биологических и физико-химических свойств ВМТо;

Проведение молекулярно-генетической идентификации ВМТо методом ПЦР и секвенирования, биоинформатический анализ нуклеотидных

последовательностей ДНК фрагмента coat protein (CP) гена и построение молекулярной филогении.

Получение антисывороток поликлональные антител, специфичны к ВМТо, и их применение в диагностике данного вируса, а также в скрининге устойчивости различных сортов и линий томатов к ТоMV;

Определение эффективности действия химических и биологических препаратов против вируса ВМТо методом *in vitro*.

**Объектом исследования** являются изоляты ВМТо, распространенные в агроценозах республики и поражающие томаты а также другие растения.

**Предметом исследования** являются местные и зарубежные сорта, гибриды и линии помидоров, выращиваемых в различных регионах республики, различные индикаторные растения, использованные для накопления вируса в лабораторных условиях, а также породы кроликов «Альбинос» и «Шиншилла», использованных для получения специфичной антисыворотки против ВМТо.

**Методы исследования.** В исследовании были использованы методы фитовирусологии, такие как выделение и очистка фитовирусов, спектрофотометрия, метод индикаторных растений, метод иммунохроматографического анализа, двойной иммунодиффузии (ДИД) и молекулярно-генетические (выделение РНК, гель-электрофорез, ПЦР, секвенирование ДНК) а также биоинформатические методы.

**Научная новизна исследования** заключается в следующем:

Проведён фитосанитарный мониторинг посевов томатов, в некоторых регионах республики на наличие вирусных болезней ТоCV, ТоICV, ТоMV, ПерMV, TSWV, INSV с помощью экспресс-диагностики с использованием иммунострипов в полевых условиях, и при этом выявлено что ВМТо является распространенным вирусным заболеванием в данных регионах;

впервые в условиях Узбекистана на посевах томатов выявлены вирусы *Tomato chlorosis virus* и *Tomato infectious chlorosis virus*;

впервые в Узбекистане секвенирована нуклеотидная последовательность фрагмента гена белка оболочки вируса (coat protein (CP) gene) изолята ABJ-1 вируса ВМТо, распространённого в нашей республике, проведен филогенетический анализ фрагмента CP гена изолята “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” с изолятами из других регионов мира.

получен чистый препарат ВМТо с использованием геля «TSK HW-75» и усовершенствован метод приготовления вирусоспецифической антисыворотки, определены некоторые биологические и физико-химические свойства ВМТо;

получена антисыворотка поликлональны антител, специфичные к ТоMV, и данная антисыворотка применена в скрининге устойчивости различных сортов и линий томатов к ТоMV.

с помощью метода термотерапии определен оптимальный временной и температурный режим для обеззараживания семян от содержащихся внутри них вирусов ВМТо;

проведен сравнительный анализ для оценки эффективности действия химических и биологических препаратов в защите растений томатов против вируса ВМТо.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

определен уровень распространения вирусов TSWV, INSV, PepMV, ToCV, TICV, ToMV в некоторых регионах Узбекистана;

Нуклеотидная последовательность фрагмента *CP* гена изолята ВМТо зарегистрирована в международной базе данных GeneBank NCBI (Национальный центр биотехнологической информации США) под идентификационным номером [OQ076774.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclseq/00076774.1)

Разработана схема иммунизации кролика очищенным препаратом вируса ВМТо и получена антисыворотка с поликлональными антителами специфичными к данному вирусу;

Полученная антисыворотка была использована при диагностике ВМТо в Самаркандской научно-опытной станции научно-исследовательского института «Овощеводства, бахчевых культур и картофеля» и при оценке устойчивости к ВМТо сортов и гибридов томатов, из которых получают семенной материал;

Изучено противовирусное влияние химических препаратов "Купрумхит" и "Фармайод", а также биологических препаратов "Биоазот" и "Микрозим-2" против ВМТо-инфекции.

**Достоверность результатов исследования** подтверждается тем, что анализы проводились современными вирусологическими, биотехнологическими, молекулярно-генетическими методами, научные результаты были проанализированы с использованием современного статистического анализа с помощью программы "Statistica 6.0", а также биоинформатического анализа с использованием программ SnapGene, MEGA11, депонированием нуклеотидной последовательности исследованного изолята вируса в GeneBank NCBI, обсуждением результатов в республиканских и международных конференциях и опубликованием результатов исследований в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве Высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость результатов исследования заключается в определении видового состава вирусов вызывающих болезни томата в некоторых регионах республики с использованием современных высокочувствительных и экспресс-методов диагностики, при этом из пораженных растений томата выявлены следующие виды вирусов: ToICV, ToCV, ToMV, TSWV, INSV, среди них ВМТо определен как самый широко распространённый вирус, в получении чистого гомогенного препарата ВМТо из растения томата, пораженного смешанной инфекцией, в разработке схемы приготовления кроличьей антисыворотки, специфичной к гомогенному препарату ВМТо, а также научная значимость результатов исследования обосновывается

доказательством важности правильного выбора оптимального режима времени и температуры для обеззараживания хранящейся в семенах инфекции ВМТо.

Практическая значимость результатов исследования обосновывается тем, что результаты исследования могут быть использованы для оценки иммунитета, устойчивости и восприимчивости ВМТо у более чем 25 сортов и гибридов томатов с использованием метода двойной иммунодиффузии (ДИД) с антисывороткой содержащей поликлональные антитела, для ранней диагностики вирусосодержащих резерваторных растений в климатических условиях республики, доказательством эффективности использования биологических препаратов для профилактики ВМТо по сравнению с химическими препаратами, применением молекулярно генетических методов для идентификации ВМТо в условиях Узбекистана и депонированием нуклеотидной последовательности фрагмента гена *CP* изолята ВМТо в международной базе данных GeneBank NCBI под идентификационным номером [OQ076774.1](#) определением видовой специфичности изолятов вирусов, инфицирующих томаты в Узбекистане и сравнением нуклеотидных последовательностей данных штаммов со штаммами, встречающимися в других регионах мира.

**Внедрение результатов исследования.** На основе полученных результатов, выделению, изучению свойств вирусов томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) и их диагностике:

изолят вируса мозаики томата, распространенный в республике и поражающий помидоры и другие овощные культуры, был включён в генофонд коллекции уникального научного объекта “Коллекция фитопатогенных и других микроорганизмов” (справка Академии Наук Республики Узбекистан №4/1255-314 от 14 февраля 2023 года). В результате это позволило обогатить генофонд коллекции «Фитопатогенные и другие микроорганизмы» и сформировать электронную базу данных информационно-аналитической системы видового разнообразия вирусов;

Выделенный из пораженного ВМТо растения томата изолят под названием “*Tomato mosaic virus ABJ-1*” был зарегистрирован в базе данных Национальной коллекции фитопатогенных микроорганизмов Всемирного центра микроорганизмов (World Data Center for Microgramism (WDCM), под номером WDCM 1035 (протокол Института Генетики и экспериментальной биологии растений Академии Наук Республики Узбекистан от 9 февраля 2023 года и справка Академии Наук Республики Узбекистан №4/1255-314 от 14 февраля 2023 года). В результате это дало возможность использовать его глобально при исследовании изолятов вируса мозаики томата, распространенных в разных регионах мира;

Очищенный препарат ВМТо был использован при оценке противовирусного действия препарата “Купрумхит”, полученного в рамках прикладного проекта № КА-12-001 по теме «Разработка технологии получения полимерметаллокомплексов хитозана и его производных, их применение в профилактике и лечении заболеваний сельскохозяйственных

культур (вилт, корневая гниль и монилиоз)» (справка Академии Наук Республики Узбекистан №4/1255-351 от 21 февраля 2023 года). В результате это дало возможность рекомендовать в практику препарат “Купрумхит” в качестве противовирусного препарата против фитопатогенных вирусов;

Результаты молекулярно-генетической идентификации, основанной на нуклеотидной последовательности фрагмента гена *CP* изолята ВМТо, включены в базу данных NCBI, Национальный нуклеотидный архив Европы EMBL-EBI (Великобритания, Кембридж) и базу данных ДНК Японии (DDBJ) под номером OQ076774.1., в результате создана возможность сравнения данной нуклеотидной последовательности изолята ВМТо, распространенного на территории Узбекистана, со штаммами ВМТо, встречающимися на разных континентах мира.

**Апробация результатов исследования.** Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 10 республиканских научно-практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано всего 18 научных работ, из них 6 научных статей, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, в том числе 5 в республиканских и 1 в зарубежных журналах.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 112 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обоснована актуальность, востребованность диссертационной работы, приведена степень изученности проблемы, освещены материалы и методика исследований, а также сформулированы объект и предмет исследований, показано соответствие приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, изложены цель и задачи, научная новизна и практические результаты исследований, раскрыты теоретическая и практическая значимость результатов, приведены сведения о внедрении в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации названной **“Обзор научной литературы по вирусам, поражающим растения томата и их идентификации”** приведены классификация фитопатогенных вирусов, поражающих растения томата и другие овощные культуры, классические и современные методы определения фитопатогенных вирусов, распространение фитопатогенных вирусов в природе и пути передачи вирусных инфекций, антисыворотка, используемая для диагностики вирусов и её свойства, результаты анализа многочисленных

опубликованных статей о мерах защиты растений против фитопатогенных вирусов позволили сформировать основные цели и задачи данной работы.

Во второй главе диссертации названной **“Методы, используемые для идентификации и изучения свойств фитопатогенных вирусов”** широко описаны материалы и методы исследования, использованные в диссертационной работе. В методах исследования описаны сбор образцов с больных растений и определение степени их поражения, метод индикаторных растений, молекулярно-генетическая идентификация вирусов ПЦР-методом, секвенирующая реакция по методу Сэнгера, очистка ВМТо методом гельфильтрации, метод биологической очистки ВМТо, метод определения некоторых биологических и физико-химических свойств ВМТо, способ инъекции очищенного препарата ВМТо в организм кролика и получение антисыворотки, определение титра полученной антисыворотки с поликлональными антителами методом двойной иммунодиффузии (ДИД), метод определения влияния ВМТо на всхожесть семян томатов, а также метод определения противовирусного действия биологических и химических препаратов на очищенный препарат ВМТо.

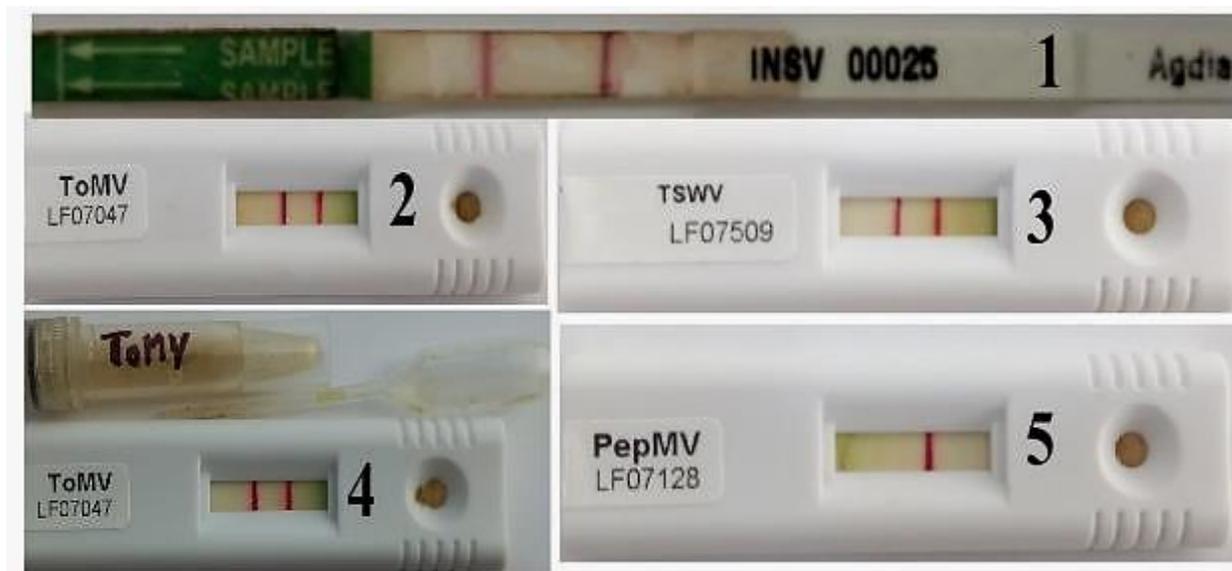
В третьей главе диссертации названной **“Выделение вируса мозаики томатов, получение его чистого препарата, молекулярно-генетическая идентификация и приготовление специфической сыворотки”**, представлены результаты исследования по мониторингу выращиваемых в некоторых регионах нашей страны растений томатов на основе симптомов вирусных заболеваний, выделению ВМТо, очистке и определению его биологических, физических и химических особенностей, диагностики ВМТо с использованием молекулярно-генетических методов и филогенетический анализ, получения кроличьей сыворотки на чистый препарат ВМТо.

При визуальном исследовании различных сортов и гибридов томатов, выращенных в Андижанской, Самаркандской и Ташкентской областях, были обнаружены различные вирусоспецифические симптомы заболевания, такие как мозаичность, деформация листьев, вирусоспецифические полосы на плодах, пятна, затвердение плодов, изменения в точке роста побега (конус нарастания), карликовость, а также из данных пораженных растений были отобраны образцы для проведения диагностики вирусологического исследования (рис.1).



**Рис.1.** Специфические симптомы вирусных заболеваний томатов. 1- скручивание листьев; 2. мозаичное сморщивание листьев, «чашеобразное скручивание»; 3- хлороз; 4- межсосудистый хлороз; 5 - некроз листьев; 6- шероховатость и мозаичность листьев; 7 пятнистость и камневидное затвердение плодов; 8. Пятнистость плодов.

В результате мониторинга для выявления симптома заболевания, специфичных для вирусов были использованы наборы иммунохроматографических кассет компании Lowea-info (Германия) и иммунохроматографические палочки фирмы Agdia (США). Для определения степени распространения ВМТо и других вирусов, поражающих томаты, а также другие овощные культуры в регионах проведения мониторинговых исследований были проведены иммунохроматографические анализы образцов в лабораторных условиях (рис.2).

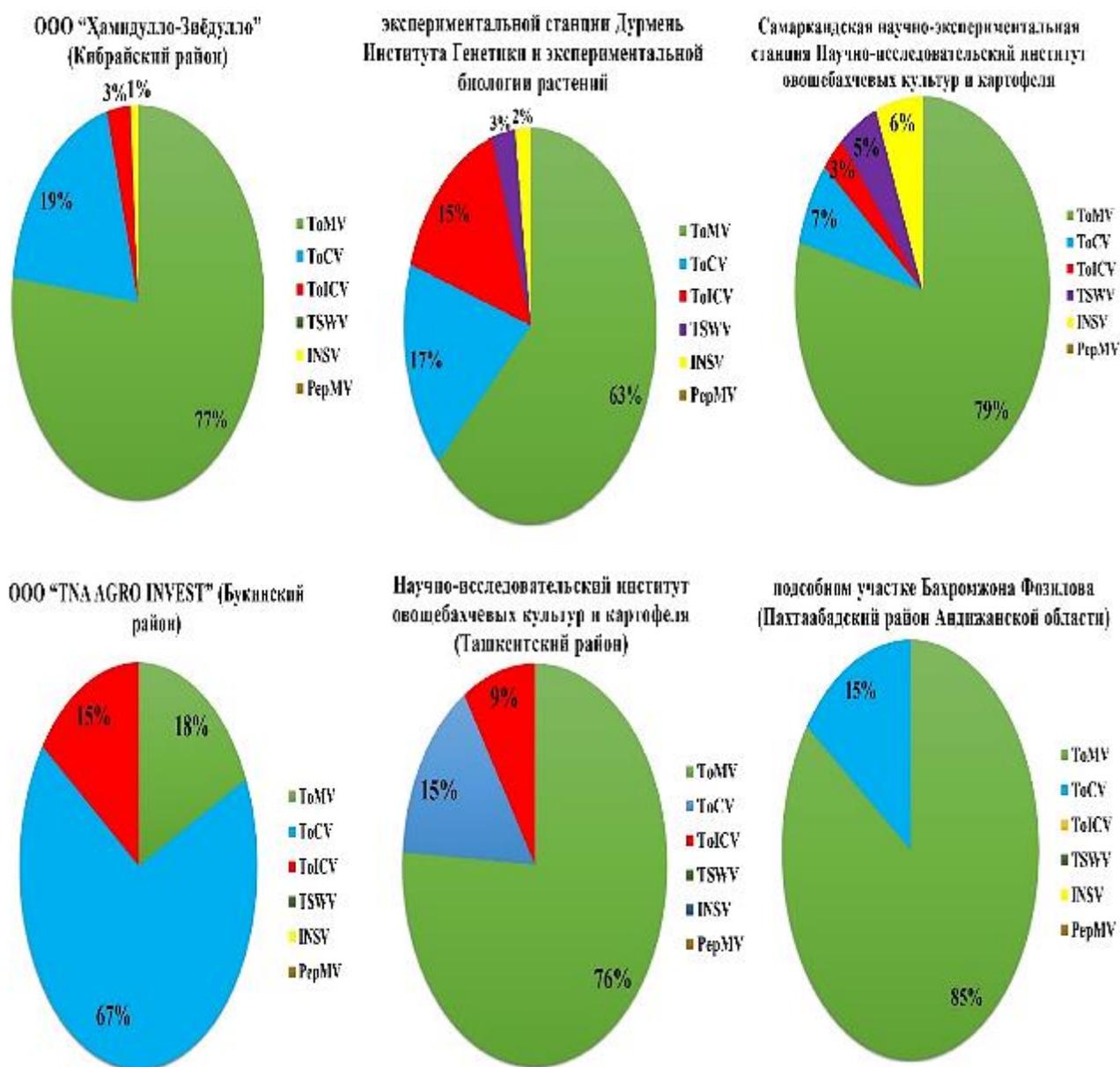


**Рис.2.** Определение фитопатогенных вирусов иммунохроматографическим способом. 1-*Impatiens necrotic spot virus* (INSV); 2-*Tomato mosaic virus* (ToMV) (Кибрай); 3-*Tomato spotted wilt virus* (TSWV); 4- *Tomato mosaic virus* (ToMV) (Пахтаабад); 5-*Pepino mosaic virus* (PepMV).  
Примечание: первая линия справа-контроль, 2-линия наличие вируса

В исследованных образцах было обнаружено заражение томата такими вирусами как ВМТо, TSWV, INSV, и отсутствие заражения вирусом PepMV (рис.2). В результате иммунохроматографического анализа выявлено, что на исследованных посевных площадях 12,5 гектарах широко распространён ВМТо (рис.3).

Результаты иммунохроматографического анализа показали, что в образцах, собранных из исследованных территорий, уровень заболеваемости был следующим: в ООО "Хамидулло-Зиёдулло" (Кибрайский район) - ВМТо 77%, ToCV 19%, TICV 3%, INSV 1%, при этом TSWV и PepMV не обнаружены, в экспериментальной станции Дурмень Института Генетики и экспериментальной биологии растений - ВМТо 63%, ToCV 17%, TICV 15%, TSWV 2%, INSV 3%, при этом PepMV не обнаружен, в Самаркандская

научно-экспериментальная станция Научно-исследовательский институт овощебахчевых культур и картофеля - ВМТо 79%, ТоСV 7%, ТlСV 3%, ТSWV 5%, INSV 6%; на полях ООО "ТНА АGRO INVEST" (Букинский район) - ВМТо 18%, ТОСV 67%, ТlСV 15%, при этом вирусы INSV, ТSWV и РерMV отсутствовали; на полях Научно-исследовательский институт овощебахчевых культур и картофеля (Ташкентский район) - ВМТо 76%, ТоСV 15%, ТlСV 9%, а вирусы INSV, ТSWV и РерMV – отсутствовали; на подсобном участке Бахромжона Фозилова (Пахтаабадский район Андижанской области) выявлены ВМТо 85%, ТоСV 15%, вирусы ТlСV, ТSWV и РерMV не выявлены (рис.3). Во всех исследованных площадях сельскохозяйственных посевов томата широко распространённым вирусом оказался ВМТо, поражаемости которого составила 18-85%.



**Рис.3.** Степень зараженности вирусами посевов томата на полях научно-исследовательских институтов и фермерских хозяйствах

Инфицированные вирусом семена растений являются основными источниками распространения вируса. Содержащийся в семенах вирус в течение длительного времени остается инфекционным, вирус влияет на вес семян и степень прорастания. Степень распространения вирусов семенами зависит от сорта растения. В последующей части экспериментов определено влияние ВМТо на прорастание семян томата. Анализ показателей всхожести и силы всхожести инфицированных семян, полученных из заражённых ВМТо сортов томатов “Султон”, “Волгоград”, “Фазилат”, “Юсупов”, “Розовый”, “ТМК”, “Марварид”, “Кўркам”, “Рубин”, “Ютук”, показал что сорта “Ютук” и “Рубин”, имели самые низкие данные показатели – в 3,07 и 2,36 раза меньше по сравнению с контролем (табл.1).

Таблица 1

**Влияние ВМТо на прорастание семян различных сортов томата**

№	Название сорта	Всхожесть семян (в %)		Средняя длина проростков, см		Сила всхожести семян*	
		контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
1	Юсупов	93,31±0,14	63,31±0,17	2,1±0,53	1,2±0,09	195,95±0,4	75,97±0,18
2	Ютук	92,43±0,34	30,06±0,31	1,8±0,21	0,7±0,08	166,37±0,09	21,04±0,41
3	Кўркам	90,12±0,19	51,01±0,27	2,3±0,64	1,2±0,11	207,27±0,19	61,21±0,21
4	Фазилат	91,07±0,31	64,13±0,34	1,1±0,09	0,6±0,03	100,17±0,27	38,47±0,3
5	Марварид	93,33±0,14	53,41±0,09	1,9±0,81	0,7±0,05	177,32±0,15	37,38±0,37
6	Султон	86,04±0,23	66,71±0,19	2,0±0,73	1,1±0,12	172,08±0,07	73,38±0,09
7	ТМК	94,06±0,27	60,83±0,37	1,9±0,04	0,6±0,06	178,71±0,09	36,5±0,17
8	Рубин	86,71±0,51	36,72±0,11	2,2±0,76	0,7±0,6	190,76±0,31	25,71±0,22
9	Волгоград	95,36±0,4	68,33±0,07	1,8±0,7	1,3±0,08	171,65±0,29	88,83±0,32
10	Розовый	92,31±0,33	60,74±0,48	1,9±0,89	1,1±0,1	175,39±0,17	66,81±0,24

**Примечание:** Сила всхожести рассчитывалась следующим образом

Сила всхожести семян = количество проросших семян (%) x средняя длина проростков

В ходе исследований был разработан метод выделения и биологической очистки ВМТо (рис.4). При этом, выявлено, что представитель семейства *Chenopodiaceae* (маревые) вид *Ch.amaranticolor L.*, дифференцирующие растения, а также представители семейства *Solanaceae* (паслёновые) вид *D.stramonium L.*, могут быть использованы в качестве накопителя ВМТо.

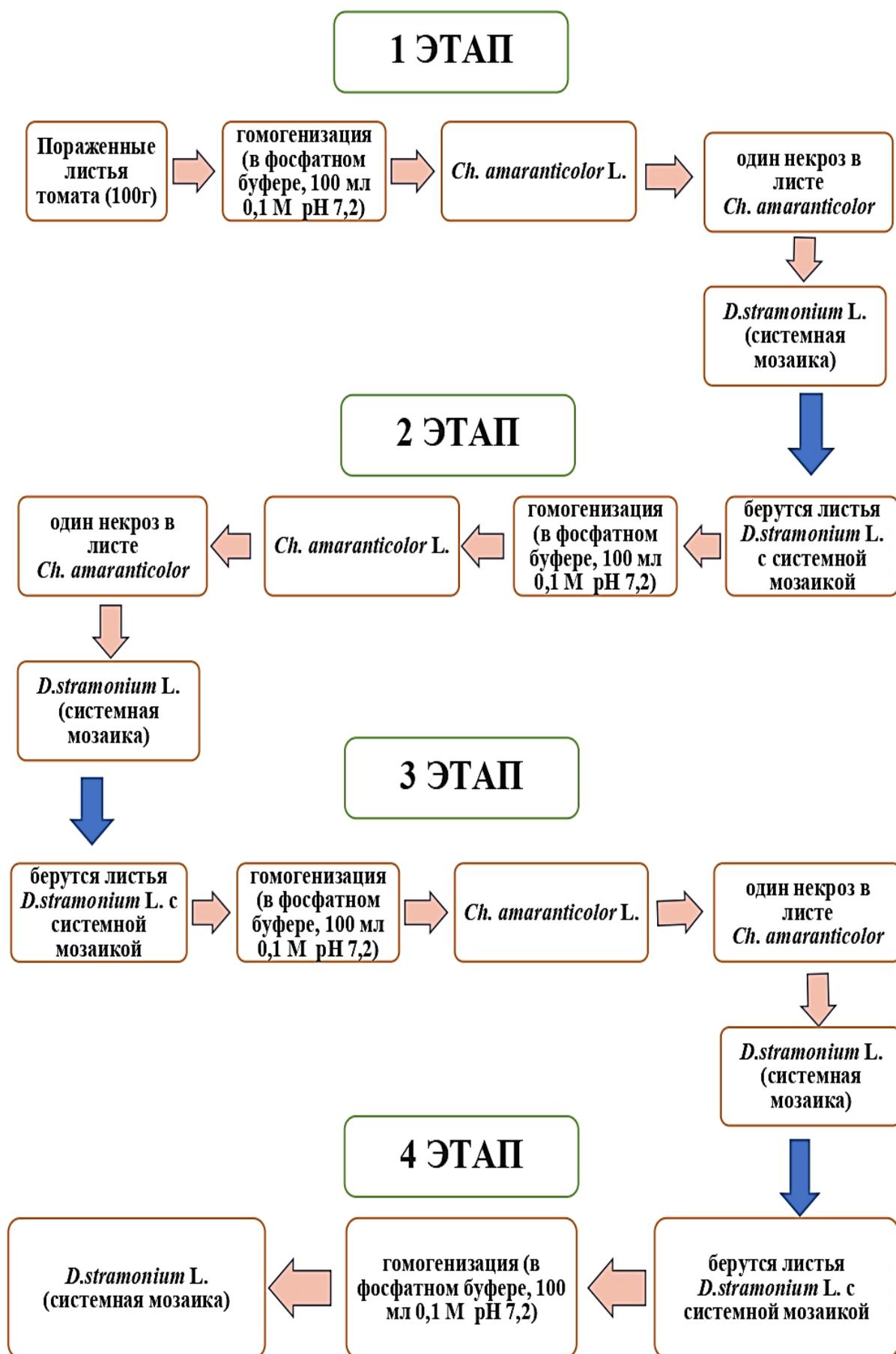
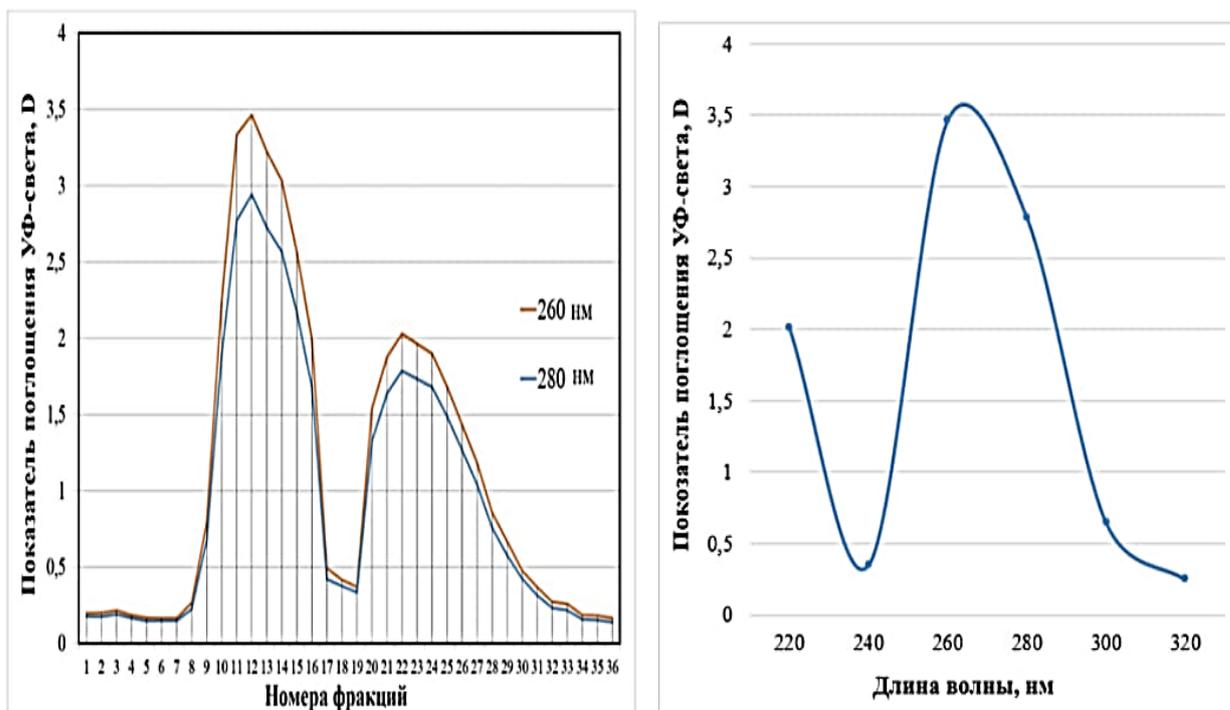


Рис.4. Биологическая очистка вируса томатной мозаики

При гельфильтрации вируса ВМТо с помощью геля "TSK HW-75" элюирование вируса наблюдалось в 9-17 фракциях (рис.5).



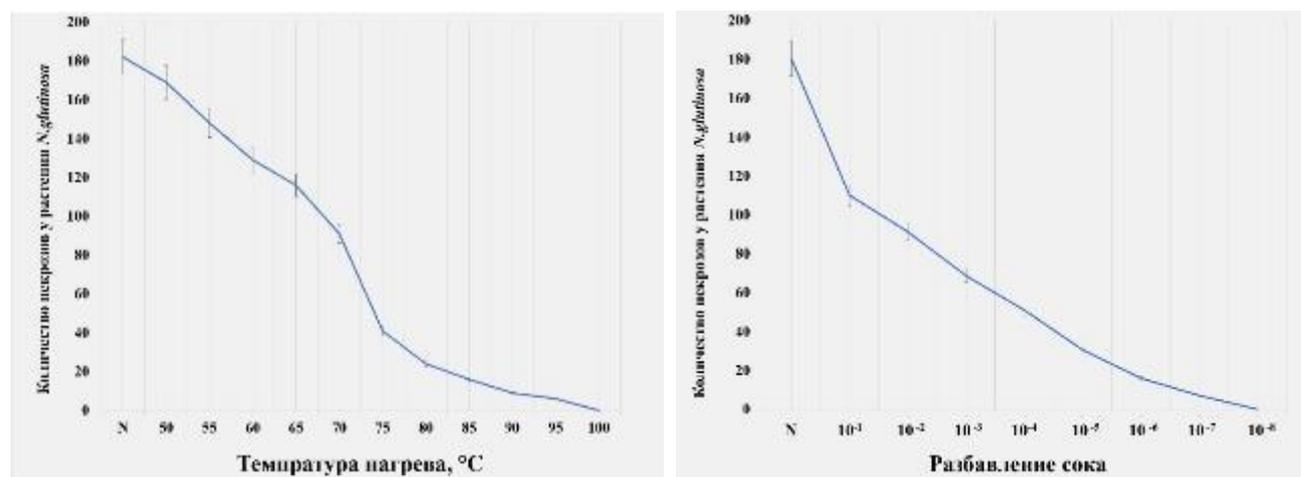
**Рис.5.** Показатели поглощения УФ-света фракций препарата ВМТо, выделенного методом гельфильтрации

Из исследованных пораженных вирусными заболеваниями растений ВМТо выделен с использованием растений-дифференциатора *Ch.amaranticolor*, затем осуществлено накопление вируса в тест-растении *D.stramonium*, и посредством гельфильтрации с использованием геля "TSK HW-75" был получен чистый гомогенный препарат вируса. Спектрофотометрический анализ полученного чистого вирусного препарата показал, что минимальное поглощение ультрафиолетового света составляло 245 нм, максимальное - 260 нм, то есть специфично для нуклеопротеида, а соотношение 260/280 составило 1.2, что характерно для вирусов.

При изучении симптомов заболевания ВМТо на индикаторных растениях, таких как *Ch. quinoa L.*, *Ch. amaranticolor L.*, *Ch.album L.*, *Datura stramonium L.*, *Nicotiana tabacum L.*, *Nicotiana glutinosa L.*, *Capsicum annum*, *Cucumis sativus* были изучены биологические свойства вируса, такие как различия в размерах некроза и симптомов мозаичности (табл.2). Выявлены физические свойства ВМТо, такие как точки тепловой инактивация температуре 98°C и предельного разведение вируса до  $10^{-7}$  в тканях растений (рис.6).

### Определение признаков заболевания ВМТо на индикаторных растений

№	Название семейства и видов растений индикаторов	признаки заболевания	Сроки появления признаков заболевания (дни)
	Маревые ( <i>Chenopodiaceae</i> )		
1	Марь красная ( <i>Chenopodium amaranticolor</i> L.)	красный некроз	4-9
2	Киноа ( <i>Chenopodium quinoa</i> L.)	желтый некроз	5-10
3	Марь белая ( <i>Chenopodium album</i> L.)	желтый некроз	5-10
	<b>Паслёновые (<i>Solanaceae</i>)</b>		
4	Дурман обыкновенный ( <i>Datura stramonium</i> L.)	черный некроз, а в последующем желто-зеленая мозаика	4-5
6	сорт табака Самсун ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.)	крупный черноватый некроз	3
7	Сорт табака Burley ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.)	крупный некроз	3
8	Табак клейкий ( <i>Nicotiana glutinosa</i> L.)	некроз (размером 1,5-2 мм)	2
9	Перец болгарский ( <i>Capsicum annuum</i> subsp. <i>grossum</i> )	мозаика	5
	<b>Бобовые (<i>Fabaceae</i>)</b>		
10	Коровий горох ( <i>Vigna sinensis</i> L.)	-	-
	<b>Тыквенные (<i>Cucurbitaceae</i> Juss)</b>		
11	Огурец ( <i>Cucumis sativus</i> L.)	мозаика	5-7

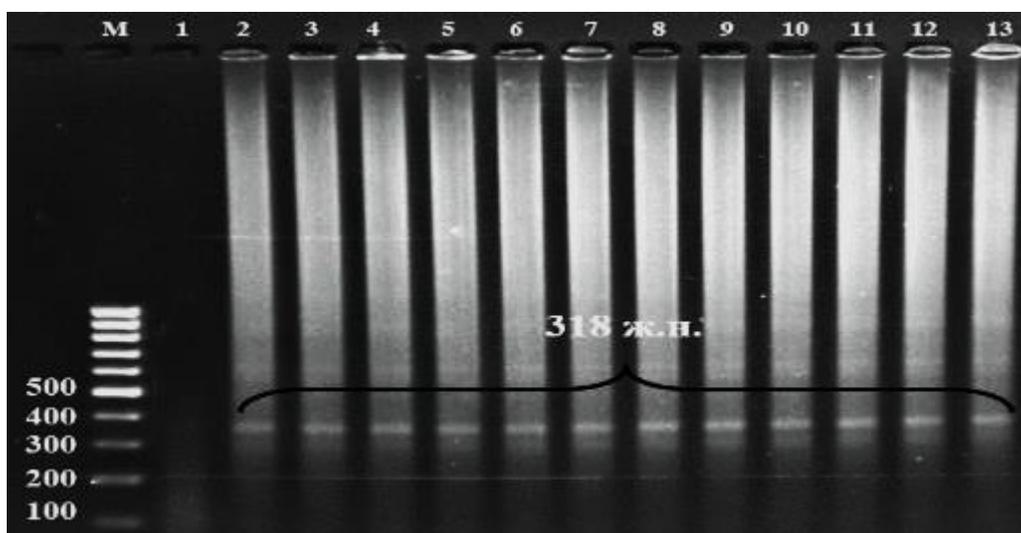


**Рис.6.** Точка тепловой инактивации (ТТИ) (а) и степень предельного разведения (б) ВМТо.

При молекулярно-генетической идентификации ВМТо видоспецифичные праймеры для ВМТо разрабатывались на основе последовательностей геномов ВМТо, включенных в базу данных NCBI. Дизайн видоспецифичных праймеров для ВМТо, был проведен с помощью

программы множественного выравнивания последовательностей (ClustalW) а также с использованием программы Primer-3. Специфичность праймеров проверяли в режиме онлайн с помощью программы Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), предоставленной в базе данных NCBI, и были выбраны следующие праймеры: Forward праймер: 5'-CGAGARGGGCAACAAACAT-3', соответствующий участку последовательности нуклеотидов 527-546 в геноме ВМТо а также Reverse праймер: 5'-ACSTRTCTCCAУСТСТТТGG--3', соответствующий участку последовательности нуклеотидов 825–843 в геноме ВМТо.

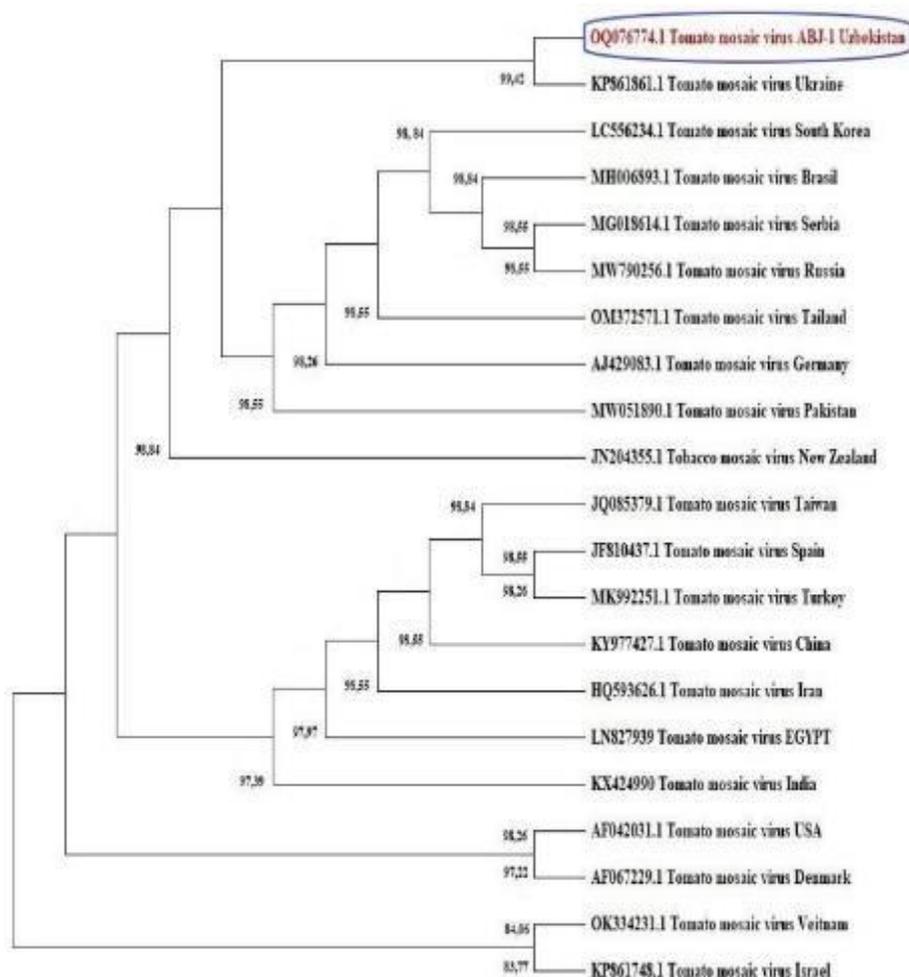
При ОТ-ПЦР на собранные образцы с использованием специфических праймеров к гену репликазы ВМТо, был амплифицирован сегмент 318 п.н. генома вируса и осуществлена молекулярно-генетическая идентификация вируса ВМТо (рис.7).



**Рис.7. Диагности ВМТо с помощью метода КТ-ПЦР**

М-1000 bp DNA ladder Plus. 1-здоровый растения томата, 2-сорт “Юсупов” 3-сорт “Султан”; 4-сорт “Волгоград”; 5-сорт “Буран; 6-сорт “Pink paradise”; 7-сорт “Заковат”; 8-сорт “ТМК”; 9-сорт “Марварид; 10-сорт “Розовый”; 11-сорт “Фахрий”; 12-сорт “Сурхон-142”; 13-сорт “Офарин”.

На основе гена СР проведена идентификация изолята ВМТо, выделенного в климатических условиях Узбекистана, и этот вирус внесён в международную базу GeneBank NCBI под номером [OQ076774.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclseq/OQ076774.1) в качестве впервые выделенного изолята “*Tomato mosaic virus* АВJ-1” в республике, а также проведен биоинформационный анализ на основе нуклеотидной последовательности. По результатам биоинформатического анализа с использованием программы MEGA11 было построено филогенетическое дерево нуклеотидных последовательностей изолята “*Tomato mosaic virus* АВJ-1” с другими изолятами распространенных в разных регионах мира (рис.8).



**Рис.8.** Филогенетическое дерево, построенное для участка *CP* гена с использованием метода ближайших соседей (Neighbor-joining (NJ)) для изолятов ВМТо

Результат BLASTN анализа изолята ВМТо АВJ-1 из Узбекистана в сравнении с базой данных нуклеотидных последовательностей показал, что этот изолят был генетически сходен с другими изолятам в пределах 83.77–99.42%. Данный изолят показал самое высокое генетическое сходство на 99.42% с украинским изолятом ukr3 (KP861861.1), в то время как самый низкий уровень сходства составил 83.77% с израильским изолятом 6742 (KP861748).

Нуклеотидную последовательность участка гена *CP* узбекского изолята АВJ-1 ВМТо сравнивали с 20 штаммами ToMV, взятыми из GenBank. Согласно филогенетическому дереву, созданному с использованием 20 различных гомологичных последовательностей изолятов, изолят АВJ-1 ToMV, кластеризовался с 9 изолятами: KP861861.1 (Украина), LC556234.1 (Южная Корея), MH006893.1 (Бразилия), MG018614.1 (Сербия), MW790256.1 (Россия), OM372571.1 (Таиланд), AJ429083.1 (Германия), MW051890.1 (Пакистан), JN204355.1 (Новая Зеландия).

На основе чистого вирусного препарата получена специфическая антисыворотка, титр которой определен методом ДИД, составил 1:128, а после реиммунизации - 1:512 (рис.9).

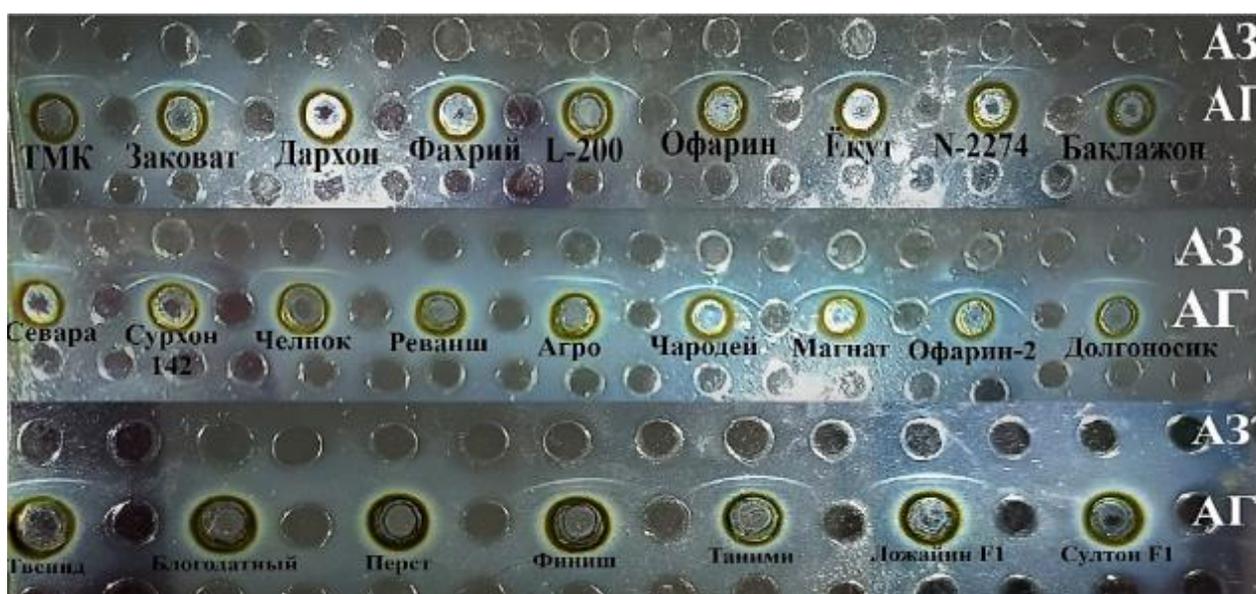


**Рисунок 9.** Результаты реакции двойной иммунодиффузии в геле  
АС – антисыворотка; АГ – антиген (образец вируса)

Приготовленная сыворотка с высоким титром была эффективно использована для диагностики ВМТо у различных сортов томата.

В четвертой главе диссертации «**Меры по защите растений томата от вирусов**» описываются результаты исследования полученные по определению степени устойчивости различных сортов и образцов растений томата к ВМТо, инактивации хранящейся в семенах томатов ВМТо методом термотерапии, а также противовирусного действия биологических и химических препаратов на ВМТо.

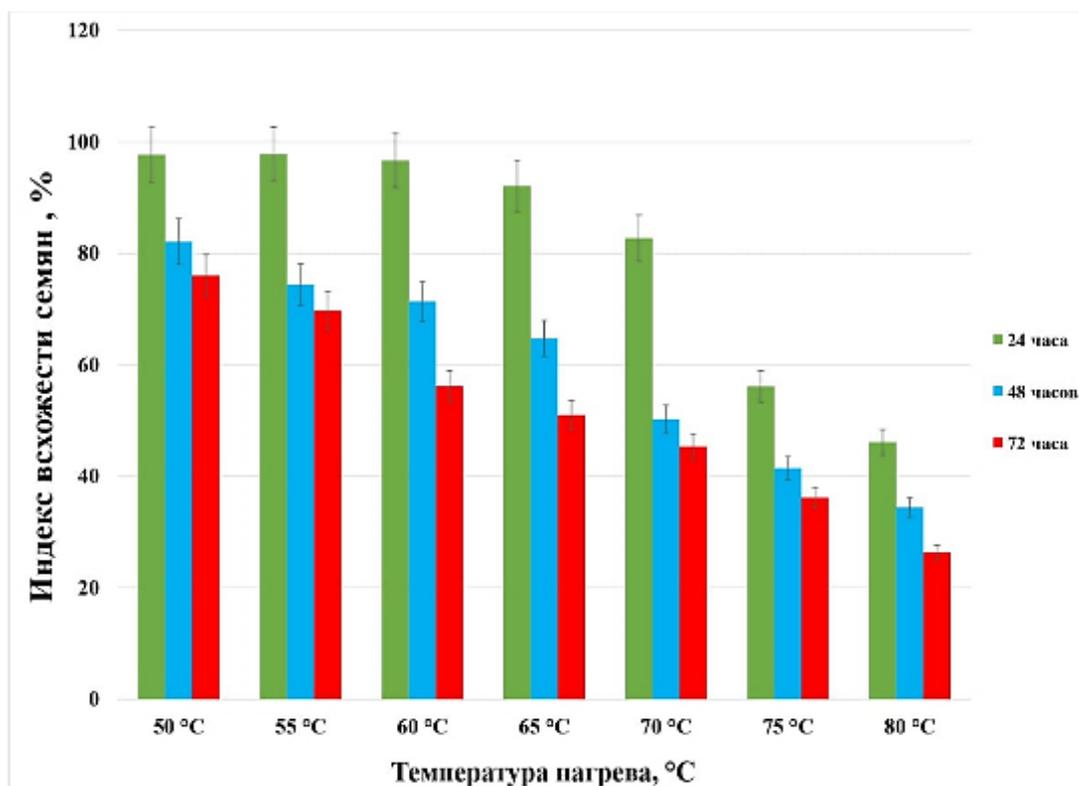
Устойчивость к ВМТо 25 различных сортов и гибридов томатов, выращенных путем посадки в лаборатории “Селекции и семеноводства овощно-бахчевых культур” Самаркандской научно-экспериментальной станции Научно-исследовательского института овощебахчевых культур и картофеля, определена методами ДИД с методом растений-индикаторов (рис.10).



**Рис.10.** Результаты оценки устойчивости различных сортов и гибридов томата к ВМТо методом ДИД. АС – антисыворотка; АГ – антиген (образец вируса)

Из 25 образцов растений томатов, скринированных на основании наличия линий преципитации и их интенсивности, образованных в результате формирования и осаждения комплекса антител с вирусным антигеном, 5 образцов оказались иммунными: Дархан, Реванш, Благодатный, Перст, Султон F<sub>1</sub>; у 10 образцов выявлена устойчивость к ВМТо: ТМК–22, Севара, Агро, Твенид, Финиш, Таними, Ложайин F<sub>1</sub>, N-2274, Челнок; а у 10 образцов выявлена восприимчивость к ВМТо: Заковат, Фахрий, Магнат, L-200, Офарин, Ёкут, Баклажан, Сурхон 142, Чародей, Офарин-2.

В результате научных экспериментов с помощью термотерапии была определена оптимальные температурные и временные режимы для инактивации вирусной инфекции в семенах томатов, инфицированных ВМТо (рис.11).



**Рис.11.** Индекс всхожести семян томатов, нагретых при разных температурах

Полученные результаты показали, что термотерапия, проводимая в течение 24 часов при температуре 65°C, была эффективна для инактивации ВМТо в семян и наносила меньший ущерб их физиологическим свойствам.

С целью разработки эффективных мер по борьбе с вирусом было изучено влияние биопрепаратов, таких как "Микрозим-2", "Биоазот", и химических препаратов "Купрумхит" и "Фармайод" на вирусную инфекцию (табл.3).

Таблица 3

### Антивирусное влияние различных препаратов на инфекционность ВМТо

№	Название препарата	Количество сформированных некрозов в листьях <i>N. glutinosa L.</i>			
		15 минут	30 минут	60 минут	24 часа
1	Контроль	197,3±0,02	198,8±0,09	194,6±0,08	196,2±0,07
2	"Купрумхит"	125,1±0,03	123,3±0,07	121,8±0,04	120,01±0,03
3	"Фармайод"	134,4±0,04	124,4±0,04	123,1±0,07	122,8±0,06
4	"Микрозим-2"	159,1 ±0,07	122,6±0,05	96,3±0,03	90,2±0,06
5	"Биоазот"	167,3±0,04	136,7±0,03	117,6±0,06	95,4±0,03

**Примечание:** в результатах представлены среднее количество некрозов, образованных на 6 листьях

В варианте при обработке семян томатов перед посадкой с применением биопрепарата "Микрозим-2" количество некрозов было в 4 раза меньше, чем в контрольном варианте, а под действием биопрепарата "Биоазот" - в 3,7 раза меньше, а в вариантах, обработанных 0,07% раствором "Купрумхита" и "Фармайода" обнаружено, что количество некрозов уменьшилось в 3,1 и 2,7 раза.

### ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований по диссертации доктора философии (PhD) на тему "Выделение вирусов, поражающих растения томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.), изучение их свойств и диагностика" представлены следующие выводы:

1. При мониторинге вирусных болезней посевов томатов в некоторых регионах республики с использованием метода визуального мониторинга и иммунологических методов выявлено, что средний уровень заболеваемости ToCV составил 23,33±0,13%, TICV - 9,0±0,07%, ToMV - 66,33±0,11%, TSWV - 4,0±0,09%, INSV - 3,0±0,14%, а вирус PepMV не обнаружен. Среди обнаруженных вирусов ВМТо был наиболее распространенным (18-85% от общего числа), при этом впервые в Узбекистане в посевах томатов выявлены *Tomato chlorosis virus* и *Tomato infectious chlorosis virus*.

2. Из исследованных пораженных вирусными заболеваниями растений томата выделен вирус томатной мозаики с использованием растений-дифференциатора *Ch. amaranticolor*, затем осуществлено накопление вируса в тест-растении *D. stramonium*, и посредством гельфильтрации с использованием геля "TSK HW-75" получен чистый гомогенный препарат вируса. Спектрофотометрический анализ полученного чистого вирусного препарата показало, что минимальное поглощение ультрафиолетового света составило 245 нм, максимальное - 260 нм, что является специфичным для нуклеопротеидов, а соотношение 260/280 составило 1,2, что характерно для вирусов со спиральным типом симметрии.

3. При изучении симптомов заболевания ВМТо у индикаторных растений видов *Ch. quinoa L.*, *Ch. amaranticolor L.*, *Ch. album L.* выявлены такие биологические свойства, как образования некрозов, различающихся друг от друга по размерам, также установлены такие физические свойства как точки тепловок инактивации температуре 98°C и накопление предельного разведения вируса до  $10^{-7}$  в тканях растений.

4. На основе секвенирования гена *CP* молекулярно-генетически идентифицирован изолят ВМТо, распространенный в климатических условиях Узбекистана, и впервые выделенный изолят “*Tomato mosaic virus AVJ-1*” данного вируса внесён в международную базу GeneBank NCBI под номером OQ076774.1, а также проведен биоинформатический анализ и построено филогенетическое дерево, показывающая эволюционные родственные отношения изолята AVJ-1 с другими изолятами ВМТо распространенными в разных регионах мира.

5. Получение вирусоспецифической антисыворотки оказалось эффективным при иммунизации кролика путём инъекции чистого вирусного препарата ВМТо в ушную вену кроликов. При этом установлено что её титр составил 1:128, а после реиммунизации - 1:512 и приготовленная высокотитровая сыворотка была эффективно использована в диагностике ВМТо у разных сортов томата, установлено что сорта Дархан, Реванш, Благодатный, Перст, Султан F1 являются иммунными; а сорта ТМК-22, Севара, Агро, Твенид, Финиш, Таними, Лоджаин F1, Н-2274, Челнок, Долгоносик являются средне устойчивыми, которые могут быть рекомендованы для селекционных программ по созданию перспективных сортов томатов, устойчивых к ВМТо.

6. В целях разработки эффективных мер по борьбе с ВМТо установлено воздействие биопрепаратов «Микрозим-2», «Биоазот», и химических препаратов «Купрумхит» и «Фармайод» на вирусную инфекцию, в выявлено, что при обработке семян томатов перед посадкой с применением биопрепарата “Микрозим-2” количество некрозов уменьшилось в 4 раза по сравнению с контрольным вариантом, а под действием биопрепарата “Биоазот” - в уменьшилось в 3,7 раза, а в вариантах, обработанных 0,07% раствором “Купрумхита” и “Фармайода” - в 3,1 и 2,7 раза соответственно.

Предпосевная обработка семян томатов вышеуказанными препаратами приносит эффективные противовирусные результаты, и они могут быть рекомендованы для борьбы с вирусными заболеваниями.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.03/14.07.2022.B/QX.10.06 ON AWARD OF  
SCIENTIFIC DEGREE AT THE INSTITUTE OF FUNDAMENTAL AND  
APPLIED RESEARCH “TIHAME” NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY**  

---

**INSTITUTE OF GENETICS AND PLANT EXPERIMENTAL BIOLOGY**

**AKHMADALIEV BOBURBEK JAKHONGIR UGLI**

**ISOLATION OF VIRUSES AFFECTING TOMATO PLANTS  
(*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.), STUDY OF THEIR  
PROPERTIES AND DIAGNOSTICS**

**03.00.04 – Microbiology and virology**

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)  
ON BIOLOGICAL SCIENCES**

**Tashkent – 2023**

**The theme of the dissertation of the doctor of philosophy (PhD) on biological sciences was registered by the Supreme attestation commission at the Ministry of Higher education, science and innovations of the Republic of Uzbekistan under B2023.1.PhD/B861.**

The doctoral (PhD) dissertation was carried out at the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology

The abstract of the dissertation was posted in three (Uzbek, English, and Russian (resume)) languages on the website of the Scientific Council ([www.tiame.uz](http://www.tiame.uz)) and on the website of “Ziyonet” informational and educational portal ([www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz)).

**Scientific supervisor:**

**Kodirova Zarifa Nosirovna**

PhD in Biological Sciences, senior researcher

**Fayziev Vokhid Bakhramovich**

doctor of biological sciences, prof.

**Official opponents:**

**Khusanov Tokhir Sunnatovich**

PhD, senior researcher

**Leading organization:**

Gulistan State University

The defense of the dissertation will be held on “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2023, at the meeting of the Scientific Council PhD.03/14.07.2022.B/QX.10.06 at the Institute of fundamental and applied research “TIAME” National Research University (Address: 39, Kari-Niyaziy street, Tashkent 100000 Uzbekistan. Phone: (+99871) 237-19-31; fax: (+99871) 237-38-79, e-mail: ifar@tiame.uz)

The doctoral (PhD) dissertation can be looked through in the Information Resource Center of Institute of fundamental and applied research “TIAME” National Research University (Address: 39, Kari-Niyaziy street, Tashkent 100000 Uzbekistan. Phone: (+99871) 237-19-31; fax: (+99871) 237-38-79, e-mail: ifar@tiame.uz)

The abstract of dissertation was distributed on “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2023.

(Registry record No. \_\_\_\_\_ dated “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2023).

**D.R. Egamberdieva**

Chairwoman of the Scientific Council for awarding of scientific degrees, Doctor of Agricultural Sciences

**F.B. Eshboev**

Scientific Secretary of the Scientific Council on Award of Scientific Degrees, PhD

**F.N. Kushanov**

Chairman of the Scientific Seminar of the Scientific Council on Awarding Scientific Degrees, DSc, professor

## INTRODUCTION (Annotation of PhD dissertation)

**The aim of research work** is the definition, isolation, study of properties and molecular genetic identification of phytopathogenic viruses that infect tomato plants, as well as the search for measures to protect plants from viral diseases.

**The object of research** are ToMV isolates, common in the agroecosystems of the republic and affecting tomatoes and other plants.

**The scientific novelty of the research is as follows:**

Phytosanitary monitoring of tomato crops was carried out in some regions of the republic for the presence of viral diseases ToCV, TICV, ToMV, PepMV, TSWV, INSV using express diagnostics using immunostrips in the field, and it was revealed that ToMV is a common viral disease in these regions;

for the first time in the conditions of Uzbekistan, Tomato chlorosis virus and Tomato infectious chlorosis virus were detected on tomato crops;

for the first time in Uzbekistan, the nucleotide sequence of the coat protein (CP) gene fragment of the ABJ-1 isolate of the ToMV virus, common in our republic, was sequenced; a phylogenetic analysis of the CP fragment of the Tomato mosaic virus ABJ-1 isolate with isolates from other regions of the world.

a pure ToMV preparation was obtained using the TSK HW-75 gel, and the method for preparing virus-specific antiserum was improved, some biological and physico-chemical properties of ToMV were determined;

an antiserum containing polyclonal antibodies specific to ToMV was obtained, and this antiserum was used in screening the resistance of various tomato varieties and lines to ToMV.

using the method of thermotherapy, the optimal time and temperature regime for disinfecting seeds from the ToMV viruses contained inside them was determined;

a comparative analysis and evaluation of the effectiveness of the action of chemical and biological preparations in the protection of tomato plants against the ToMV virus was carried out.

**Implementation of the research results.** Based on the obtained scientific results, Isolation of viruses affecting tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.), study of their properties and diagnostics:

an isolate of tomato mosaic virus, which is widespread in the republic and affects tomatoes and other vegetable crops, was included in the gene pool of the collection of the unique scientific object "Collection of phytopathogenic and other microorganisms" (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4 / 1255-314 dated February 14, 2023). As a result, this made it possible to enrich the gene pool of the collection "Phytopathogenic and other microorganisms" and to form an electronic database of the information and analytical system of the species diversity of viruses;

An isolate isolated from a tomato plant infected with ToMV virus called "Tomato mosaic virus ABJ-1" was registered in the database of the National Collection of Phytopathogenic Microorganisms of the World Data Center for Microgramism (WDCM), under the number WDCM 1035 (protocol of the Institute

of Genetics and Experimental of Plant Biology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated February 9, 2023 and certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4 / 1255-314 dated February 14, 2023. As a result, this made it possible to use it globally in the study of tomato mosaic virus isolates common in different regions of the world;

The purified preparation ToMV was used in evaluating the antiviral effect of the preparation "Kuprumkhit", obtained within the framework of the applied project No. KA-12-001 on the topic "Development of technology for the production of polymer-metal complexes of chitosan and its derivatives, their use in the prevention and treatment of diseases of agricultural crops (wilt, root rot and moniliosis) "(certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4 / 1255-351 dated February 21, 2023). As a result, this made it possible to recommend the drug "Kuprumhit" for practice as an antiviral drug against phytopathogenic viruses;

The results of molecular genetic identification based on the nucleotide sequence of the CP gene fragment of the ToMV isolate are included in the NCBI database, the European National Nucleotide Archive EMBL-EBI (UK, Cambridge) and the Japanese DNA Database (DDBJ) under the number OQ076774.1., in as a result, it was possible to compare this nucleotide sequence of the tomato mosaic virus isolate, common in Uzbekistan, with ToMV strains found on different continents of the world.

**The structure and scope of the dissertation.** The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusions, a list of references and appendices. The length of the dissertation was 112 pages.

**E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI**  
**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PULISHED WORKS**

**I bo'lim (I часть: I part)**

1. B. J. Akhmadaliev, B. A. Abduvaliev, K. I. Nugmanova, Z. N. Kadirova. "Molecular Identification of ToMV Isolates Distributed in Uzbekistan and Study of Some Biological Properties" // International Journal of Virology and Molecular Biology, Vol. 12 No. 1, 2023, pp. 13-18. (03.00.00. №12)

2. Ахмадалиев Б.Ж., Бекмурадова Х., Исмоилов А., Жабборов Ш., Абдувалиев Б.А., Қодирова З.Н. "Помидорнинг нав ва дурагайлари тогат мозаикаси вирусига чидамлилигини ўрганиш" // Ўзбекистон аграр фани хабарномаси. –Тошкент, 2019 -№ [1/75] –Б. 60-63. (03.00.00. №8)

3. Ахмадалиев Б.Ж., Абдувалиев Б.А., Бўстонова С.С., Қодирова З.Н. "Андижон вилояти шароитида булғор ва аччиқ қалампирнинг вирус касаллигини аниқлаш ва идентификацияси" // Ўзбекистон аграр фани хабарномаси. –Тошкент, 2019 - № [1/75] –Б. 70-74. (03.00.00. №8)

4. Ахмадалиев Б.Ж., Қаландарова М.А., Бахромова Г.Х., Нугманова К.И., Қодирова З.Н. "Биоазот препаратининг уруғда сақланувчи тобамовирус инфекциясига таъсири" // ЎзМУ хабарлари. –Тошкент, 2021 - № [3/2] –Б. 21-24. (03.00.00. №9)

5. Ахмадалиев Б.Ж., Нугманова К.И., Адиллов Б.Ш., Қодирова З.Н. "Помидор уруғида сақланувчи тогат мозаикаси вирусини термотерапия усулида зарарсизлантириш" // Фанлар акадemiaсининг маърузалари. – Тошкент, 2022 - №4. –Б. 76-81. (03.00.00. №6)

6. Ахмадалиев Б.Ж., Нугманова К.И., Қодирова З.Н., ЎзР ФА академиги Абдукаримов А.А. "Тогат мозаикаси вирусини ажратиш ва уни тест ўсимликлардаги аломатларини ўрганиш" // Фанлар акадemiaсининг маърузалари. –Тошкент, 2020 - №6. –Б.72-75. (03.00.00. №6)

**II bo'lim (II часть: II part)**

7. Ахмадалиев Б.Ж., Холмирзаев И.Х., Қодирова З.Н., Абдуллаев Ф. "Хитозан ва унинг глицирризин кислотаси билан комплекслари асосидаги препаратларини тамаки мозаикаси вируси инфекциясига таъсирини ўрганиш" // Агро кимё химоя ва ўсимликлар карантини илмий-амалий журнал. - Тошкент, 2019.- № [1] –Б. 42-44.

8. Ахмадалиев Б.Ж., Шамситдинова Н.Х., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. "Помидор ўсимлиги вирусли касалликларини аниқлаш" // Академик А.Г.Халмуродовнинг 80 йиллигига бағишланган Республика илмий-амалий анжумани. –Тошкент, 24 октябр 2019й. –Б. 50-51.

9. Ахмадалиев Б.Ж., Шамситдинова Н.Х., Алиева Д.Х., Нугманова К.И., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Х. "Помидор ўсимлигидан тогат мозаикаси вирусини ажратиш" // Фан ва таълимни ривожлантиришда ёшларнинг ўрни

республика илмий ва илмий-техник коференцияси. –Тошкент, 22 ноябр 2019й. –Б. 46-48.

10. Ахмадалиев Б.Ж., Нугмонова К.И., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Ҳ. “Томат мозаикаси вирусини охирги суюлиш даражаси (ОСД) ни аниқлаш” // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари” Республика илмий анжумани. –Тошкент, 2020 йил 12 август. –Б. 342-343.

11. Ахмадалиев Б.Ж., Нугмонова К.И., Абдувалиев Б.А., Қодирова З.Н., Ваҳобов А.Ҳ. “Томат мозаикаси вируси (ТоМВ) ни гелъфилтрация усулида тозалаш” // Ёўза ва бошқа экинлар генофонди биохилма-хилликларни ўрганиш, ривожлантириш, сақлаш ва самарали фойдаланиш истиқболлари Халқаро илмий анжумани. -Тошкент, 2020 йил 20-21 октябр. –Б. 87-189.

12. Ахмадалиев Б.Ж., Қодирова З.Н. “Томат мозаикаси вирусини ажратиш ва тозаланган препаратини олиш” // Тошкент Давлат Аграр университети ташкил этилганлигининг 90 йиллигига бағишлаб ўтказилган “Аграр фан назарияси ва амалиётидаги долзарб муаммолар ва уларнинг ечимлари” мавзусидаги халқаро конференция материаллари. Тошкент, 2020 йил 14 декабр. –Б. 456-461.

13. Ахмадалиев Б.Ж., Нугмонова К.И., Қодирова З.Н. “Томат мозаикаси вирусига специфик антизардоб олиш” Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари” // Республика илмий анжумани. –Тошкент, 2021 йил 18 май. –Б. 272-273.

14. Ахмадалиев Б.Ж., Абдувалиев Б.А., Қодирова З.Н. “Ҳимояланган тупроқда етиштирилаётган помидор ўсимлигида *Tomato chlorosis virus* (ТоСВ) ни молекуляр генетик идентификация қилиш” // Фан, таълим ва техникани инновацион ривожлантириш масалалари Халқаро илмий-амалий анжумани. Андижон, 2022 йил 12 апрел. –Б. 88-91.

15. Ахмадалиев Б.Ж., Абдувалиев Б.А., Қодирова З.Н., Нугманова К.И., Каримов Р.А., Зайлобидинов Н.У. “*Tomato mosaic tobamovirus* инфекциясига специфик антизардоб олиш ва титрини аниқлаш” // Ёш олимлар ахборотномаси илмий журнали. -Тошкент, 2021. № 2. –Б. 87-91.

16. Бекмурадова Х.К., Исмаилов А.И., Ахмадалиев Б.Ж. “Оценка исходного материала для создание новых устойчивых к вирусной мозаике сортов томата” // Актуальные проблемы современной науки. –Москва, 2019 - № [3/106] С. 170-173.

17. Ахмадалиев Б.Ж., Бахромова Г.Ҳ., Умедова М.Е., Бобоева Ҳ.О., Абдувалиев Б.А. “*Tomato mosaic tobamovirus* инфекциясига “ППФ Купрумхит” препаратининг таъсирини ўрганиш” // Ўзбекистонда микробиология ва микроб биотехнологиясининг ўрни ва уни янада ривожлантириш истиқболлари Республика илмий анжуманининг тезислар тўплами, -Тошкент, 2021. –Б. 38.

18. Ахмадалиев Б.Ж., Қаландарова М.А. “Томат мозаикаси вирусини ажратиш ва уни ўсимликнинг айрим физиологик жараёнларига таъсирини ўрганиш” // Theory and analytical aspects of recent research” international scientific-online conference. –Istanbul, 2022 -Part 5. P. 75-77.











