

CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.03/27.09.2024.B.82.03 RAQAMLI ILMIY KENGASH

CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI

SATTOROV MUZAFFAR SOATOVICH

**OLXO'RI CHECHAGI VIRUSINING O'SIMLIK BA'ZI MORFO-
FIZIOLOGIK XUSUSIYATLARIGA TA'SIRINI O'RGANISH VA UNING
DIAGNOSTIKASI**

03.00.04-Mikrobiologiya va virusologiya

BIOLOGIYA FANLARI BO'YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI

Chirchiq-2025

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Sattorov Muzaffar Soatovich

Olxo‘ri chechagi virusining o‘simlik ba’zi morfo-fiziologik xususiyatlariga ta’sirini o‘rganish va uning diagnostikasi.....3

Саттаров Музаффар Соатович

Изучение влияния вируса оспы сливы на некоторые морфофизиологические характеристики растений и его диагностика.....21

Sattorov Muzaffar Soatovich

Study of the influence of the Plum pox virus on some morphophysiological characteristics of plants and its diagnosis.....40

E’lon qilingan ishlar ro‘yxati

Список опубликованных работ

List of published works.....44

CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.03/27.09.2024.B.82.03 RAQAMLI ILMIY KENGASH
CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI

SATTOROV MUZAFFAR SOATOVICH

**OLXO'RI CHECHAGI VIRUSINING O'SIMLIK BA'ZI MORFO-
FIZIOLOGIK XUSUSIYATLARIGA TA'SIRINI O'RGANISH VA UNING
DIAGNOSTIKASI**

03.00.04-Mikrobiologiya va virusologiya

BIOLOGIYA FANLARI BO'YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI

Chirchiq-2025

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O‘zbekiston Respublikasi Oliy ta’lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2022.4 PhD/B803 raqam bilan ro‘yxatga olingan.

Dissertatsiya ishi Chirchiq davlat pedagogika universitetida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o‘zbek, rus, ingliz (rezyume) Ilmiy kengash veb-sahifasida (www.cspu.uz.ilmiy-kengash) va “ZiyoNet” Axborot ta’lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Fayziyev Voxid Baxramovich
biologiya fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

Qodirova Zarifa Nosirovna
biologiya fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim

Xo‘jamshukurov Nortoji Abdixaliqovich
biologiya fanlari doktori, professor

Yetakchi tashkilot:

Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti

Dissertatsiya himoyasi Chirchiq davlat pedagogika universiteti huzuridagi PhD.03/27.09.2024.B.82.03 raqamli Ilmiy kengashning 2025 yil «___» _____soat ___dagi majlisida bo‘lib o‘tadi. (Manzil: 111720, Toshkent viloyati, Chirchiq shahar, Amir Temur ko‘chasi, 104-uy. Tel: (99870) 712-27-55; faks: (99870) 712-45-41; e-mail: chdpu_kengash@umail.uz)

Dissertatsiya bilan Chirchiq davlat pedagogika universitetining Axborot-resurs markazida tanishish mumkin. (___ raqam bilan ro‘yxatga olingan). Manzil: 111720, Toshkent viloyati, Chirchiq shahri, Amir Temur ko‘chasi, 104-uy. Tel: (99870) 712-27-55; faks: (99870) 712- 45-41.)

Dissertatsiya avtoreferati 2025 yil “___” _____ da tarqatildi.
(2025 yil “___” _____dagi _____ - raqamli reyestr bayonnomasi).

S.T. Jo‘rayev

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash raisi
o‘rinbosari, b.f.d., professor

A.Q. Bo‘ronov

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash ilmiy kotibi,
b.f.f.d., dotsent

H.A. Mo‘minov

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

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasining annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyati. Jahonda antropogen omillarning tabiiy muhitga ta'siri muhim qishloq xo'jaligi o'simliklarini kasallantiruvchi viruslar tarqalish ko'lamining ortishiga va hududlarda invaziv viruslarning tarqalishiga, ularning yangi tabiiy o'choqlarining paydo bo'lishiga olib kelmoqda. Bu esa o'z navbatida kasallanishning ortishi va yetishtirilayotgan mahsulot sifatining yomonlashuviga va eksportboplik qimmatining pasayishiga olib kelmoqda. Ayniqsa, danak mevali daraxtlarda uchraydigan olxo'ri chechagi (OChV) kabi viruslarning ushbu turkum turlari ichida keng tarqalishi hamda tarqalish arealining juda tez suratlarda ortib borayotganligi kuzatilmoqda. Bunday zararli viruslarning tarqalish darajasi va arealini aniqlash, molekulyar identifikatsiyalash, virusni o'simlikning morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini baholash unga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishda muhim ilmiy-amaliy ahamiyat kasb etadi.

Dunyo miqyosida olxo'ri o'simligini kasallantiruvchi fitopatogen viruslarni aniqlash, xususan olxo'ri chechagi virusining izolyat va shtammlarini molekulyar-genetik xususiyatlarini o'rganish ustida keng ko'lamli izlanishlar olib borilmoqda. Shu o'rinda, olxo'ri chechagi virusiga chidamli bo'lgan nav va namunalarni aniqlash, ularning chidamliligini molekulyar-genetik, fiziologik va biokimyoviy belgi-xususiyatlari asosida baholash, chidamlilik genlari uchun boshlang'ich genetik manbalarini markerlar asosida izlab topish, gen injeneriya va biotexnologik yo'llar bilan ushbu genlarni transformatsiya qilish yoki virus qismlari sinteziga javobgar bo'lgan genlarni o'simliklarga ko'chirish hamda RNK interferensiyasi orqali chidamlilik xususiyatlarini oshirish orqali virus zararini kamaytirish hamda unga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishga katta e'tibor berilmoqda.

Respublikamizda ko'plab sohalar qatori qishloq xo'jaligini rivojlantirish, zamonaviy ilm-fan yutuqlarini sohaga joriy etish, meva-sabzavotchilikni rivojlantirish, hosildorligi va kasallik qo'zg'atuvchi patogen mikroorganizmlarni, xususan viruslarni aniqlash va diagnostika qilish borasida muhim natijalarga erishildi. O'zbekiston Respublikasi qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020-2030 - yillarga mo'ljallangan strategiyasida "Oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlash, o'simlik kasalliklariga qarshi kurash va fitosanitariya xizmatlarini yo'lga qo'yish"¹ kabi muhim vazifalar belgilab berilgan. Ushbu vazifalardan kelib chiqqan holda olxo'ri o'simligida tarqalgan virusli kasalliklar va ularning tarqalish darajasini monitoring qilish, OChV izolyatlari CP genining molekulyar-genetik identifikatsiyasi natijasida genom nukleotidlar izchilligini aniqlash, virusning CP geni asosida filogenetik analiz qilish va aminokislotalar tarkibini qiyosiy tahlil qilish, olxo'ri chechagi virusining toza, gomogen preparatini ajratish va tozalik darajasini tahlil qilish va virusning o'simlik morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini aniqlash muhim ahamiyat kasb etadi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 23-oktabrdagi PF-5853-son "O'zbekiston Respublikasi qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020-2030 - yillarga

¹O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 23 oktabrdagi PF-5853-son "O'zbekiston Respublikasi qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020-2030 yillarga mo'ljallangan strategiyasi" to'g'risidagi Farmoni <https://lex.uz/docs/-4567334>

mo'ljallangan strategiyasi to'g'risida"gi, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2021-yil 15-iyuldagi PF-6262-son "Respublikada o'simliklar karantini va himoyasi tizimini tubdan takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi Farmonlari, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 20-martdagi PQ-4246-son "O'zbekiston Respublikasida bog'dorchilik va issiqxona xo'jaligini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi qarori, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2024-yil 24-iyundagi PQ-233-son "Iqlim o'zgarishiga nisbatan barqaror agroekotizimni yaratish hamda qishloq xo'jaligi mahsulotlari yetishtiruvchilarning iqlim o'zgarishi bilan bog'liq xavflarga moslashuvchanligini oshirish chora-tadbirlari 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 ishi Respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining V. "Qishloq xo'jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi" ustuvor yo'nalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o'rganilganlik darajasi. Olxo'ri o'simligini kasallantiruvchi viruslarining tuzilishi, xususiyatlari, tasnifi va ularga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishga, virusning genetik tavsifi, o'simlik morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'siri va molekulyar identifikatsiyasiga qaratilgan ilmiy-tadqiqotlar xorij olimlaridan D.Atanassov (1932), M.Goylo (1937), N.Knuzzen (1979), M.Megpebb (1986), M.Netesh (1986), H.Kegler (2002), M.Cambra (2006), M.Barba (2011), Z.Subr (2013), D. James (2017), L.Buntsevich (2018) kabi olimlar tomonidan olib borilgan.

MDH davlatlarida olxo'ri chechagi virusiga oid tadqiqotlar, xususan, OChV ning tuzilishi, xususiyatlari, ekologiyasi, shtammlari, immunodiagnostikasi va molekulyar-genetik diagnostikasi kabi xususiyatlariga doir tadqiqotlar T.D.Verderevskaya (1964), S.M.Pospelov (1978), V.G.Marinesku (1985), I.V.Mitrofanova (2014), S.N.Chirkov (2016), A.A.Sheveleva (2020) va O.Kutsenko (2020) kabi olimlar tomonidan olib borilgan.

Mamlakatimizda esa fitopatogen viruslarni o'rganish bo'yicha tadqiqotlar A.H.Vahobov (1964, 1991), Z.N.Qodirova (1991), U.M.Jo'rayeva (1994), G.M.Umarova (2009), V.B.Fayziyev (2011, 2020), T.S.Xusanov (2019), B.J.Ahmadaliyev (2023), T.X.Maxmudov (2023), D.T.Jovliyeva (2024) va Z.Sh.Sobirova (2024) kabi olimlar tomonidan olib borilgan. Ammo, respublikamizda danak mevali o'simliklarni kasallantiruvchi viruslar o'rganilmagan. Shuning uchun olxo'ri o'simligini kasallantiruvchi viruslarni aniqlash, uning o'simlik morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish va diagnostika qilish muhim amaliy va nazariy ahamiyat kasb etadi.

Tadqiqotning dissertatsiya bajarilgan oliy ta'lim yoki ilmiy tadqiqot muassasasining ilmiy tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Mazkur tadqiqot Chirchiq davlat pedagogika universitetining "O'zbekiston iqlim sharoitida tarqalgan fitopatogen viruslarni ajratish, xususiyatlarini o'rganish va diagnostika qilish" mavzusidagi ilmiy tadqiqot ishlarining rejalari bilan bo'g'liq holda bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi olxo'ri chechagi virusini ajratish, biologik, molekulyar-genetik identifikatsiyalash va o'simlikning ayrim morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish hamda diagnostika qilishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

olxo'ri o'simligida tarqalgan virusli kasalliklar va ularning tarqalish darajasini monitoring qilish hamda OChVga xos bo'lgan kasallik alomatlarini aniqlashtirish;

olxo'ri o'simligidan OChVni ajratish va test-indikator o'simliklardagi alomatlarini o'rganish orqali biologik identifikatsiyalash;

Toshkent viloyati ekologik sharoitida tarqalgan OChV izolyatlarini teskari transkriptazali polimeraza zanjir reaksiyasi (TT-PZR) usulida molekulyar-genetik identifikatsiyalash hamda virusning CP geni asosida filogenetik analiz qilish va aminokislotalar tarkibini qiyosiy tahlil qilish;

virusning olxo'ri o'simligidagi ayrim muhim fiziologik jarayonlariga ta'sirini o'rganish va baholash;

OChVning toza, gomogen preparatini ajratish va tozalik darajasini tahlil qilish;

tozalangan virus preparatiga spetsifik quyon antizardobini tayyorlash, titrini aniqlash va virus diagnostikasida qo'llash.

Tadqiqotning ob'ekti sifatida Toshkent viloyati iqlim sharoitida tarqalgan va olxo'ri o'simligidan ajratib olingan OChV ning izolyatlaridan foydalanildi.

Tadqiqotning predmeti sifatida esa Toshkent viloyatining turli ekologik hududlarida bog'dorchilikka ixtisoslashgan mahalliy va iqlimlashtirish uchun keltirilgan olxo'ri navlari, turli indikator o'simliklar, OChVga olingan poliklonal antizardob va o'simlik peroksidazasining infeksiyon jarayondagi dinamikasi kabilar hisoblanadi.

Tadqiqotning usullari. Tadqiqot ishini bajarishda, virusologiya sohasida keng qo'llaniladigan fitoviruslarni ajratish va tozalash, virusga spetsifik quyon antizardobini tayyorlash, spektrofotometriya, ikkiyoqlama immunodiffuziya (IID), fizik-kimyoviy usullar, gelfiltratsiya, polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) kabi virusologik, biokimyoviy, biotexnologik usullar va MEGA11 kabi bioinformatik dasturdan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

ilk bor Toshkent viloyati sharoitida OChVning izolyatlari ajratilgan va tarqalish darajasi aniqlangan;

ajratilgan virus PZR usulida molekulyar-genetik identifikatsiya qilingan va D shtammga xosligi hamda bir-biridan farqlanuvchi izolyatlar ekanligi isbotlangan;

ajratib olingan mahalliy izolyatlarining oqsil qobig'idagi geni nukleotidlar izchilligi va shu asosida sintezlanadigan oqsilning aminokislotalar tarkibi unga yaqin izolyatlar bilan qiyosiy tahlil qilish orqali aniqlangan;

toza virus preparati asosida spetsifik quyon zardobini tayyorlash usuli takomillashtirilgan hamda ushbu usul yordamida yuqori titrli spetsifik zardob tayyorlash mumkinligi immunologik hamda molekulyar-genetik usullar yordamida isbotlangan;

tayyorlangan yuqori titrli zardob virus diagnostikasida qo'llanilishi natijada *Convolvulus arvensis*, *Trifolium pretense* kabi yovvoyi o'simliklar virusning

respublikamiz iqlim sharoitida tarqalgan yangi rezervator o'simliklari ekanligi aniqlangan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

Toshkent viloyati hududida o'suvchi olxo'ri o'simligidan OChV izolyatlari ajratildi va danak mevali daraxtlarni kasallantiruvchi xavfli patogen virus sifatida aniqlangan;

olxo'ri o'simligi bargidagi fotosintetik apparat hisoblangan pigment miqdori, kasallangan va sog'lom o'simlikdagi peroksidaza fermentining dinamikasiga ta'sirini aniqlash orqali virusning o'simlik morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'siri baholangan;

virus preparatining tozalik darajasi spektrofotometrik, molekulyar-genetik va immunologik tahlili preparatning gomogen ekanligini tasdiqladi va tozalash jarayonida qo'llanilgan modifikatsiyalangan tozalash sxemasi samarali ekanligi aniqlangan;

virusga tayyorlangan spetsifik quyon zardobi titrining 1:512 ekanligi ishlab chiqilgan immunizatsiya sxemasi va qo'llanilgan VetoZal Euro 10 % li immunomodulyatorning samarali ekanligini va ushbu yo'nalishda olib boriladigan tadqiqotlarda foydalanish mumkinligi aniqlangan.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi tahlillar zamonaviy virusologik, biotexnologik, molekulyar-genetik usullardan foydalangan holda o'tkazilganligi, ilmiy natijalarning statistik tahlil qilishida "Statistica 6.0", SnapGene, MEGA11 dasturlari yordamida bioinformatik tahlil, GenBank - NCBI ma'lumotlar bazasiga o'rganilgan virus izolyatlari nukleotidlar ketma-ketligini joylashtirilganligi, ilmiy-tadqiqot 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.

O'zbekistonda tarqalgan OChV izolyatlari CP genining molekulyar-genetik identifikatsiyasi natijasida genom nukleotidlar izchilligining aniqlanganligi va xalqaro GeneBank - NCBI bazasiga PPVUzb1 (ID MT038048), PPVUzb2 (ID MT038050) va PPVUzb3 (ID MT038049) nomi bilan joylashtirilganligi va mamlakatimiz iqlim sharoitida olxo'ri o'simligini kasallantiruvchi ilk virus sifatida aniqlanganligi bilan asoslanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati O'zbekiston iqlim sharoitidan ajratilgan OChVning toza virus preparati olindi va bu preparat asosida virusga yuqori titrli spetsifik zardob tayyorlandi, tayyorlangan zardob virus diganostikasi hamda virusning tabiiy rezervator o'simliklarini aniqlashda hamda virusga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishga xizmat qiladi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Olxo'ri o'simligini kasallantiruvchi viruslarni ajratish, xususiyatlarini o'rganish va ularning diagnostikasi bo'yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

OChVning O'zbekistonda tarqalgan izolyati O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutidagi "Fitopatogen va boshqa mikroorganizmlar

noyob ilmiy obyekt kolleksiyasi” genofondiga topshirilgan (O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining 2024-yil 15-martdagi 4/1255-610-sonli ma’lumotnomasi). Natijada, kolleksiyadagi viruslar genofondini boyitish, elektron bazasi axborot-tahlil tizimini shakllantirish imkonini bergan;

OChVning Toshkent viloyatida tarqalgan uchta bir-birdan farqlanuvchi izolyatlari molekulyar-genetik usulda identifikatsiya qilindi va PPV Uzb1, PPV Uzb2 va PPV Uzb3 nomi bilan Xalqaro GenBank - NCBI ga joylandi (O‘zbekiston Respublikasi Qishloq xo‘jaligi vazirligining 2024-yil 8-oktabrdagi 05/06-02-861-sonli ma’lumotnomasi). Natijada viruslarning yangi turlarini tavsiflashda nukleotidlar ketma-ketligi asosida mintaqalararo foydalanish imkonini bergan;

olxo‘ri o‘simligidan ajratilgan izolyatlarning laboratoriya sharoitida toza preparati olingan, virusga spetsifik, yuqori titrli quyon zardobi Toshkent viloyati Parkent va Qibray tumanlaridagi jami 10,4 ga maydonda virus diagnostikasida joriy qilingan (O‘zbekiston Respublikasi Qishloq xo‘jaligi vazirligining 2024-yil 8-oktabrdagi 05/06-02-861-sonli ma’lumotnomasi). Natijada, bog‘dorchilikka ixtisoslashgan fermer xo‘jaliklarida olxo‘ri chechagi virusini erta aniqlash va tarqalishini oldini olish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 3 ta xalqaro va 9 ta respublika ilmiy anjumanlarida muhokamadan o‘tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e‘lon qilinishi. Dissertatsiya mavzusi bo‘yicha jami 17 ta ilmiy ishlar chop etilgan, shulardan 6 tasi O‘zbekiston Respublikasining Oliy attestatsiya komissiyasi doktorlik dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etishga tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda, jumladan 3 tasi respublika va 2 tasi xorijiy ilmiy jurnalda nashr etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya ishi kirish, 3 ta bob, xulosalar va adabiyotlar ro‘yxatidan iborat bo‘lib, dissertatsiya 107 sahifani tashkil qiladi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

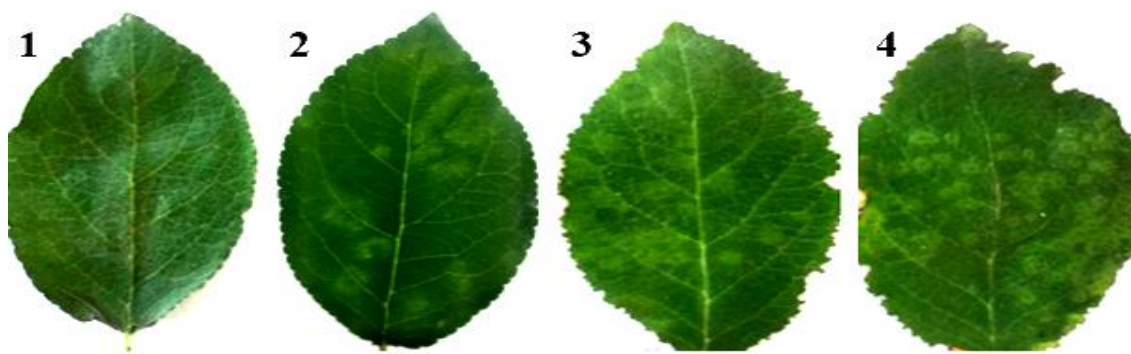
Kirish qismida dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyati, maqsad va vazifalari asoslab berilgan, tadqiqotning obyekt va predmetlari tavsiflangan, tadqiqotning respublika fan va texnologiyalarni rivojlantirishning ustuvor yo‘nalishlariga muvofiqligi keltirilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi 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 **“Olxo‘ri chechagi virusining biologiyasi, ekologiyasi hamda diagnostika usullariga oid adabiyotlar tahlili”** deb nomlangan birinchi bobida olxo‘ri va boshqa danak mevali daraxtlarni kasallantiruvchi fitopatogen virusli kasalliklarning tavsifi, OChVning bioekologik xususiyatlari, tabiatda tarqalish va yuqish yo‘llari, virusning toza preparatini olish usullari, spetsifik antizardob va uning o‘ziga xos xususiyatlari, fitoviruslar diagnostika usullari va o‘simliklarni viruslardan himoyalash choralari oida chop etilgan ilmiy manbalarning tahlili keltirilgan.

Dissertatsiyaning “**Olxo‘ri chechagi virusining o‘simliklarga ta‘sirini o‘rganish va virusni diagnostika qilish hamda xususiyatlarini o‘rganishda qo‘llanilgan usullar**” deb nomlangan ikkinchi bobida dissertatsiya ishi davomida foydalanilgan material va tadqiqot uslublar bayoni keltirilgan.

Dissertatsiyaning “**Olxo‘ri chechagi virusini ajratish, toza preparatini olish, molekulyar-genetik identifikatsiyasi hamda spetsifik zardob tayyorlash**” nomli uchinchi bobida Toshkent viloyati ekologik sharoitida yetishtirilayotgan o‘lxo‘ri o‘simligini kasallantiruvchi OChVning test-indikator o‘simliklardagi kasallik alomatlarini o‘rganish orqali biologik identifikatsiyalash, viruslarga xos kasallik alomatlariga asosan monitoringi, OChVni TT-PZR usuli yordamida diagnostika qilish va shtammlarini aniqlash kabi qator tadqiqot natijalari keltirilgan.

Virusologik tadqiqotlarda vizual monitoring ishlari muhim hisoblanganligi bois, dastlab Toshkent viloyatining Qibray, Parkent, Bo‘stonliq va O‘rta Chirchiq tumanlarida bog‘dorchilikka ixtisoslashgan fermer xo‘jaliklarida o‘lxo‘ri bog‘lari monitoring qilindi va olib borilgan kuzatishlar natijasida o‘simlik barglarida mozaika, deformatsiyalar, mevalarda virusga xos halqalar, dog‘lar, mevaning qattiqlashishi, mevaning erta to‘kilishi kabi alomatlar aniqlandi (1-rasm).



1-rasm. Olxo‘ri chechagi virusining olxo‘ri o‘simligi bargidagi kasallik alomatlari.

1) sog‘lom (nazorat); 2) kuchsiz kasallangan; 3) o‘rtacha kasallangan; 4) kuchli kasallangan o‘simlik barglari.

Ilmiy manbalar (S.Chirkov, 2014; A.Sheveleva, 2020) asosida aniqlangan alomatlar orasidan o‘simlik bargida xlorotik dog‘lanish, halqasimon dog‘lanish alomatlari OChVga xos ekanligi aniqlashtirildi.

Keyingi tadqiqotlar virusni xo‘jayin o‘simlikdan ajratish, yuqumlilik tabiatini aniqlash hamda test-indikator o‘simliklardagi alomatlariga asosan biologik identifikatsiyalash hisoblanib, buning uchun kasallik alomatlari mavjud o‘simliklardan namunalar yig‘ib olinib, laboratoriya sharoitida yuqumli shira tayyorlash va test-indikator o‘simliklarga mexanik inokulyatsiya qilish orqali aniqlandi (1-jadval).

Olingan natijalar asosida mexanik inokulyatsiya qilingan test-indikator o‘simliklarning aksariyatida virusga xos bo‘lgan halqali dog‘lanish alomatlari namoyon bo‘lganligi aniqlandi. Jumladan, *Chenopodiaceae* oilasi vakili *Chenopodium quinoa* (2-rasm), *Ch.amaranticolor* va *Ch.album* turlari barg sathida 7-9 kundan so‘ng sariq halqasimon dog‘ni, *Ch.murale* turida esa boshqa turlardan

**O'zbekiston sharotida ajratilgan OChV ning test-indikator o'simliklardagi kasallik
alomatlari**

Indikator o'simliklar oilasi va tur nomi		Kasallik alomatlari	Paydo bo'lish muddati
Sho'radoshlar (<i>Chenopodiaceae</i>)			
1.	Sho'ra (<i>Chenopodium quinoa</i>)	Sariq halqali dog'	7-9
2.	Sho'ra (<i>Ch. amaranticolor</i>)	Sariq halqali dog'	10-11
3.	Dumbil sho'ra (<i>Ch. murale</i> L.)	Sariq xlorotik dog'	6-7
4.	Oq sho'ra (<i>Ch. album</i> L.)	Sariq xlorotik dog'	10-11
Ituzumdoshlar (<i>Solanaceae</i>)			
5.	Bangidevona (<i>Datura stramonium</i>)	Sariq yoyilgan mozaika	10-12
6.	Mingdevona (<i>D. metel</i>)	Sariq yoyilgan mozaika	18-20
7.	Tamaki (<i>Nicotiana barley</i>)	Mozaika	20-22
8.	Tamaki (<i>Nicotiana glutinosa</i>)	Sariq xlorotik dog' va sariq mozaika	14-16
9.	Tamaki (<i>Nicotiana benthamiana</i>)	Sariq halqali mozaika	16-18
10.	Petuniya (<i>Petunia hybrida</i>)	-	-
11.	Baqlajon (<i>Solanum melon-gena</i>)	-	-
12.	Bulg'or qalampir (<i>Capsicum annum</i>)	-	-
13.	Fizalis (<i>Nicandra physalodes</i>)	Nekrotik dog'	14-16
Dukkakdoshlar (<i>Leguminosae</i>)			
14.	Yashil no'xat (<i>Pisum sativum</i>)	Yashil mozaika	18-20
15.	Loviya (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	-	-
16.	Vigna (<i>Vigna sinensis</i>) Qorako'z navi	-	-

farqli ravishda 6-7 kunda barg sathida sariq xlorotik dog' alomatlarini keltirib chiqardi. Test-indikator o'simliklarni mexanik inokulyatsiya qilinganda, olingan natijalar jadvalda va quyidagi rasmda keltirilgan (2-rasm).



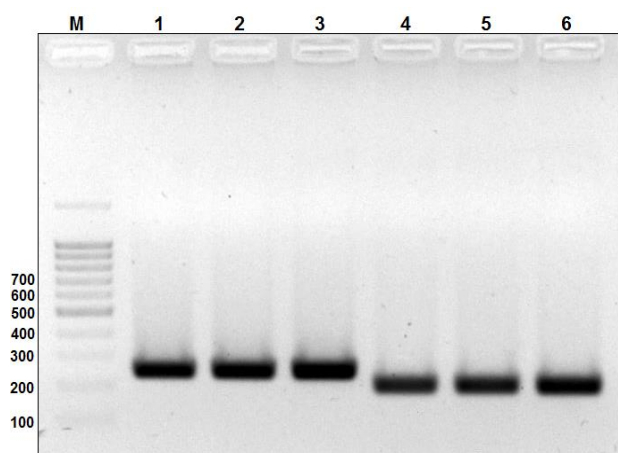
2-rasm. OChVning *Ch. quinoa* o'simlik barglardagi alomatlari.

Rasmdagi: a-sog'lom o'simlik; b-virus bilan kasallangan o'simlik barglari.

Ushbu o'tkazilgan tadqiqot natijasida quyidagicha xulosa qilish mumkin, OChV xo'jayin o'simlikdan mexanik inokulyatsiya yo'li bilan ajratib olindi hamda test-indikator o'simliklarda virusga xos tipik belgi hisoblangan xlorotik va halqasimon dog'larning paydo bo'lishi bilan biologik identifikatsiya qilindi.

Bugungi kunda fitopatogen viruslarni diagnostika qilishda molekulyar-genetik usullar keng miqyosda qo'llanilmoqda, shuning uchun keyingi tadqiqotlarda Toshkent viloyati ekologik sharoitida tarqalgan OChVni TT-PZR usuli yordamida diagnostika qilish va shtammini aniqlash bo'yicha tadqiqot natijalari keltirilgan.

Virusni molekulyar diagnostikasi va shtammini aniqlash. Buning uchun kasallik alomatlari sariq xlorotik va halqasimon dog‘ mavjud bo‘lgan o‘simliklardan (1-rasm) namunalar yig‘ildi va TT-PZR usuli yordamida molekulyar identifikatsiya qilindi. Olxo‘ri o‘simligidan olingan namunalar liofil quritilgan holatda Lomonosov nomidagi Moskva davlat universitetining “O‘simlik viruslari biokimyosi” laboratoriyasida b.f.d., prof. S.N.Chirkov bilan birgalikda molekulyar diagnostika qilindi. Molekulyar diagnostika qilish uchun ikki xil, ya’ni P1/P2 praymerdan foydalanildi, praymer nukleotid ketma-ketligi quyida keltirilgan (PZR mahsuloti 243 bp) P1-F:ACCGAGACCACTACACTCCC /P2-R: CAGACTACAGCCTCGCCAGA (Wetzel et al., 1991). OChV shtammini aniqlash uchun esa P1/PD praymeridan foydalanildi, uning nukleotid ketma-ketligi quyida keltirilgan (PZR mahsuloti 198 bp) P1-F:ACCGAGACCACTACACTCCC /PD-R: CTTCAACGACACCCGTACGG (Olmos et al., 1997). TT-PZR natijalari elektroforez qurilmasida 2 % li agarozda gelida vizualizatsiyalashtirildi, tekshirish natijasida olingan elektroforegramma keltirilgan (3-rasm).



Elektroforez 2 % li agarozda gelida amalga oshirildi. M - 100 bp DNA ladder Plus. 1-3-bargida sariq xlorotik va halqasimon dog‘ mavjud olxo‘ri o‘simliklardan olingan namunalar; 4-6-namunalardagi (1,2,3) virus shtammini aniqlash uchun o‘tkazilgan diagnostika natijalari. Praymerlar: OChV diagnostikasi uchun P1/P2 (Wetzel et al., 1991) va shtamm diagnostikasi uchun P1/PD (Olmos et al., 1997) ishlatilgan. PZR sharoiti A.Shevelevada keltirilgandek amalga oshirildi (Sheveleva et al., 2020).

3-rasm. OChV ni TT-PZR usulida molekulyar identifikatsiya qilish

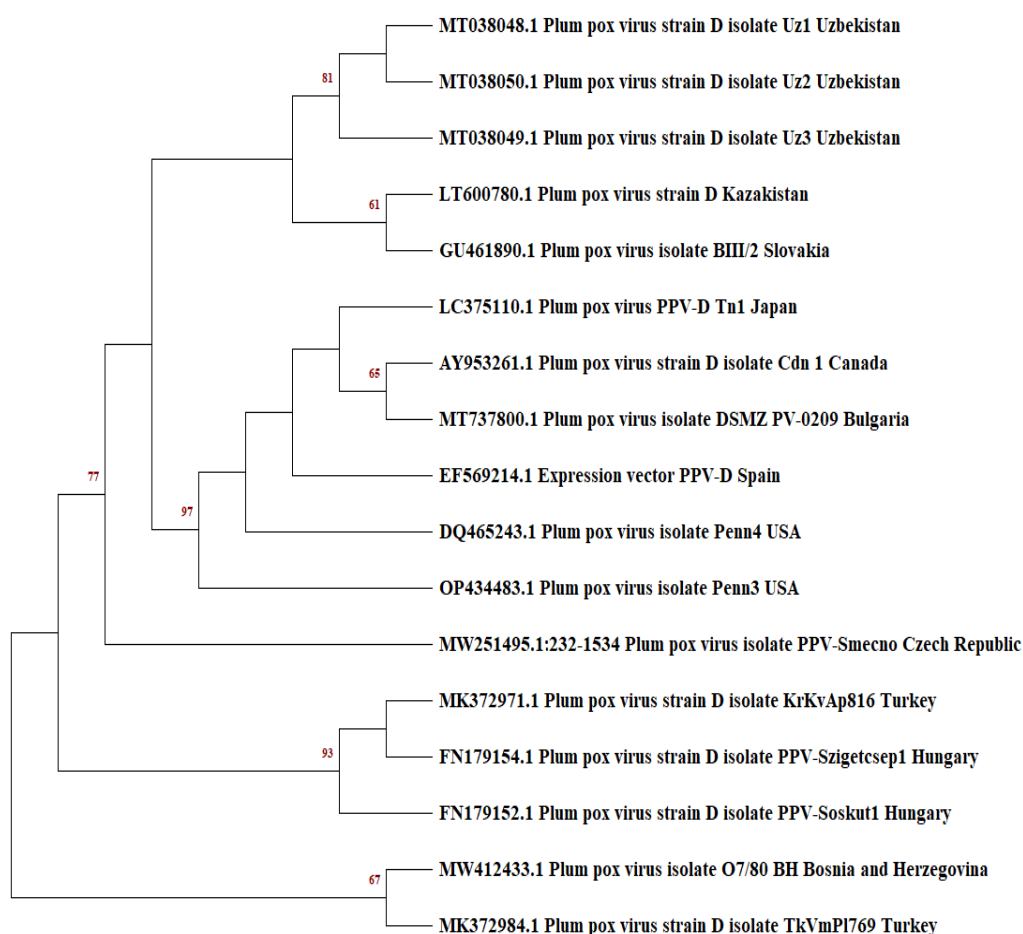
O‘tkazilgan molekulyar diagnostika virusning eng keng tarqalgan shtamlari uchun tayyorlangan maxsus praymer P1/P2 yordamida o‘tkazildi va natijaga ko‘ra tekshirilgan har uchala namuna (3-rasm, 1-3) ham OChV bilan kasallanganligi aniqlanib PZR mahsuloti 243 bp ni tashkil etdi. O‘tkazilgan PZR tekshiruvi natijasida ushbu virus OChVning D shtammiga xos ekanligi tasdiqlandi.

OChV izolyatlarini oqsil qobig‘i geni asosida molekulyar-genetik identifikatsiyalash va filogenetik analizi. Buning uchun namunalar TT-PZR usuli yordamida molekulyar identifikatsiya qilindi. PZR o‘tkazish jarayoni A.Shevelevada (2020) keltirilgani virusning oqsil qobig‘i (CP) (Cter) N1b-CP-3’-NCR genom qismiga tayyorlangan maxsus praymer N1bF/4CPR1 yordamida amalga oshirildi, PZR mahsuloti 1263 bp ni tashkil etdi, uning nukleotid ketma-ketligi quyida keltirilgan:

N1bF:CTTGAATGGGACAGATCAAATGA;

4CPR1:GAGAAAAGGATGCTAACAGGAATC (Wallis et al., 2007; Matic et al., 2011, Chirkov et al., 2016; A.Sheveleva, 2020).

PZR mahsuloti geldan kesib olinib, berilgan protokol asosida tayyorlandi va sekvens uchun (Yevrogen, Rossiya) topshirildi. Sekvens natijasida aniqlangan nukleotidlar virus izolyatlarini filogenetik analiz qilishda foydalanildi. O'tkazilgan bioinformatik tahlillarda Toshkent viloyati iqlim sharoitidan molekulyar-genetik xususiyatlari bilan farqlanuvchi uchta izolyat aniqlandi hamda Xalqaro GenBank – NCBIga PPV Uz1 (MT038048.1), Uz2 (MT038050.1) va Uz3 (MT038049.1) nomi bilan joylashtirildi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), shuningdek bugungi kungacha ushbu virusning 10 dan ortiq bir-biridan farqlanuvchi stammlari aniqlanganligi hisobga olinib, shajara tuzishda NCBI bazasiga joylashtirilgan D shtammi asos qilib olindi (4-rasm).



4-rasm. OChVning O'zbekiston iqlim sharoitidan aniqlangan izolyatlarining filogenetik shajarasi

Shajaradan shu narsa ko'rinib turibdiki, virusning D shtammiga xos bo'lgan izolyatlar to'rtta alohida filogenetik shoxda joylashganligi ma'lum bo'ldi. Jumladan, O'zbekistonning MT038048.1 va MT038050.1 izolyatlari, Qozog'istonning LT600780.1 va Slovakiyaning GU461890.1 izolyatlari bitta filogenetik shoxda, O'zbekistonning MT038049.1 izolyati va Chexiya Respublikasidan aniqlangan MYY251495.1 izolyatlari esa alohida filogenetik shoxda joylashganligi, ammo bu izolyatlarning umumiy bitta klasterda joylashganligi, ularning kelib chiqishi va evolyutsiyasi jihatdan yaqin ekanligidan dalolat beradi. Boshqa izolyatlar bilan yaqinlik darajasi filogenetik shajarada keltirilgan.

Tadqiqot natijalaridan quyidagicha xulosa qilish mumkin, virusning oqsil qobig‘i (CP) (Cter) NIb-CP-3’-NCR genom qismiga tayyorlangan maxsus praymer NIbF/4CPR1 yordamida molekulyar-genetik identifikatsiya qilindi va sekvens natijalariga ko‘ra O‘zbekiston iqlim sharoitidan molekulyar-genetik tasnifi bilan farqlanuvchi uchta izolyatlar aniqlandi (4-rasm). Yuqorida keltirilgan tadqiqot natijalariga asoslanib, nukleotidlar ketma-ketligida kuzatilgan o‘zgarishlarning oqsil tarkibidagi aminokislota tarkibi sinteziga ta’sirini o‘rganish muhim hisoblanadi.

Keyingi tadqiqotlarda aniqlangan izolyatlarning oqsil qobig‘i aminokislotalar tarkibi FASTA bioinformatik dasturlari yordamida qiyosiy tahlil qilish orqali aniqlandi (5-rasm).

```

MT038050.1      NGMEPICASMVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
MT038049.1      -----MVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
MT038048.1      -RMEAICASMVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
LT600780.1_8308-9610 -RLEAICASMVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
                    *****
MT038050.1      EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
MT038049.1      EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
MT038048.1      EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
LT600780.1_8308-9610 EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
                    *****
MT038050.1      PPVIQAPAPRTTAPMFNPIFTPATTQPATKPVSVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
MT038049.1      PPVIQAPAPRTTAPMFNPIFTPATTQPATKPVSVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
MT038048.1      PPVIQAPAPRTTAPMFNPIFTPATTQPATKPVSVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
LT600780.1_8308-9610 PPVIQAPAPRTTAPMFNPIFTPATTQPATKPVSVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
                    *****
MT038050.1      TNRDRDIDAGSIGTFTVPRKAMTSKLSLPKVKGKAIMNHLNLAHSPAQVDLSNTRAPQ
MT038049.1      TNRDRDIDAGSIGTFTVPRKAMTSKLSLPKVKGKAIMNHLNLAHSPAQVDLSNTRAPQ
MT038048.1      TNRDRDIDAGSIGTFTVPRKAMTSKLSLPKVKGKAIMNHLNLAHSPAQVDLSNTRAPQ
LT600780.1_8308-9610 TNRDRDIDAGSIGTFTVPRKAMTSKLSLPKVKGKAIMNHLNLAHSPAQVDLSNTRAPQ
                    *****
MT038050.1      SCFQTWYEGVKRDYDVTDDMSIILNGLMVWCIENGTSPTNNGMWVMDGETQVEYPIKP
MT038049.1      SCFQTWYEGVKRDYDVTDDMSIILNGLMVWCIENGTSPTNNGMWVMDGETQVEYPIKP
MT038048.1      SCFQTWYEGVKRDYDVTDDMSIILNGLMVWCIENGTSPTNNGMWVMDGETQVEYPIKP
LT600780.1_8308-9610 SCFQTWYEGVKRDYDVTDDMSIILNGLMVWCIENGTSPTNNGMWVMDGETQVEYPIKP
                    *****
MT038050.1      LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNYEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
MT038049.1      LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNYEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
MT038048.1      LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNYEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
LT600780.1_8308-9610 LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNYEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
                    *****
MT038050.1      TTPVRAREAHIQMKAALRNQVQNLRFGLDGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
MT038049.1      TTPVRAREAHIQMKAALRNQVQNLRFGLDGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
MT038048.1      TTPVRAREAHIQMKAALRNQVQNLRFGLDGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
LT600780.1_8308-9610 TTPVRAREAHIQMKAALRNQVQNLRFGLDGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
                    *****
CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

5-rasm. OChV izolyatlari oqsil qobig‘i aminokislotalar tarkibining qiyosiy tahlili

Virus izolyatlari aminokislotalar tarkibini o‘rganish ustida o‘tkazilgan bioinformatik tahlillar, nukleotidlar tarkibida kuzatilgan 14 ta mutatsiya nuqtasidan oqsil aminokislotalar tarkibida 4 ta o‘zgarish bo‘lganligini ko‘rsatdi, ya’ni birinchi nuqtada MT038049.1 izolyatida aspartat (D) aminokislota kelgan bo‘lsa, qolgan izolyatlarda glitsin (G) aminokislota, ikkinchi nuqtada esa MT038048.1 va LT600780.1 izolyatlarda valin aminokislota kelgan bo‘lsa, qolgan har ikkala, ya’ni MT038050.1 va MT038049.1 izolyatlarda izoleysin (I) kelganligi aniqlandi. Qolgan nuqtalardagi o‘zgarishlar rasmda keltirilgan (5-rasm).

Bu ketma-ketlik asosida dunyoning boshqa mintaqalaridan ajratilgan turli

izolyatlarning oqsil qobig'i aminokislotalar tarkibi solishtirib o'rganilganda, ular orasida bir qator tafovutlarning mavjudligi aniqlandi. Jumladan, Arg - Uzb2 MT038050 va Uzb3 MT038049 izolyatida 22 tadan, Bosniya MW412433 izolyatida 25 ta, qolgan izolyatlarda esa 23 tadan, His - Uzb1,2,3 MT038048 va Bosniya MW412433 izolyatlarida 9 tadan, Yaponiya LC375110 va qolgan izolyatlarida 8 tadan, Lys- Bosniya MW412433 20 ta, qolgan izolyatlarda esa 19 tadan ekanligi aniqlandi.

Ushbu tadqiqot natijalariga ko'ra, mamlakatimizda ajratilgan izolyatlar oqsil qobig'i aminokislota tarkibi jihatdan ko'pgina izolyatlar bilan yaqin, ammo bir xil emasligi o'tkazilgan tahlillar natijasida aniqlandi. Virus 98,42 % gomologiyaga ega bo'lgan va filogenetik shajara daraxtida bitta shoxda joylashgan ajdodi, Qozog'istonda ajratilgan izolyat bilan aminokislota tarkibining juda o'xshash ekanligini mamlakatimizda tarqalgan izolyatlar ushbu hududdan tarqalgan yoki bitta yaqin kelib chiqish ajdodiga ega deb xulosa qilish mumkin.

OChVni o'simlikning ba'zi morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish. O'simliklarning himoya mexanizmidagi peroksidaza fermentining alohida o'rni bo'lib, peroksidaza oksidlanish-qaytarilish reaksiyasi tufayli substrat molekulasidan perekslarga vodorodni olib o'tishi bilan xarakterlanadi. Kasallanish oqibatida peroksidaza fermentining tizimli faolligi oshishi tamaki mozaikasi virusiga o'ta chidamli tamakida olib borilgan bo'lib, o'simlik immunitetining tizimli chidamlilik alomatlarini aniqlab berdi (D.Jovliyeva, 2023). Shuning uchun ushbu tadqiqot ishida virus bilan turli (kuchsiz, o'rtacha va kuchli) darajada kasallangan va sog'lom o'simlik bargidagi peroksidaza ferment faolligi o'rganildi (2-jadval).

2-jadval

Turli darajada virus bilan kasallangan olxo'ri o'simligi barglaridagi peroksidaza dinamikasi faolligi

Tekshirilgan namunalar	Ferment turi		
	n	HDBKB*** M± m	Eruvchan M± m
Nazorat*	3	0,119±0.01*	0,155±0.04
Kuchsiz kasallangan	4	0,134±0.01	0,194±0.02*
O'rtacha kasallangan	4	0,144±0.02*	0,270± 0.03*
Kuchli kasallangan	4	0,158±0.05	0,383±0.11

Izoh: **Nazorat sifatida sog'lom o'simlikdan olingan barg namunalaridan foydalanilgan. Jadvaldagi - "****" shartli belgi bilan ajratilgan qisqartma so'z peroksidazaning hujayra devori bilan kuchsiz bog'langan turini anglatadi. *P<0,05 – nazoratga nisbatan ishonchli; n=3-4

Olib borilgan tadqiqot natijasi shuni ko'rsatdiki, o'simlikning turli darajada zararlangan bargidagi ferment faolligi nazorat (sog'lom) o'simligi bargiga nisbatan kasallanish darajasiga qarab turlicha o'zgarganligi aniqlandi. Jumladan, fermentning hujayra devori bilan kuchsiz bog'langan shaklining faolligi nazoratga nisbatan o'rtacha 1,3 marta, eruvchan shakli esa 2,4 marta oshganligi aniqlandi. Virus bilan kuchsiz darajada kasallangan o'simlikda hujayra devori bilan kuchsiz bog'langan peroksidaza miqdorining pasayishi va eruvchan shakli faolligining esa ikki barobarga

oshganligi olib borilgan tajribalar asosida o'z tasdig'ini topdi (2-jadval). Demak, olingan natijalar asosida OChV olxo'ri o'simligida, fiziologik xususiyatiga, xususan peroksidaza faolligiga ta'sir etib, uning oshishiga olib kelishi ma'lum bo'ldi.

Pigmentlar nafaqat fotosintez jarayonida ishtirok etish, balki o'simlik hujayrasi tarkibidagi erkin radikallarning boshqa yot modda bilan reaksiyaga kirishish va birikish funksiyasini bloklash va zararli ta'sirlardan himoya qilish funksiyasini ham bajaradi. Virus bilan kasallanish ko'p hollarda bargdagi pigmentlar miqdorini turli darajada kamayishiga olib keladi (T.Xusanov, 2020). Shuning uchun keyingi tadqiqotlarda OChVning o'simlikdagi pigment miqdoriga ta'sir darajasi o'rganildi. Buning uchun OChV bilan turli darajada kasallangan olxo'rining barglaridagi xlorofill a, b va karotinoid pigmentlari miqdorining dinamik o'zgarishi o'rganildi (3-jadval).

3-jadval

OChV bilan kasallangan olxo'ri navlarida pigment miqdorining dinamik o'zgarishi

Navlar	Namuna	n	Bargdagi pigment miqdori, mg/g		
			Xlorofill (a)	Xlorofill (b)	Karotinoid
Ispalniskaya	Nazorat**	3	1,71±0,09	1,17±0,07	0,87±0,04
	Kasallangan	3	1,60±0,04*	0,68±0,05*	0,63±0,03*
Vengerka	Nazorat**	3	2,21±0,08	1,21±0,03	0,84±0,03
	Kasallangan	3	1,54±0,07*	0,59±0,01*	0,69±0,01*

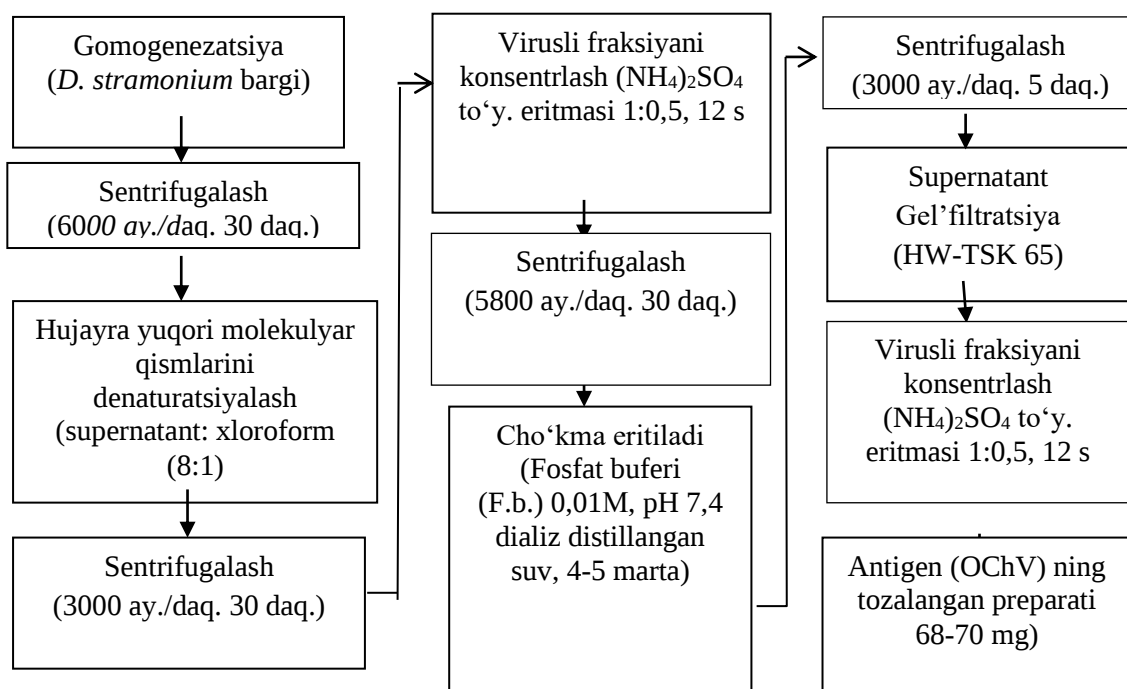
Izoh: **-nazorat sog'lom o'simlik hisoblanadi. *P<0,05, n=3

Jadvaldan ko'rinib turibdiki, virus ta'sirida xlorofill "a" ning miqdori olxo'rining Ispalniskaya navi bargida nazoratga nisbatan 8,9 %, Vengerka navida esa 34,7 % kamayganligi, xlorofill "b" ning miqdori Ispalniskaya navida 41,8 %, Vengerka navida esa 51,2 % ga kamayganligi, karotinoid miqdori esa Ispalniskaya navida 27,5 %, Vengerka navida 17,8 % ga kamayganligi tadqiqotlar natijasida aniqlandi. O'simlik bargining pigment miqdorining o'zgarishi jadvalda keltirilgan (3-jadval).

Tadqiqotlar natijasida OChVni olxo'ri o'simligida morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'siri o'rganildi. Natijada, o'simlik bargida kasallik darajasining ortishi bilan peroksidaza hujayra devori bilan kuchsiz bog'langan (HDBKB) turining faolligi o'rtacha 1,3 marta, eruvchan turining esa faolligi 2,4 marta ortganligi aniqlangan bo'lsa, pigmentlarning miqdori olxo'ri naviga bog'liq ravishda xlorofill "a" ning miqdori 8,9-34,7 % gacha, xlorofill "b" ning miqdori juda kuchli ravishda kamayganligini, ya'ni 41,8-51,2 % gacha, karotinoid miqdori esa 17,8-27,5 % pasayishi ma'lum bo'ldi. Bunday holat o'simlikda kechadigan fiziologik jarayonlarning susayishiga, bu esa o'z navbatida o'simlik mahsuldorligining pasayishiga sabab bo'ladi.

OChVning toza, gomogen preparatini olish usulini ishlab chiqish. Buning uchun virus bilan kasallangan olxo'ri o'simligidan namuna olindi va tadqiqot uslublarida keltirilganidek sog'lom *Datura stramonium* o'simligiga yuqtirildi va tozalash uchun virusli material ko'paytirib olindi (6-rasm).

Virus tozalashning keyingi bosqichi virusni hujayradan chiqarish bosqichi hisoblanib, bu turli usullarda bir-biridan farqlanadi. Ushbu tozalash usulida esa dastlab virusli namuna pH 7,4, 10mM trilon-B, 1mM tris-HCl tarkibli, 0,01M li fosfat buferi yordamida gomogenizatorida 10 daqiqa gomogenizatsiya qilindi va to'rt qavatli dokadan virusli shira suzib olingandan so'ng, virusli shirani barg hujayra komponentlaridan xoli qilish uchun 6000 ayl/daq.da 30 daqiqa sentrifuga qilingach cho'kma usti suyuqligi (ChUS) olindi. Tozalashning keyingi bosqichlari rasmda keltirilgandek amalga oshirildi (6-rasm).



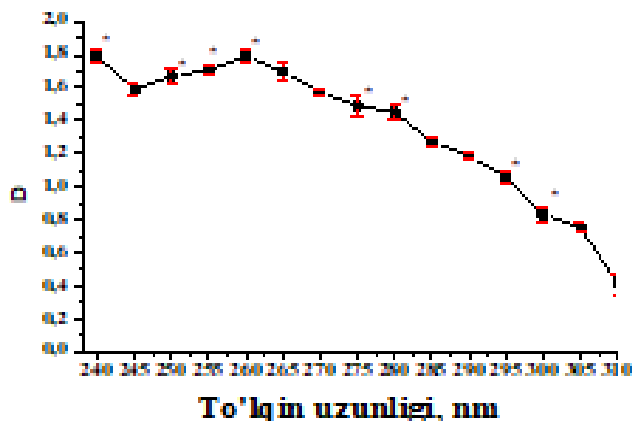
6-rasm. OChV ning tozalangan preparatini olish sxemasi

ChUSdagi pigmentlar va shu kabi yuqori molekulyar moddalarni cho'ktirish uchun denaturatsiya bosqichi amalga oshirildi, ya'ni 1/8 nisbatda xloroform solinib, 20 daqiqa chayqatildi va 3000 ayl./daq.da 30 daqiqa davomida sentrifuga qilindi, so'ngra sentrifuga probirkasidan hosil bo'lgan 3 qavatli suspenziyaning yuqori, ya'ni virusli qavati ehtiyotkorlik bilan alohida toza idishga olindi.

Olingan virusli suspenziyadan virusni ajratish hamda konsentrlash uchun esa ammoniy sulfatning to'yingan eritmasidan (25 % li, 1:0,5 ml) foydalanildi va virus sentrifugalash yordamida konsentrlab olindi. Bu virusning qisman tozalangan preparati bo'lib, undan toza virus preparatini olish uchun esa supernatant keyingi bosqichda HW-TSK 65 geli bilan to'ldirilgan kolonka yordamida gelfiltratsiya qilish orqali virusning tozalangan preparati olindi. Fraksiyaning spektrofotometrik tahlili olxo'ri chechagi virusi 18-fraksiyadan boshlab xromotografik kolonkadan chiqa boshladi, 22-fraksiyaga kelib esa eng maksimal darajaga chiqdi va undan keyin pasayib bordi, 35-fraksiyadan boshlab esa o'simlik oqsillari chiqa boshladi. Fraksiyalarning

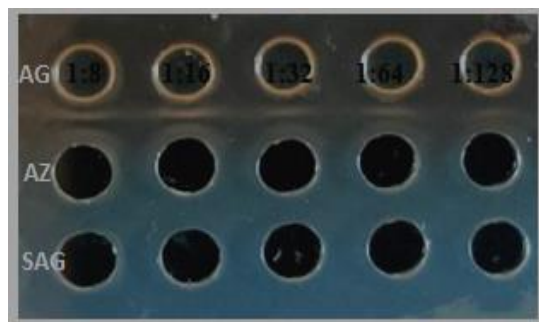
yuqumliligi *D. starmonium* va *Ch. quinoa* o'simliklarida tekshirildi va 18-23 fraksiyalar yuqori infeksiyali ekanligi ma'lum bo'ldi.

Tozalangan virus preparatining spektrofotometrik tahlili preparat nur yutishining eng yuqori cho'qqisi, ya'ni maksimal darajasi 260 nm ni, minimali esa 245 nm ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni ya'ni spirall simmetriya asosida tuzilgan viruslarga xos ekanligini ko'rsatdi (7-rasm).



7-rasm. OChV toza preparatining spektrofotometrik tahlili

Test-indikator o'simliklardagi tahlil *Ch. quinoa* o'simligida OChVga xos bo'lgan halqali dog'larning paydo bo'lishi, boshqa alomatlarining kuzatilmaganligi toza preparat ekanligini tasdiqladi (2-rasm). Preparatning sog'lom o'simlik va spetsifik zardob tarkibidagi immunologik tahlili hamda preparat va spetsifik zardob orasida pretsipitatsiya chizig'ining hosil bo'lishi, sog'lom o'simlik antigeni bilan esa paydo bo'lmaganligi, ajratilgan preparatning gomogen ekanligidan dalolat beradi (8-rasm).



8-rasm. OChV toza preparatining immunologik tahlili. Rasmdagi:

AG – virus antigeni, ya'ni toza virus preparatini; AZ – spetsifik antizardobni; SAG – sog'lom o'simlik shirasini anglatadi.

Shunday qilib, OChVning tozalangan preparati olindi va preparatning tozalik darajasi tahlil qilindi. O'tkazilgan spektrofotometrik tahlil preparat nur yutishining maksimal darajasi 260 nm ni, minimali esa 245 nm ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni ya'ni spiral simmetriya asosida tuzilgan viruslarga xos ekanligini, sog'lom o'simlik antigeni asosida o'tkazilgan immunologik tahlillar virusga spetsifik zardob bilan pretsipitatsiya chizig'inig paydo bo'lmaganligi hamda indikator o'simligida

esa halqali dog'larning paydo bo'lishi virus preparatining gomogen ekanligidan dalolat beradi.

OChVga spetsifik quyon antizardobini tayyorlash va OChV diagnostikasida qo'llash. OChV boshqa viruslar kabi o'zining oqsil qobig'ida antigen determinantlarni saqlaydi (Fayziyev, 2020; Jovliyeva, 2024). Boshqa virus va o'simlik oqsillaridan tozalangan gomogen virus preparatini hayvon organizmiga in'yeksiya qilinsa, hayvon qonida virusga qarshi himoya oqsillari ya'ni, antitanalar

sintezlanadi. Immun antizardobni olish uchun laboratoriya quyonlari material va ish uslublari bobida tavsiflangan ikki xil sxema (A va B) bo'yicha olib borildi.

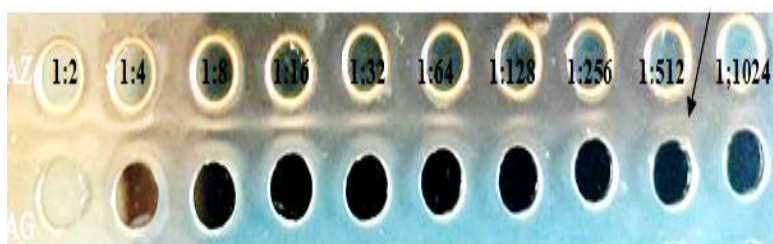
Tajriba quyonlarni in'yeksiya qilishning davomiyligi 16 kunni o'z ichiga oldi. 1 ml virusli namunada 303 mkg (μg) antigen (OChV) saqlanishi spektrofotometriya usuli yordamida aniqlangach, antigen yani OChV toza preparati 5 marta immunizatsiya qilindi (4-jadval).

4-jadval

OChV antigenini quyonga in'yeksiya qilish tartibi va sxemasi

Immunogen	In'yeksiya tartibi va miqdori (μg)	Antigen dozasi	In'yeksiya qilish sxemasi
OChV toza preparati	1/151	0,5 ml	OChV+NaCl; OChV+Vetozal <i>Euro</i> 10%, kurak osti, orqa oyoq mushagi
	2/212	0,7 ml	
	3/303	1,0 ml	
	4/455	1,5 ml	
	5/606	2,0 ml	

Oxirgi in'yeksiyadan 10 kun o'tgach, quyonning o'ng quloq venasidan 10 ml qon olindi va zardobning titri IID usuli yordamida aniqlandi (9-rasm).



9-rasm. Ikkiyoqlama immunodiffuziya usuli yordamida zardob titrini aniqlash tasviri (1% agar-agar gelidagi).
Rasmdagi: AZ – OChVga tayyorlangan antizardob; AG – antigen virus.

Zardob olishda quyonning *Shinshilla* zotidan foydalanildi va olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, birinchi tajriba quyoni, ya'ni toza virus preparati fiziologik eritma bilan in'yeksiya qilingan nazorat quyonidan ajratilgan AZ titri IID usuli yordamida aniqlanganda 1:64,

ikkinchi Vetozal *Euro* 10 % immunomodulyatori qo'shib in'yeksiya qilingan quyondan olingan qondan ajratilgan antizardobning titri 1:512 ekanligi aniqlandi. Olingan spetsifik zardob virus diagnostikasida foydalanildi va 2 ml li flakonlarga solinib - 4°C da saqlandi.

OChVning rezervator o'simliklarini aniqlash. Buning uchun virus tarqalgan olxo'ri dalalarida o'suvchi 12 ta oilaga mansub 24 tur madaniy va yovvoyi o'simliklardan namunalar olindi va ikkiyoqlama immunodiffuziya usulida diagnostika qilindi.

O'tkazilgan tekshirishlar natijasida virus danak mevali daraxt o'simliklardan olcha, o'rik, gilos kabi turlarida hamda shu oila vakillariga yaqin bo'lmagan bir qancha turlarda, sho'radoshlar oilasi vakillaridan tabiiy holda o'sayotgan *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor* va ituzumdoshlar oilasining *Datura stramonium* kabi turlarida saqlanishi, avvaldan taxmin qilingan o'simliklardan tashqari qo'ypechak (*Convolvulus arvensis*), sebarga (*Trifolium pretense*) kabi

O'zbekiston iqlim sharoitida o'suvchi rezervator o'simliklari IID usuli yordamida aniqlandi.

XULOSALAR

“Olxo'ri chechagi virusining o'simlik ba'zi morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish va uning diagnostikasi” mavzusida o'tkazilgan ilmiy-tadqiqot ishlari natijasida quyidagicha xulosalar taqdim etildi:

1. Toshkent viloyati iqlim sharoitida olxo'ri o'simligida uchraydigan barg tomirlari va eti bo'ylab yashil mozaika, barg plastinkasining jingalaklanishi, sariq xlorotik dog'lanish va halqasimon mozaika kabi kasallik alomatlarining tarqalish darajasi monitoring asosida aniqlandi va barg plastinkasida xlorotik dog'lanish va halqasimon mozaika alomati OChVga xosligi aniqlandi.

2. Olxo'ri o'simligidan OChV mexanik inokulyatsiya usulida ajratildi va test-indikator o'simliklarda hosil bo'lgan alomatlari asosida biologik identifikatsiya qilindi, natijada *Ch. quinoa* va ituzumdoshlar oilasi vakillarida hosil bo'lgan halqasimon mozaika alomatlari ilmiy manbalarda keltirilgan ushbu virusga xos bo'lgan alomatlari bilan mos kelishi tasdiqlandi.

3. Ajratilgan OChV izolyatlari virusning D shtammiga xos ekanligi molekyar-genetik identifikatsiyalash orqali tasdiqlandi hamda oqsil qobig'i geni nukleotid va aminokislotalar tarkibi tahlillari esa ushbu izolyatlarning bir-biridan farqlanuvchi MT038048.1 (Uz1), MT038050.1 (Uz2) va MT038049.1 (Uz3) izolyatlar ekanligini va ushbu izolyatlarning bir-biriga yaqin filogenetik shoxda joylashgan ajdod viruslarning avlodi deb xulosa qilishga asos bo'ldi.

4. OChVning o'simlik morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish natijasida peroksidaza fermentining hujayra devori bilan kuchsiz bog'langan shakli nazoratga nisbatan 1,3 marta, eruvchan shakli esa 2,4 martagacha ortishi bargdagi xlorofill “a” ning miqdori 8,9-34,7 % gacha, xlorofill “b” ning miqdori ya'ni 41,8-51,2 % gacha, karotinoid miqdori esa 17,8-27,5 % kamayishi fotosintez jarayonining susayishiga hamda o'simlik mahsuldorligini pasayishiga sabab bo'ladi.

5. OChVning toza, gomogen preparatini olish usuli ishlab chiqildi va preparatning spektrofotometrik tahlili nur yutishining maksimal darajasi 260 nm ni, minimali esa 245 nm ni, 260/280 nisbati esa 1,2 ni ya'ni spiral simmetriya asosida tuzilgan viruslarga xos ekanligi hamda preparatning gomogen ekanligini tasdiqladi.

6. Tayyorlangan toza virus preparati asosida virusga spetsifik quyon antizardobi olindi va uning titri ya'ni nazorat quyonida 1:64, Vetozal Euro10 % li immunomodulyator bilan in'yeksiya qilish orqali tayyorlangan tajriba quyonidan olingan zardobda esa 1:512 ekanligi IID usuli yordamida aniqlandi.

7. OChVga tayyorlangan spetsifik zardob virus diagnostikasi va tabiiy rezervator o'simliklarni aniqlashga qo'llanildi va bu esa o'z navbatida virusning qo'ypechak (*Convolvulus arvensis*), sebarga (*Trifolium pretense*) kabi O'zbekiston iqlim sharoitida o'suvchi yangi tabiiy rezervatorlarini aniqlashga asos bo'lib xizmat qildi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD.03/27.09.2024.В.82.03 ПО ПРИСВОЕНИЮ УЧЁНЫХ
СТЕПЕНЕЙ ПРИ ЧИРЧИКСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

ЧИРЧИКСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

САТТОРОВ МУЗАФФАР СОАТОВИЧ

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВИРУСА ОСПЫ СЛИВЫ НА НЕКОТОРЫЕ
МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РАСТЕНИЙ И ЕГО
ДИАГНОСТИКА**

03.00.04-Микробиология и вирусология

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

Чирчик-2025

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером B2022.4 PhD/B803

Диссертационная работа выполнена в Чирчикском государственном педагогическом университете.

Автореферат диссертации на трёх языках (узбекском, русском и английском (резюме)) размещён на веб-сайте Научного совета (www.cspu.uz.ilmiy-kengash) и на образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель:

Файзиев Вахид Бахрамович
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Кадилова Зарифа Насировна
кандидат биологических наук, с.н.с.

Хужамшукуров Нортोजи Абдихаликович
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация:

**Самаркандский государственный университет
имени Шарофа Рашидова**

Защита диссертации состоится на заседании Научного совета PhD.03/27.09.2024.B.82.03 при Чирчикском государственном педагогическом университете «_» _____2025 года в __ часов. (Адрес: 111720, Ташкентская область, город Чирчик, улица Амира Темура, дом 104. Тел: (99870) 712-27-55; факс: (99870) 712-45-41; e-mail: chdpukengash@umail.uz)

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Чирчикского государственного педагогического университета. (Зарегистрирована под номером ____). Адрес: 111720, Ташкентская область, город Чирчик, улица Амира Темура, дом 104. Тел: (99870) 712-27-55; факс: (99870) 712-45-41.

Автореферат диссертации был распространён «_» _____2025 года.

Протокол регистрации под номером _____ «_» _____2025 года.

С.Т. Жураев

Заместитель председатель Научного совета по
присуждению ученых степеней док. биол. наук.,
профессор

А.К. Бурунов

Учёный секретарь Научного совета по присвоению
учёной степени, д.ф.б.н., доцент

Х.А. Муминов

Председатель Научного семинара при Научном
совете по присвоению учёной степени, доктор
биологических наук, доцент

Введение (Аннотация к диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и необходимость темы диссертации. В мире из-за воздействия антропогенных факторов на природную среду приводят к увеличению масштабов распространения инвазивных вирусов, поражающие важные сельскохозяйственные растения, а также, появлению новых их природных очагов. Это, в свою очередь, приводит к увеличению заболеваемости и ухудшению качества выращиваемой продукции, а также к снижению стоимости эксперта. В частности, наблюдается широкое распространение вирусов, таких как вирус оспы сливы (ВОС), которые встречаются на сливовых деревьях, внутри видов рода сливы, а также очень быстро увеличивающийся ареал распространения. Определение степени и ареала распространения таких вредоносных вирусов, молекулярная идентификация, оценка влияния вируса на морфофизиологические особенности растения приобретают важное научно-практическое значение при разработке мер борьбы с ним.

Во всем мире ведутся широкомасштабные исследования по выявлению фитопатогенных вирусов, вызывающих заболевание сливы, в частности, по выявлению молекулярно-генетических особенностей изолятов и штаммов вируса оспы сливы. При этом установлены сорта и образцы, устойчивых к вирусу оспы сливы, оценка их устойчивости по молекулярно-генетическим, физиологическим и биохимическим признакам, поиск исходных генетических источников генов устойчивости на основе маркеров, трансформация этих генов с помощью генной инженерии и биотехнологии, или трансплантация генов, ответственных за синтез вирусных частей, в растения, а также большое внимание уделяется использованию РНК для снижению вреда вируса за счет повышения его устойчивости за счет интерференции, а также разработке мер борьбы с ним.

В нашей республике достигнуты важные результаты по развитию сельского хозяйства, внедрению в отрасль достижений современной науки, развитию плодовоовощеводства, урожайности выявления и диагностике болезнетворных патогенных микроорганизмов, в частности вирусов. В стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы определены такие важные задачи, как «Обеспечение продовольственной безопасности, борьба с болезнями растений и создание фитосанитарных служб»²¹. Исходя из этих задач, важное значение приобретают мониторинг распространенности вирусных заболеваний и степени их распространения у сливы, определение последовательности нуклеотидов генома в результате молекулярно-генетической идентификации СР гена изолятов ВОС, филогенетический анализ на основе СР гена вируса и сравнительный анализ аминокислотного состава, выделение чистого гомогенного препарата вируса оспы сливы и анализ степени чистоты, определение влияния на морфофизиологические особенности растения.

¹Указ Президента Республики Узбекистан от 23 октября 2019 года № УП-5853 «О стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы»//<https://lex.uz/docs/-4567334>

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит реализации задач, поставленных в Указе Президента Республики Узбекистан от 23 октября 2019 года № УП-5853 «О стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы», Указе Президента Республики Узбекистан от 15 июля 2021 года № УП-6262 «О карантине растений в Республике и о мерах по дальнейшему развитию садоводства и тепличного хозяйства в Республике Узбекистан», постановление Президента Республики Узбекистан от 20 марта 2019 года № УП-4246 «О мерах по дальнейшему развитию садоводства и тепличного хозяйства в Республике Узбекистан», а также, постановлением Президента Республики Узбекистан от 24 июня 2024 года № УП-233 “О мерах по созданию устойчивой к изменению климата агроэкосистемы и повышению гибкости сельхозпроизводителей к рискам, связанным с изменением климата” и другими нормативными правовыми актами, касающимися данной деятельности.

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 охрана окружающей среды”.

Степень изученности проблемы. Строение, характеристика вирусов, поражающих косточковых растений, описание структуры, исследования свойств, классификации вирусов, а также разработки мер борьбы с ними, изучение генетических характеристик вируса, влияние на морфофизиологические особенности растений и молекулярной идентификации проводились зарубежными учеными, такими как D.Atanassov (1932), M.Goylo (1937), N.Knuzzen (1979), M.Megpebb (1986), M.Netesh (1986), H.Kegler (2002), M.Cambra (2006), M.Barba (2011), Z.Subr (2013), D.James (2017), L.Buntsevich (2018) и другие.

В странах СНГ несколько учёные проводили исследования по особенностям строения, характеристик, экологии, штаммов, иммунодиагностика и молекулярно-генетическая диагностика вируса оспы сливы (ВОС).Т.Д.Вердеревская (1964), С.М.Поспелов (1978), В.Г.Маринеску (1985), И.В.Митрофанова (2014), С.Н.Чирков (2016), А.А.Шевелева (2020) и О. Куценко (2020) исследовали ВОС.

В нашей стране работы по изучению фитопатогенных вирусов проводились учёными А.Х.Вахобов (1964, 1991), З.Н.Кадирова (1991), У.М.Жураева (1994), Г.М.Умарова (2009), В.Б.Файзиев (2011, 2020), Т.С.Хусанов (2019), Б.Ж.Ахмадалиев (2023), Т.Х.Махмудов (2023), Д.Т.Жовлиева (2024) и З.Ш.Собирова (2024). Однако в нашей республике вирусы, поражающие косточковых растений, не были изучены. Поэтому выявление вирусов, поражающих сливу, изучение их влияния на морфофизиологические характеристики растений и диагностика имеют важное практическое и теоретическое значение.

Связь темы диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего учебного заведения, где выполнена работа. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ кафедры биологии Чирчикского государственного педагогического университета на тему “Выделение, изучение характеристик и диагностики фитопатогенных вирусов, распространённых в экологических условиях Узбекистана”.

Цель исследования является выделение вируса оспы сливы, его биологическая и молекулярно-генетическая идентификация, а также изучение его влияния на некоторые морфофизиологические характеристики растений и диагностика.

Задачи исследования:

мониторинг вирусных заболеваний, распространенных на сливе и степени их распространения, а также выявление симптомов заболеваний, характерных для вируса оспы сливы (ВОС);

биологическая идентификация путем выделения ВОС из заражённых образцов сливы и изучения его симптомов у растений-индикаторов;

молекулярно-генетическая идентификация изолятов ВОС, распространенных в экологических условиях Ташкентской области, методом полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР), филогенетический анализ на основе СР гена вируса и сравнительный анализ аминокислотного состава;

изучение и оценка влияния вируса на некоторые важные физиологические процессы сливы;

выделение чистого гомогенного препарата вируса оспы сливы и анализ степени чистоты;

приготовление специфической антисыворотки, определение её титра и применение в диагностике вируса.

Объект исследования является изоляты вируса оспы сливы, выделенные из сливы в экологических условиях Ташкентской области.

Предмет исследования являются местные и акклиматизированные сорта сливы, выращиваемые в садоводстве в различных экологических зонах Ташкентской области, различные индикаторные растения, поликлональная антитела к ВОС и динамика пероксидазы растений в инфекционном процессе.

Методы исследования. В исследовании использованы вирусологические, биохимические, биотехнологические методы и методы биоинформатического анализа с использованием программы MEGA11. Применялись такие методы, как выделение и очистка фитопатогенов, получение специфической сыворотки, спектрофотометрия, двойная иммунодиффузия (ДИД), физико-химические методы, гельфльтрация, полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые выделены изоляты ВОС в условиях Ташкентской области и определена степень распространения;

выделенные вирусы были идентифицированы молекулярно-генетических методом ОТ-ПЦР и доказаны вирусы принадлежат к штамму D а также установлены что эти вирусы разные изоляты данного штамма;

проведен филогенетический анализ на основе аминокислотного состава капсидного белка и нуклеотидной последовательности СР гена выделенного изолята с зарубежными изолятами данного вируса;

усовершенствован метод приготовления специфической сыворотки на основе чистого вирусного препарата и доказано получение специфической сыворотки с высоким титром с помощью этого метода;

приготовленную высоко титровую сыворотку использовали в вирусной диагностике, в результате было подтверждено, что дикорастущие растения, такие как *Convolvulus arvensis*, *Trifolium pretense*, являются новыми растениями-резерваторами вируса, распространенными в климатических условиях нашей республики.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

В Ташкентской области были выделены изоляты ВОС, идентифицированные как опасные патогенные вирусы, поражающие сливы, а также другие косточковые плодовые деревья.

Подсчитаны количества пигментов фотосинтетического аппарата в листьях сливы и динамика активности фермента пероксидазы в заражённых и здоровых растениях.

Молекулярно-генетическая идентификация изолятов вируса, распространённых в условиях климата республики, на основе последовательности нуклеотидов СР гена служит для определения их гомологии с изолятами из других регионов мира и изучения эволюции вируса.

Спектрофотометрический, молекулярно-генетический и иммунологический анализы чистоты вирусного препарата подтвердили его гомогенность, что свидетельствует об эффективности модифицированной схемы очистки, применяемой в процессе, и возможности использования данной схемы в дальнейших исследованиях по очистке вируса.

Титр специфической антисыворотки вируса составил 1:512, что свидетельствует об эффективности разработанной схемы иммунизации и использовании иммуномодулятора Vetozal Euro 10%. Этот метод можно использовать в дальнейших исследованиях в данной области.

Достоверность результатов исследования заключается в применении в работе классических и современных вирусологических, биотехнологических и молекулярно-генетических методов, статистическим анализом научных результатов с использованием программ “Statistica 6.0”, SnapGene, MEGA11, размещением последовательности нуклеотидов изученного изолята вируса в базе данных GenBank NCBI. Результаты исследования были обсуждены на республиканских и международных конференциях, а также опубликованы в научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость обусловлена молекулярно-генетической идентификацией гена СР изолятов ВОС, распространённых в Узбекистане, и установлением последовательности нуклеотидов генома, которая была размещена в международной базе GeneBank NCBI под названиями PPVUzb1 (ID MT038048), PPVUzb2 (ID MT038050) и PPVUzb3 (ID MT038049). Это также подтверждает наличие в условиях климата республики вируса, поражающего косточковые плодовые деревья.

Практическая значимость заключается в получении чистого вирусного препарата ВОС, выделенного в экологических условиях Узбекистана, и в создании на его основе специфической сыворотки с высоким титром. Приготовленная сыворотка использовалась в диагностике вируса и определении естественных резервуаров вируса, что способствует разработке мер борьбы с вирусом.

Внедрение результатов исследования. На основе научно-исследовательских результатов по выделению вирусов, поражающих сливу, изучению их характеристик и диагностика имели практическое применение:

Изолят вируса оспы сливы, распространённый в Узбекистане, был передан в генофонд “Коллекции фитопатогенных и других микроорганизмов” Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз (справка Академии наука РУз №4/1255-610 от 15 марта 2024 г.). Это позволило обогатить генофонд коллекции вирусов и создать аналитическую электронную базу данных.

В агробиоценозе косточковых растений были идентифицированы три изолята вируса оспы сливы из Ташкентской области (PPVUzb1, PPVUzb2 и PPVUzb3), которые были зарегистрированы в международном ГенБанке NCBI (справка Минсельхоза РУз №05/06-02-861 от 8 октября 2024 г.). Это расширяет возможности для исследований в данном направлении.

В лабораторных условиях получен чистый препарат изолятов, выделенных из растения сливы, приготовлена специфичная к вирусу сыворотка с высоким титром, выявлены скрытые источники инфекции на 10,4 га Паркентского и Кибрайского районов Ташкентской области. (Справка Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан от 8 октября 2024 года № 05/06-02-861) и введен в диагностику вируса на тотальном уровне. В результате удалось обнаружить и предотвратить распространение вируса оспы сливы в хозяйствах, специализирующихся на садоводстве.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования были обсуждены на 3 международных и 9 республиканских научных конференциях.

Опубликованность результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 6 в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан к публикации основных научных результатов докторских диссертаций, в том числе 3 в республиканском и 2 в зарубежном научном журнале.

Структура и объём диссертации. Содержание диссертации состоит из введения, три глав, заключения, списка использованной литературы и приложения. Объём диссертации составил 107 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **“Введении”** обоснована актуальность и необходимость темы диссертации, определены цель и задачи исследования, описаны объекты и предметы исследования. Приведена информация о соответствии исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий в республике. Изложены научная новизна и практические результаты исследования, раскрыта теоретическая и практическая значимость полученных результатов, описано внедрение результатов исследования в практику, а также указаны опубликованные работы и структура диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **«Анализ литературы по биологии, экологии и методам диагностики вируса оспы сливы»**, приведены описания фитопатогенных вирусных заболеваний, поражающих сливу и другие косточковые плодовые деревья. Представлена биоэкологическая характеристика вируса оспы сливы (ВОС), пути его распространения и заражения, методы получения чистого препарата вируса, особенности специфических антисывороток, а также методы диагностики фитопатогенных вирусов и меры защиты растений от вирусов. Проанализированы многочисленные научные публикации, посвященные этим вопросам.

Во второй главе диссертации, названной **«Изучение влияния вируса оспы сливы на растения, диагностика вируса и методы исследования его характеристик»**, изложены материалы и методы, использованные в ходе выполнения диссертационной работы.

В третьей главе диссертации, которая называется **«Выделение вируса оспы сливы, получение его чистого препарата, молекулярно-генетическая идентификация и разработка специфической сыворотки»**, приведены результаты исследований. Описаны биологическая идентификация вируса оспы сливы, поражающего сливу в экологических условиях Ташкентской области, мониторинг симптомов вирусных заболеваний на основании характерных признаков, диагностика вируса методом ОТ-ПЦР и определение штамма вируса.

Поскольку визуальный мониторинг играет важную роль в вирусологических исследованиях, первоначально был проведен мониторинг сливовых садов, принадлежащих специализированным фермерским хозяйствам в Кибрайском и Паркентском районах Ташкентской области. В ходе наблюдений на листьях растений были выявлены симптомы в виде мозаики, деформаций, а также кольца и пятна на плодах, затвердевание плодов и их преждевременное опадание, что является характерными признаками заражения вирусом (Рисунок 1).

На основе научных источников (С. Чирков, 2014; А. Шевелева, 2020) было установлено, что такие симптомы, как хлоротичные пятна и кольцевая

пятнистость на листовых пластинках сливы и преждевременные опадения плодов являются характерными для вируса оспы сливы (ВОС).

Дальнейшие исследования были направлены на выделение вируса из растений-хозяев, определение инфекционного характера вируса, а также

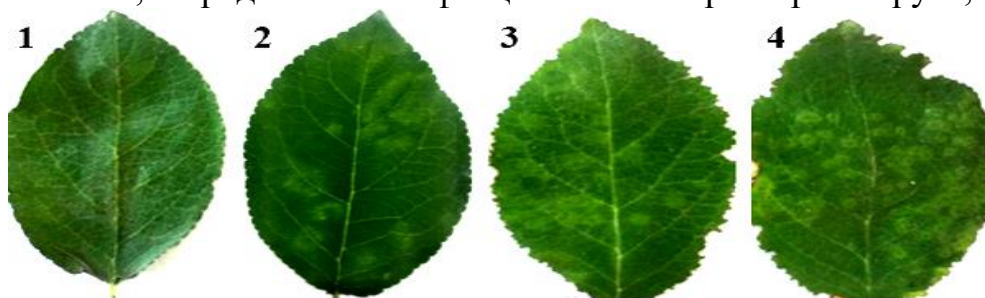


Рисунок 1. Симптомы болезни ВОС на листьях сливы.

На изображении: 1)здоровый (контроль); 2)слабое поражение; 3)средняя степень поражения; 4)сильное поражение листа растения

биологическую идентификацию на основе симптомов у тест-индикаторных растений. Для этого образцы с симптомами заболевания собирали в стерильных условиях, из них в лаборатории готовили инфекционный сок и проводили механическую инокуляцию тест-индикаторных растений, что позволило уточнить данные (Таблица 1).

Таблица 1

Симптомы заболевания, вызванные вируса оспы сливы (ВОС), выделенные в экологических условиях Узбекистана

Семейство и название вида индикаторных растений.		Симптомы заболевания	Срок появления
Маревые (<i>Chenopodiaceae</i>)			
1.	Марь (<i>Chenopodium quinoa</i>)	желтые кольцевые пятна	7-9
2.	Марь (<i>Ch. amaranticolor</i>)	желтые кольцевые пятна	10-11
3.	Марь (<i>Ch. murale</i> L.)	желтые хлоротичные пятна	6-7
4.	Марь белый (<i>Ch. album</i> L.)	желтые кольцевые пятна	10-11
Пасленовые (<i>Solanaceae</i>)			
1.	Дурман (<i>Datura stramonium</i>)	желтая сетчатая мозаика	10-12
2.	Белена (<i>D. Metel.</i> L)	желтая сетчатая мозаика	18-20
3.	Табак сорт <i>N. barley</i>	Мозаика	20-22
4.	Табак сорт <i>N. glutinosa</i>	желтые хлоротичные пятна и желтая мозаика	14-16
5.	Табак сорт <i>N. benthamiana</i>	желтые кольцевые пятна	16-18
6.	Петуния (<i>Petunia hybrida</i>)	-	-
7.	Баклажан (<i>Solanum melon-gena.</i> L)	-	-
8.	Балгарский перец (<i>Capsicum annum</i>)	-	-
9.	Физалис (<i>Nicandra physalodes.</i> L)	некротические пятна	14-16
Бобовые (<i>Leguminosae</i>)			
1.	Горох обыкновенный (<i>Pisum sativum</i>)	Зеленая мозаика	18-20
2.	Фасоль обыкновенная (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	-	-
3.	Вигна чёрноглаз (<i>Vigna sinensis</i>)	-	-

На основе полученных результатов было установлено, что при механической инокуляции большинства тест-индикаторных растений

проявились характерные для вируса кольцевые пятна. В частности, у представителей семейства *Chenopodiaceae*, таких как *Chenopodium quinoa* (Рис. 2), *Ch. amaranticolor* и *Ch. album*, через 7-11 дней на листьях появились желтые кольцевые пятна. В то время как у *Ch. murale* наблюдались желтые хлорозные пятна на листьях уже через 6-7 дней, что отличало его от других видов. Результаты механической инокуляции остальных тест-индикаторных растений представлены в таблице (Таб.1).

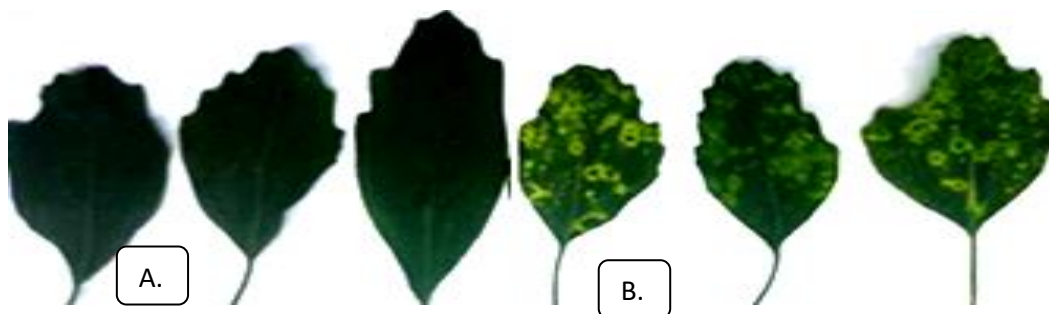


Рисунок 2. Симптомы болезни ВОС на листьях *Ch. quinoa*.

На рисунке: А - здоровые растения; В- растения с симптомами ВОС на листьях.

Из проведённых исследований можно сделать следующие выводы: ВОС был изолирован от хозяина растения с помощью механической инокуляции и с помощью тест-индикаторных растений был биологически идентифицирован на основе появления характерных для вируса хлорозных и кольцевых пятен.

На сегодняшний день молекулярно-генетические методы широко используются для диагностики фитопатогенных вирусов, и поэтому в третьем разделе работы приведены результаты исследования диагностики ВОС, распространённого в экологических условиях Ташкентской области, с использованием метода ОТ-ПЦР и определения его штамма.

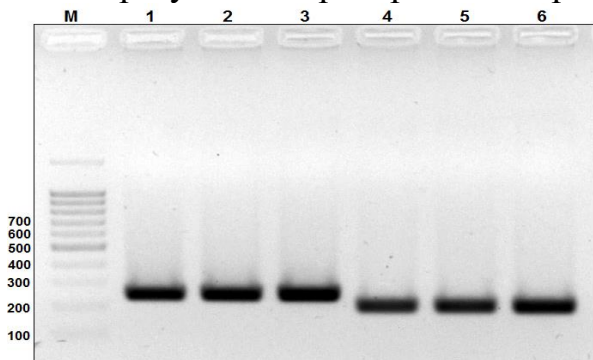
Молекулярная диагностика вируса и определение штамма. Для этого были собраны образцы растений, на которых были симптомы заболевания, такие как желтые хлорозные и кольцевые пятна (Рис.1), и проведена молекулярная идентификация с использованием метода ОТ-ПЦР. Образцы растений, собранные в лиофильно-высушенном виде отправлены в лабораторию «Биохимия растительных вирусов» Московского государственного университета имени Ломоносова, где совместно с доктором биологических наук, профессором С.Н. Чирковым, была проведена молекулярная диагностика.

Для молекулярной диагностики использовались два типа праймеров: P1/P2, последовательность которых приведена ниже (продукт ПЦР 243 б.п.): FP:ACCGAGACCACTACACTCCC/RP2:CAGACTACAGCCTCGCCAGA (Wetzel et al., 1991).

Для определения штамма использовался праймер P1/PD, его последовательность приведена ниже (продукт ПЦР 198 б.п.): FP1: ACCGAGACCACTACACTCCC/RPD:CTTCAACGACACCCGTACGG (Olmos et al., 1997). Результаты ОТ-ПЦР были визуализированы на электрофорезной установке в 2% агарозном геле, и полученный электрофореграмм показан на изображении (Рисунок 3).

Проведённая молекулярная диагностика вируса была выполнена с использованием специального праймера P1/P2 для наиболее распространённых штаммов вируса.

В результате проверки всех трёх образцов (Рис.3, 1-3) было установлено,



Электрофорез был проведён в 2%-м агарозном геле. М - 100 б.п DNA ladder Plus. На линиях 1-3 показаны образцы, собранные с растений ольховника с желтыми хлоротическими и кольцевыми пятнами; на линиях 4-6 представлены результаты диагностики для определения штамма (образцы 1, 2, 3). Для диагностики ВОС использовались праймеры P1/P2 (Wetzel et al., 1991), а для диагностики штамма - праймеры P1/PD (Olmos et al., 1997). Условия ПЦР были выполнены в соответствии с методикой, изложенной А.Шевелевой (Sheveleva et al., 2020).

Рисунок 3. Молекулярно-генетическая идентификация ВОС с методом ОТ-ПЦР

что все они заражены ВОС, и продукт ПЦР составил 243 б.п. Таким образом, проведённый анализ подтвердил, что вирус является штаммом D ВОС.

Молекулярно-генетическая идентификация и филогенетический анализ изолятов ВОС на основе гена белковой оболочки. Молекулярно-генетическая идентификация и филогенетический анализ изолятов ВОС на основе гена белковой оболочки. При дальнейших исследованиях нами были проведены молекулярно-генетическая идентификация изолятов ВОС на основе гена оболочки вируса и филогенетический анализ. Для этого образцы были молекулярно идентифицированы с использованием метода ОТ-ПЦР. Условия ПЦР были выполнены согласно методике А.Шевелевой (2020). Проверка ПЦР была проведена с использованием специального праймера N1bF/4CPR1 для геномной области белковой оболочки вируса (CP) (Cter)N1b-CP-3'-NCR, в результате чего был получен продукт ПЦР размером 1264 б.п. Последовательности нуклеотидов приведены ниже:

N1bF: CTTGAATGGGACAGATCAAATGA;

4CPR1: GAGAAAAGGATGCTAACAGGAATC (Wallis et al., 2007; Matic et al., 2011, Chirkov et al., 2016; A.Sheveleva, 2020).

Продукт ПЦР был очищен из геля и подготовлен для секвенирования, которое было выполнено в лаборатории (Евроген, Россия). Полученные последовательности нуклеотидов использовались для филогенетического анализа вирусных изолятов. Результаты биоинформатического анализа показали, что в экологических условиях Узбекистана распространены три изолята ВОС, которые отличаются молекулярно-генетическими характеристиками и были зарегистрированы в международном ген банке NCBI под номерами PPV Uz1 (MT038048.1), Uz2 (MT038050.1) и Uz3 (MT038049.1) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). На основе нуклеотидных последовательностей этих изолятов было построено филогенетическое дерево с использованием программы MEGA11 (Рис.4). При построении дерева был использован штамм D, который на данный момент является основным и зарегистрирован в базе данных NCBI, так как более 10 филогенетического дерева видно, что изолятам штамма D принадлежат четыре отдельные

филогенетические ветви.

Например, изолят MT038048.1 - из Узбекистана, изолят LT600780.1 - из Казахстана и изолят MYY251495.1- из Чешской Республики образуют один кластер. Кроме того, если провести анализ этого кластера, можно увидеть, что изоляты MT038048.1 и MT038050.1 из Узбекистана, LT600780.1 - из Казахстана и GU461890.1 - из Словакии расположены на одной филогенетической ветви, а изоляты MT038049.1 - из Узбекистана и MYY251495.1 - из Чешской Республики на отдельной ветви. Это свидетельствует о том, что эти изоляты близки по происхождению и эволюции. Близость остальных изолятов также показана в филогенетическом дереве (рис. 4).

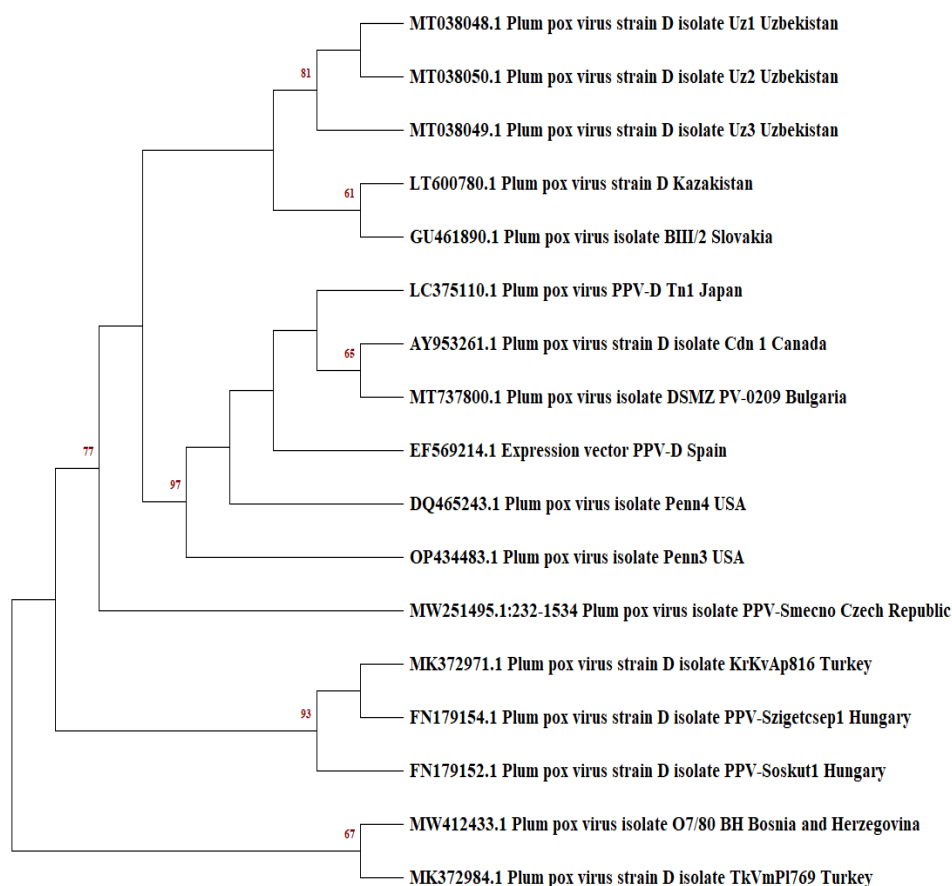


Рисунок 4. Филогенетическое дерево изолятов ВОС, выявленных в экологических условиях Узбекистана

В целом, на основе проведённых исследований можно сделать следующие выводы: молекулярно-генетическая идентификация вируса была выполнена с использованием специального праймера NIBF/4CPR1, который ориентирован на участок генома, кодирующий белковую оболочку вируса (CP) (Cter) NIB-CP-3'-NCR. По результатам секвенирования было выявлено три изолята, отличающиеся молекулярно-генетическими характеристиками (Рис. 4).

По результатам исследования изменений в последовательности нуклеотидов важно изучить, как эти изменения влияют на состав аминокислот в белковом составе капсида вируса. Поэтому в дальнейших исследованиях были проведены сравнительные анализы аминокислотного состава белковой оболочки изолятов с помощью программного обеспечения FASTA (Рис.5).

Биоинформатический анализ аминокислотного состава вирусных изолятов показал, что из 14 точек мутации, обнаруженных в нуклеотидной последовательности, 4 изменения были зафиксированы в составе аминокислот белковой оболочки вируса. В частности, на первой точке изолят MT038049.1 содержал аспарагин (D), а другие изоляты содержали - глицин (G). На второй точке изолят MT038048.1 и LT600780.1 содержали - валин, в то время как у изолятов MT038050.1 и MT038049.1 было зафиксировано изолейцин (I). Остальные изменения показаны на Рисунке 5.

```

MT038050.1      NGMEPICASMVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
MT038049.1      -----MVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
MT038048.1      -RMEAICASMVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
LT600780.1_8308-9610 -RLEAICASMVEAWGYKELLREIRKFYSWVLEQAPYNALSKDGKAPYIAETALKKLYTDT
                  *****
MT038050.1      EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
MT038049.1      EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
MT038048.1      EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
LT600780.1_8308-9610 EASETEIERYLEAFYNDINDDGESNVVVHQADEREDEEEVDAGKPIVVTAPAATSPILQP
                  *****
MT038050.1      PPVIQAPARTTAPMFNPIFTPATTPATKPVSVQVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
MT038049.1      PPVIQAPARTTAPMFNPIFTPATTPATKPVSVQVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
MT038048.1      PPVIQAPARTTAPMFNPIFTPATTPATKPVSVQVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
LT600780.1_8308-9610 PPVIQAPARTTAPMFNPIFTPATTPATKPVSVQVSGPQLQTFGTHGNEDASPSNSNALVN
                  *****
MT038050.1      TNRDRDIDAGSIGTFTVPRCLKAMISKLSLPKVKGKAIMNLNHLAHYSPAQVDLSNTRAPQ
MT038049.1      TNRDRDIDAGSIGTFTVPRCLKAMTSKLSLPKVKGKAIMNLNHLAHYSPAQVDLSNTRAPQ
MT038048.1      TNRDRDIDAGSIGTFTVPRCLKAMTSKLSLPKVKGKAIMNLNHLAHYSPAQVDLSNTRAPQ
LT600780.1_8308-9610 TNRDRDIDAGSIGTFTVPRCLKAMTSKLSLPKVKGKAIMNLNHLAHYSPAQVDLSNTRAPQ
                  *****
MT038050.1      SCFQTWYEGVKRDYDVTDDSESIILNGLMVWCIENGTSPNINGMWVMDGETQVEYPIKP
MT038049.1      SCFQTWYEGVKRDYDVTDDSESIILNGLMVWCIENGTSPNINGMWVMDGETQVEYPIKP
MT038048.1      SCFQTWYEGVKRDYDVTDDSESIILNGLMVWCIENGTSPNINGMWVMDGETQVEYPIKP
LT600780.1_8308-9610 SCFQTWYEGVKRDYDVTDDSESIILNGLMVWCIENGTSPNINGMWVMDGETQVEYPIKP
                  *****
MT038050.1      LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNIEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
MT038049.1      LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNIEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
MT038048.1      LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNIEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
LT600780.1_8308-9610 LLDHAKPTFRQIMAHFSNVAEAYIEKRNIEKAYMPRYGIQRNLTDYSLARYAFDFYEMTS
                  *****
MT038050.1      TTPVRAREAHIQKAAALRNVQNRFLGDLGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
MT038049.1      TTPVRAREAHIQKAAALRNVQNRFLGDLGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
MT038048.1      TTPVRAREAHIQKAAALRNVQNRFLGDLGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
LT600780.1_8308-9610 TTPVRAREAHIQKAAALRNVQNRFLGDLGNVGTQEEDTERHTAGDVNRNMHNLGVRGV
                  *****
CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

Рис. 5. Сравнительный анализ аминокислотного состава белковой оболочки ВОС

На основании этой последовательности при сравнении аминокислотного состава белковой оболочки разных изолятов, выделенных из других регионов мира, было установлено, что между ними существует ряд различий. В частности, Arg - Uzb2 MT038050 и Uzb3 MT038049 изолят 22, Босния MW412433 изолят 25 и другие изоляты 23, His - Uzb1,2,3 MT038048 и Босния MW412433 изолят 9, Japan LC375110 и другие изоляты 8, было обнаружено, что Lys-Bosnia MW412433-20, а остальных изолятов-19.

В общем, по результатам данного исследования можно сделать вывод, что изолят, выделенный в нашей стране, по аминокислотному составу белковой оболочки близок многим изолятам, но не является идентичным. Узбекский изолят ВОС на 98,42% гомологичен с изолятом, выделенным в Казахстане и

согласно филогенетическому дереву, он располагается в одном и том же ответвлении, что позволяет сделать вывод: изоляты, распространенные в нашей стране, могут происходить из того же региона или иметь общий предок.

Изучение влияния вируса на некоторые морфофизиологические характеристики растения. Фермент пероксидаза также играет особую роль в механизме защиты растений, причем пероксидаза характеризуется переносом водорода от молекулы субстрата к пероксидам за счет окислительно-восстановительной реакции. В результате заболевания повышение системной активности фермента пероксидазы осуществлялось у табака, высокоустойчивого к вирусу табачной мозаики, и выявляло симптомы системной резистентности иммунитета растений (Джавлиева, 2023). Поэтому в данной работе изучена активность фермента пероксидазы в листьях растений, зараженных вирусом в разной степени (слабо, средно и сильно) и здоровых растениях (табл. 2).

Таблица 2

Динамика активности пероксидазы в листьях сливы, зараженных ВОС разной степени

Тестируемые образцы	Тип фермента		
	n	ПССКМ *** M± m	ПР M± m
Контроль*	3	0,119±0.01*	0,155±0.04
Слабо зараженный	4	0,134±0.01	0,194±0.02*
Средно зараженный	4	0,144±0.02*	0,270± 0.03*
Сильно зараженный	4	0,158±0.05	0,383±0.11

Примечание: в качестве **контроля использовались образцы листьев здоровых растений. В таблице, помеченные "****", сокращения обозначают тип пероксидазы, слабое связанное с клеточной мембраной (ПССКМ) и растворимая пероксидаза (ПР). *P<0,05 - значимо по сравнению с контролем; n=3-4.

Результаты проведенного исследования показали, что активность ферментов в листьях растений, зараженных вирусом в различной степени, изменилась в зависимости от степени заражения по сравнению с листьями здоровых (контрольных) растений. В частности, активность формы пероксидазы, слабосвязанной с клеточной мембраной, была в 1,3 раза выше по сравнению с контролем, а активность растворимой формы увеличилась в 2,4 раза. У растений с слабым заражением вирусом было зафиксировано снижение количества пероксидазы, слабосвязанной с клеточной мембраной, и вдвое увеличенная активность растворимой формы. Эти результаты были подтверждены в дальнейших экспериментах (Таблица 2). Следовательно, полученные результаты показывают, что вирус влияет на физиологические характеристики растения, в частности, на активность пероксидазы, вызывая ее повышение.

Пигменты участвуют не только в процессе фотосинтеза, но и выполняют функцию блокировки реакции свободных радикалов в клетке с другими чужими веществами и защищают от вредных воздействий. Заражение вирусом

часто приводит к снижению содержания пигментов в листьях (Т.Хусанов, 2020). Поэтому в последующих исследованиях было изучено влияние ВОС на количество пигментов в листьях сливы. Для этого были исследованы изменения содержания хлорофилла а, b и каротиноидных пигментов в листьях сливы, зараженных вирусом на различных стадиях (Таблица 3).

Из таблицы видно, что под воздействием вируса количество хлорофилла "а" в листьях сливы сорта Исполинский уменьшилось на 8,9%, а в сорте Венгерка - на 34,7%. Количество хлорофилла "б" уменьшилось на 41,8 % в сорте Исполинский и на 51,2% в сорте Венгерка, а содержание каротиноидов снизилось на 17,8% в сорте Исполинский и на 27,5% в сорте Венгерка. Данные о содержании пигментов в листьях в отношении сухой массы растений приведены в таблице (таблица 3).

Таблица 3

Динамические изменения содержания пигментов в растениях сливы, инфицированных ВОС

Сорт	Образец	n	Количество пигментов в листьях, мг/г		
			Хлорофилл-“а”	Хлорофилл-“б”	Каротиноиды
Исполникий	Контроль**	3	1,71±0,09	1,17±0,07	0,87±0,04
	Заражённые	3	1,60±0,04*	0,68±0,05*	0,63±0,03*
Венгерка	Контроль**	3	2,21±0,08	1,21±0,03	0,84±0,03
	Заражённые	3	1,54±0,07*	0,59±0,01*	0,69±0,01*

Примечание: **контроль здоровое растение. *P<0,05, n=3.

В целом, на основе полученных результатов можно сделать следующие выводы: в ходе исследований было изучено влияние вируса на морфофизиологические характеристики растений. В результате было установлено, что с увеличением степени заболевания активность пероксидазы типа ПССКМ в листьях растений увеличилась в среднем в 1,3 раза, а активность растворимой формы - в 2,4 раза. Количество пигментов зависело от сорта сливы: содержание хлорофилла "а" уменьшилось на 8,9-34,7%, хлорофилла "б" значительно снизилось на 41,8-51,2%, а каротиноидов уменьшилось на 17,8-27,5%. Результаты данных доказывают снижение эффективности фотосинтетических процессов в заражённых растениях, что, в свою очередь, может привести к снижению их урожайности.

Разработка метода получения чистого гомогенного препарата ВОС. Для этого в качестве исходного вирусного материала был взят образец растения сливы, инфицированного вирусом, который затем был заражен растением *Datura stramonium* для выделения вирусного материала. После этого вирус был очищен для анализа (см. рис. 6).

Следующий этап очистки вируса - его извлечение из клеток. Этот этап отличается различием в методах. В данном случае вирусный образец был обработан в гомогенизаторе 10 минут при pH 7,4, 10 mM трилон-В, 1 mM tris-

HCl и 0,01 М фосфатном буфере. После этого вирусная жидкость была отфильтрована через четырёхслойную марлю и центрифугирована при 6000 об/мин в течение 25 минут, чтобы отделить клеточные компоненты, и получен супернатант (рис. 6).

Для осаждения пигментов и других высокомолекулярных веществ в супернатанте - над осадочная жидкость (НОЖ) был проведён этап денатурации. Для этого в раствор был добавлен хлороформ в соотношении 1/8, смесь тщательно встряхивалась в течение 20 минут, затем подвергалась центрифугированию при 6000 об/мин в течение 30 минут. После центрифугирования из пробирки была аккуратно отделена верхняя вирусная фракция из трёхслойной суспензии и помещена в отдельную чистую посуду. Для отделения и повышения концентрации вируса был использован насыщенный раствор аммонийного сульфата (25%, соотношение 1:0,5 мл), после чего вирус был сконцентрирован с помощью центрифугирования. Это был частично очищенный вирусный препарат. Для получения чистого вирусного препарата супернатант прошёл через колонку с заполнением гелем HW-TSK 65. Спектрофотометрический анализ фракций показал, что ВОС начинает выходить из хроматографической колонки с 18-й фракции, достигая максимума в 24-й фракции, а затем его концентрация начала уменьшаться. С 35-й фракции начали выделяться растительные белки.

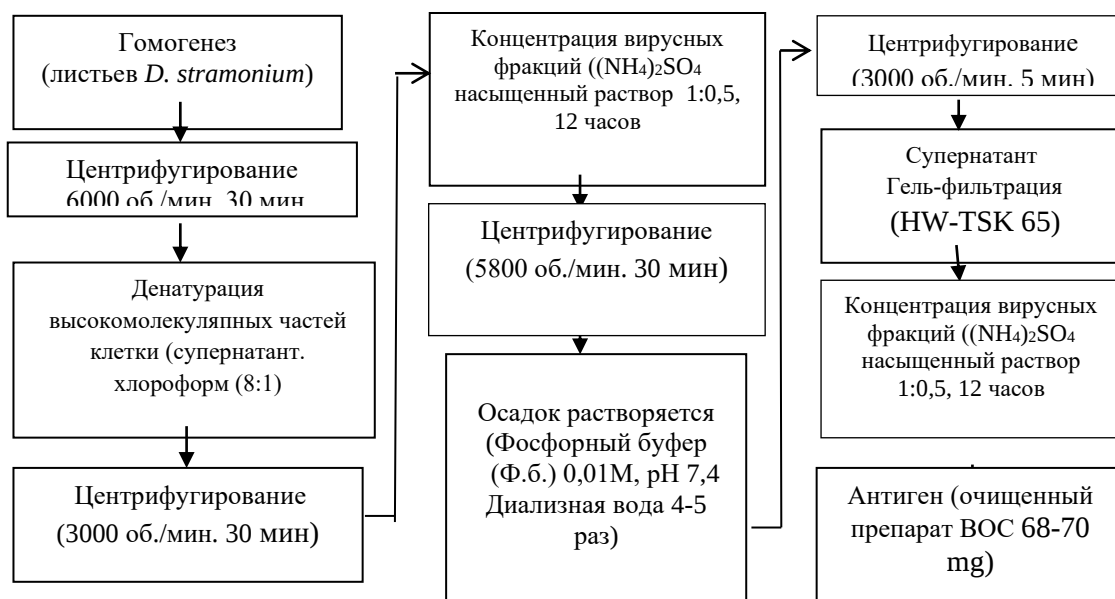


Рис.6.Схема получения чищенного препарата ВОС

Заражённость фракций была проверена на растениях *D. stramonium* и *S. quinoa*, и оказалось, что фракции 18-25 были высокоинфекционными. Спектрофотометрический анализ препарата показал, что максимальное поглощение света происходило на 260 нм, минимальное - на 245 нм, а отношение 260/280 нм было 1,2, что соответствует вирусам с симметричной спиральной структурой (рис. 7).

Тест-индикатор, проведённый на растениях, подтвердил, что в растении *Chenopodium quinoa* появились кольцевые пятна, характерные для ВОС, и не наблюдались другие признаки, что свидетельствует о чистоте препарата (рис. 2).

Иммунологический анализ препарата, специфической сыворотки, а также образование линии осаждения между препаратом и специфической сывороткой, напротив отсутствие образования линии осаждения с антигеном здорового растения, подтверждает, что выделенный препарат является гомогенным (рис. 8).

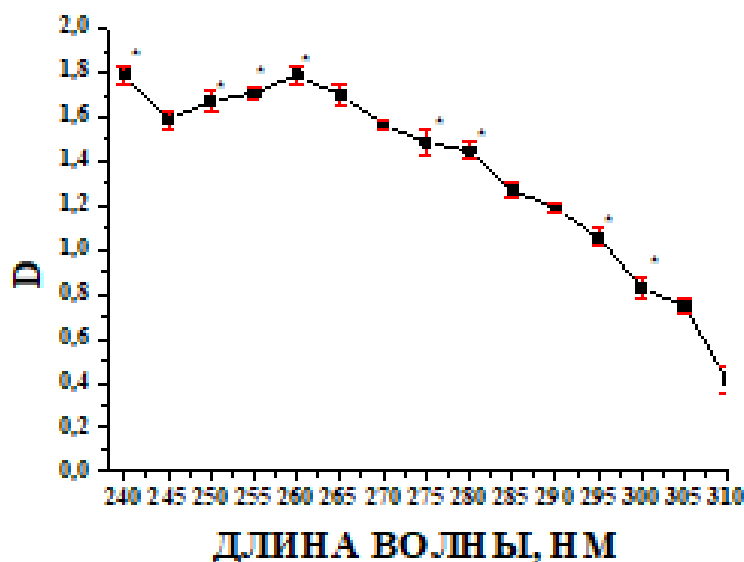


Рис.7. Спектрофотометрический анализ чистого препарата вируса

Таким образом, по результатам проведённого исследования можно сделать следующие выводы: был получен очищенный препарат ВОС, и проведён анализ его чистоты.

Спектрофотометрический анализ показал, что максимальная длина волны поглощения препарата составляет 260 нм, минимальная — 245 нм, а отношение 260/280 — 1,2, что характерно для вирусов с спиральной симметрией.

Иммунохимические анализы на основе антигена здорового растения показали, что линия осаждения не образуется с сывороткой, специфичной для вируса, а также появление кольцевых пятен на индикаторных растениях свидетельствует о том, что вирусный препарат является гомогенным.

Получение специфической антисыворотки и определение её титра. Как и другие вирусы, ВОС тоже сохраняет антигенные детерминанты на своём белковом капсиде (Файзиев, 2020; Жовлиева, 2024). При введении очищенного гомогенного вирусного препарата в организм животных синтезируются защитные белки, то есть антитела. Для получения иммунной антисыворотки в лабораторных условиях кролики были иммунизированы ВОС очищенным

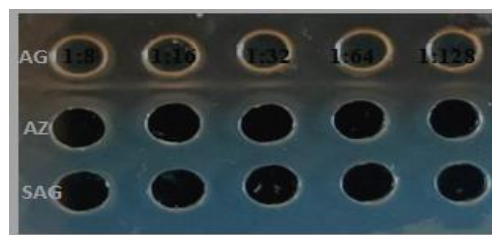


Рис.8. Иммунологический анализ чистого препарата ВОС. AG на рисунке — вирусный антиген, (чистый вирусный препарат); AZ — специфическая сыворотка, подготовленная против вируса; SAG — образец, приготовленный на основе антигена

препаратом в 5 этапов по двум схемам (А и В), описанным в материале и методах исследования (таблица 4).

Продолжительность инъекций составила 16 дней. После определения содержания антигена (ВОС) в 1 мл вирусной пробы, который составил 303 мкг с использованием спектрофотометрического метода, препарат был использован для пятикратной иммунизации (4-таблица).

Через 10 дней после последней инъекции было взято 10 мл крови из

Таблица 4

Порядок и схема инъекции вирусного антигена кролику

Иммуноген	Порядок и количество введения инъекции (мг)	Доза антигена	Схема инъекции
Чистый препарат ВОС	1/151	0,5 мл	ВОС+NaCl; ВОС+Vetozal <i>Euro</i> 10%, подлопаточная мышца задней ноги
	2/212	0,7 мл	
	3/303	1,0 мл	
	4/455	1,5 мл	
	5/606	2,0 мл	

правой ушейной вены кролика, и титр антисыворотки был определен методом ДИД (Двойной иммунодиффузионный анализ) (рис. 9).

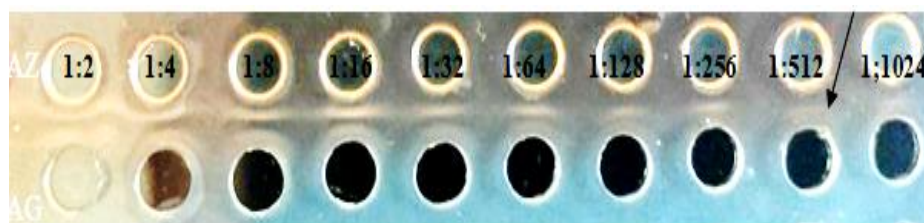


Рис.9. Определение титра сыворотки с помощью метода двухсторонней иммунодиффузии (в 1% агар-агарном геле). На рисунке: AZ-антитела, приготовленные против ВОС; AG-антиген вируса

Для получения антисыворотки использовались два кролика породы шиншилла, и полученные результаты показали, что титр антител в сыворотке, выделенной из первого кролика, получившего инъекцию чистого вирусного препарата с физиологическим раствором, составил 1:64 по методу двойной иммунодиффузии (ДИД), в то время как из второго кролика, которому был введен препарат с добавлением 10% иммуно-модулятора Vetozal Euro, титр антител составил 1:512. Полученная специфическая сыворотка была использована для вирусной диагностики.

Для определения резерватор растений ВОС были взяты образцы 24 видов культурных и диких растений из 12 семейств, растущих на полях, где поблизости растёт слива, заражённая ВОС. Полученные образцы диагностированы методом двойной иммунодиффузии. В ходе исследований было установлено, что вирус сохраняется в таких видах, как слива, абрикос,

вишня, а также в некоторых видах, не относящихся к этим семьям, таких как *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor* и *Datura stramonium* из семейства пасленовых. Кроме того, с помощью метода ДИД установлены новые резерваторные растения, такие как выюнок полевой (*Convolvulus arvensis*) и клевер луговой (*Trifolium pretense*), которые растут в экологических условиях Узбекистана.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных научно-исследовательских работ на тему «Изучение влияния вируса оспы сливы на некоторые морфофизиологические свойства растений и его диагностика» были сделаны следующие выводы:

1. В ходе мониторинга в садах Ташкентской области у образцов сливы были обнаружены такие вирусные симптомы, как: зеленая мозаика по жилкам и мякоти листа, скручивание листовой пластины, желтая хлоротичная пятнистость и кольцевая мозаика, на основе мониторинга симптомов наибольшую корреляцию с ВОС показали хлоритические пятна и кольцевая мозаика на листьях.

2. ВОС биологический идентифицирован, доказан, что при механической инокуляции большинства тест-индикаторных растений проявились симптомы характерные для вируса кольцевые мозаики на листьях. В частности, у представителей семейства *Chenopodiaceae*, таких как *Chenopodium quinoa*.

3. Молекулярно-генетической идентификация выделенных изолятов ВОС подтверждала, что они относятся к штамму D, а анализ нуклеотидной и аминокислотной последовательности гена белковой оболочки показал, что изолят MT038048.1 (Uz1), MT038050.1 (Uz2) и MT038049.1 (Uz3) являются различными, но близкими изолятами, произошедшими от одного и того же предка, расположенного на близких филогенетических ветвях.

4. В результате исследования по определению влияние ВОС на морфофизиологические особенности растений, установлено, что у заражённых образцов сливы с ВОС активность пероксидазы увеличилась в 1,3 раза, а в растворимой форме в 2,4 раза по сравнению с контролем; содержание хлорофилла «а» в листьях снизилось на 8,9-34,7%, хлорофилла «б» на 41,8-51,2%, а каротиноидов - на 17,8-27,5%, что приводит замедление процесса фотосинтеза, а также снижение продуктивности растений.

5. Разработан метод получения чистого гомогенного препарата ВОС и спектрофотометрический анализ препарата подтвердил, что максимальное поглощение света составляет 260 нм, минимальное-245 нм, а соотношение 260/280 составляет 1,2, что характерно для вирусов, имеющих спиральную симметрию, а также с этим методом доказана гомогенность препарата.

6. На основе приготовленного чистого вирусного препарата готовили вирусспецифическую сыворотку из кроличий антитело и установлен, что титр сыворотки составляет у контрольного кролика - 1:64, у экспериментального кролика - 1:512, приготовленной путем инъекции иммуномодулятора *Vetozal euro* 10% методом ДИД.

7. Специфическая антисыворотка для ВОС была использована для диагностики вируса и определения природных резерваторных растений, что позволило выявить новые природные резерваторы вируса, такие как выюнок полевой (*Convolvulus arvensis*) и клевер луговой (*Trifolium pratense*), растущие в экологических условиях Узбекистана.

**CHIRCHIK STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY
SCIENTIFIC COUNCIL FOR THE AWARD OF ACADEMIC DEGREES
PHD.03/27.09.2024B.82.03 SCIENTIFIC COUNCIL NUMBER**

CHIRCHIK STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY

SATTOROV MUZAFFAR SOATOVICH

**STUDY OF THE IMPACT OF PLUM POX VIRUS ON SOME MORPHO
PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PLANTS AND ITS
DIAGNOSIS**

03.00.04-Microbiology and virology

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOKTOR OF PHILOSOPHY (PhD) OF
BIOLOGICAL SCIENCE**

Chirchik-2025

The title of the Doctor of Philosophy (PhD) dissertation has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan with registration number of B2022.4 PhD/B803

The dissertation has been carried out at the Chirchik State Pedagogical University.

The abstract of dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) on the webpage of the Scientific Council (www.chdpu.uz.ilmiy-kengash) and on the website of «ZiyoNet» Information and education portal (www.ziyo.net)

Scientific supervisor: **Fayziev Vokhid Bakxramovich**
Doctor of biological sciences, professor

Official opponents: **Kodirova Zarifa Nosirovna**
Doktor of philosophy in biological sciences,

Khujamshukurov Nortoji Abdikholikovich
Doctor of biological sciences, professor

Leading organization: **Samarkand State University named after Sharof Rashidov**

The defense of the dissertation will take place at the meeting of the Scientific Council PhD.03/27.09.2024.B.82.03 at Chirchik State Pedagogical University on “_____” _____ 2025, at _____ o'clock. (Address: 111720, Tashkent region, Chirchik city, Amir Temur street, house 104. Phone: (+99870) 712-27-55; Fax: (+99870) 712-45-41; E-mail: chdpukengash@umail.uz)

The dissertation can be reviewed at the Information Resource Center of Chirchik State Pedagogical University. (Registered under number _____) Address: 111720, Tashkent region, Chirchik city, Amir Temur street, house 104. Phone: (+99870) 712-27-55; Fax: (+99870) 712-45-41.)

The dissertation abstract was distributed on “_____” _____ 2025.
(Registry record No. _____ of the dated “_____” _____ 2025).

S.T.Jurayev
Deputy chairman of the Scientific Council for awarding of scientific degrees, Doctor of Biological Sciences (DSc), Professor

A.K. Buronov
Scientific Secretary of the Scientific Council on Award of Scientific Degrees, Doctor of Philosophy of Biological Sciences (PhD), Associate Professor

Kh.A. Muminov
Chairman of the Scientific Seminar of the Scientific Council on Awarding Scientific Degrees, Doctor of Biological Sciences (DSc), Associate Professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the research work. The objective of the research is to isolate the plum pox virus, study its impact on some morpho physiological characteristics of the plant, assess its damage, and develop its diagnosis.

The object of research: the isolates of plum pox virus obtained from plum plants in the climatic conditions of the Tashkent region were used as the research object.

The scientific novelty of the research is as follows:

for the first time in the conditions of Tashkent region, isolates of PPV were isolated and the level of spread was determined;

the isolated virus was molecularly-genetically identified by PCR method and it was proved that it belongs to the D strain and that they are different isolates;

the nucleotide sequence of the gene in the protein shell of isolated local isolates and the amino acid composition of the protein synthesized on this basis were determined by comparative analysis with similar isolates;

the method of preparing specific rabbit serum based on a pure virus preparation was improved, and the possibility of preparing high-titer specific serum using this method was proved by immunological and molecular-genetic methods;

as a result of the use of the prepared high-titer serum in the diagnosis of the virus, wild plants such as *Convolvulus arvensis*, *Trifolium pretense* were found to be new reservoir plants of the virus spread in the climatic conditions of our republic.

Implementesion of the research results:

Based on the results of scientific research conducted on the isolation, study of the characteristics and diagnostics of viruses that infect plum plants:

the isolate of plum pox virus distributed in Uzbekistan was transferred to the gene pool “Collection of unique scientific objects of phytopathogens and other microorganisms” at the Institute of Genetics and Experimental Biology of Plants of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan (reference number 4/1255-610 of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated March 15, 2024). As a result, it was possible to enrich the gene pool of viruses in the collection and form an electronic database information and analysis system;

three distinct isolates of plum pox virus, which are distributed in the plum agrobiocenosis, were identified using molecular genetic methods and placed in the International Gene Bank - NCBI under the names PPVUzb1, PPVUzb2 and PPVUzb3 (reference of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan dated October 8, 2024 No. 05/06-02-861). As a result, it was possible to use the nucleotide sequence in the description of new types of viruses across regions;

a pure preparation of isolates isolated from plum plants was obtained in laboratory conditions, a high-titer serum specific for the virus was prepared, and sources of latent infection were identified and introduced into virus diagnostics on a total area of 10.4 hectares in the Parkent and Kibray districts of the Tashkent region. (Reference of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan dated October 8, 2024 No. 05/06-02-861). As a result, it allowed for early detection and prevention of the spread of plum pox virus in farms specializing in horticulture.

The structure and scope of the dissertation. The content of the dissertation consists of an introduction, three chapters, a conclusion, a list of references and appendices. The volume of the dissertation is 107 pages

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS
I bo'lim (I часть; Part I)

1. Sattorov M.S., Sheveleva A., Fayziev V., Chirkov S. First report of *plum pox virus* on plum in Uzbekistan // *Plant Disease* (early view). USA. №104, 2020. -P. 104-105. (Scopus).

2. Sattorov M., Fayziyev V.B. Virus bilan turli darajada kasallangan olxo'ri o'simligida peroksidaza fermenti aktivligini aniqlash // O'zbekiston agrar fani xabarnomasi. - Toshkent, 2022. - №6(6). -B. 126-129. (03.00.00; №8). <https://oak.uz/pages/4802>).

3. Sattorov M.S., Fayziev V.B. Peroksidaza fermentini aktivligini turli darajada virus bilan kasallangan olxo'ri o'simligida aniqlash // *Agro inform. Agro-iqtisodiy, ilmiy-ommobop jurnal*. - Toshkent, 2022. №4(6). -B. 40-43. (03.00.00; №12). <https://oak.uz/pages/4802>).

4. Sattorov M.S., Fayziyev V.B., Xoldorov J. Monitoring of plant virus diseases // *Modern Biology and Genetics*. - Chirchik, 2023. - №4(6). - P. 39-42. (03.00.00. №12). <https://oak.uz/pages/4802>).

5. Sattorov Muzaffar, Fayziyev Vohid A Comparative Analysis of the Amino Acid Composition of Some Viruses Causing Disease Plum Plants // *International Journal of Virology and Molecular Biology*. USA. 2024. №13(4), -P. 54-57. (03.00.00. №12) <https://oak.uz/pages/4802>).

II bo'lim (II часть; Part II)

6. Sattorov M.S., Fayziev V.B. Olxo'ri chechagi virusini immunoferment analizi usuli yordamida aniqlash// *Academic Research In Educational Sciences*.-Toshkent, 2020. Vol:1. №3. B. 130-134.

7. Сатторов М.С. Олхўри чечаги вирусини ўрганишда шўра ўсимлиги индикатор сифатида ва унинг айрим хусусиятлари// Табиий фанларнинг долзарб масалалари мавзусидаги II-халқаро илмий-назарий анжуман материаллари тўплами. - Нукус, 2021. Б. 110-112.

8. Sattorov M.S., Fayziev V.B. Olxo'ri chechagi virusining iqtisodiy zarari va unga qarshi kurashish choralari// Табиий фанларнинг долзарб масалалари мавзусидаги II-халқаро илмий-назарий анжуман материаллари тўплами Нукус, 2021. – Б. 84-86.

9. Файзиев В.Б., Сатторов М.С., Сафаров И.В., Қораев С.Б. Тошкент вилояти боғдорчилик хўжаликларида олхўри чечаги вирусининг тарқалиши ва касаллик белгиларини имунодиогностика усулида аниқлаш// *Qishloq xo'jaligi va veterinariyada mikrob biotexnologiyalaridan foydalanish* - Qarshi, 2021-B. 109-111.

10. Sattorov M.S., Fayziev V.B. Olxo'ri chechagi virusi bilan zararlangan olxo'ri o'simligining ayrim fiziologik xususiyatlarini aniqlash// *Periodica Journal of Modern Philosophy*. Poland, 2022. - P. 52-55.

11. Sattorov M.S., Fayziyev V.B., Tangriyev T.Ch. Determination of certain physiological characteristics of pump plant diseased by plum pox virus// «Становление и развитие экспериментальной биологии в Таджикистане» Международной научной конференции. - Душанбе, 2022. С. 96-97.

12. Sattorov M.S., Fayziyev V.B. Olxo'ri chechagi virusining tabiiy sirkulyatsiyasi hamda o'simlik bargi va mevalaridagi alomatlari// "Yangi o'zbekistonda pedagogik ta'lim innovatsion klasterini rivojlantirish istiqbollari" mavzusidagi xalqaro ilmiy-amaliy anjuman materiallari. - Chirchiq, 2022. B. 276-279.

13. Tangriyev T.Ch., Sattorov M.S., Fayziev V.B. Olxo'ri chechagi virusining o'simlikdagi alomatlarining rivojlanish darajasi// "Yangi o'zbekistonda pedagogik ta'lim innovatsion klasterini rivojlantirish istiqbollari" mavzusidagi xalqaro ilmiy-amaliy anjuman materiallari. - Chirchiq, 2022. B. 293-295. Sattorov

14. Sattorov M.S., Tangriyev T.Ch., Fayziev V.B. Olxo'ri chechagi virusining o'simlik bargidagi xlorofil miqdoriga ta'sirini aniqlash// «Инновационные основы сельскохозяйственных и биоэкологических исследований в регионе приаралья» Материалы международной научно-практической конференции. - Нукус, 2023. С. 275-276.

15. M.S., Fayziyev V.B. Olxo'ri chechagi virusining indikator o'simlikdagi kasallik alomatlarini o'rganish// "Zamonaviy biologiyaning dolzarb muammolari yechimlari, istiqbollari va o'qitishda fan-ta'lim integratsiyasi" xalqaro ilmiy-amaliy konferentsiyasi. - Chirchiq, 2023 B. 321-322.

16. Tangriyev T.Ch., Sattorov M.S. Olxo'ri o'simligi virusli kasalliklar monitoringi// Zamonaviy biologiyaning dolzarb muammolari yechimlari, istiqbollari va o'qitishda fan-ta'lim integratsiyasi" xalqaro ilmiy-amaliy konferentsiyasi. - Chirchiq, 2023. B. 345-346.

17. Sattorov M.S., Fayziev V. B., Xoldorov J. X. Abstract Determination of the influence of certain plum disease viruses on the amount of chlorophyll in plant leaves// The modern vector of the development of science Proceedings of the XVI International Scientific and Practical Conference, 2024. P. 7-8.

Avtoreferat «Zamonaviy biologiya va genetika» jurnali tahririyatida
tomonidan tahrirdan o'tkazildi. (22.02.2025-yil)

Nashriyot litsenziyasi:



1390

Bosishga ruxsat etildi 22.02.2025 yil.
Buyurtma № 17/28. Adadi 100 nusxa.
Bichimi 60x84 1/16. Bosma tabogi 2,75.
“Times New Roman” garniturası.
“Zebo prints” MCHJ bosmaxonasida chop etildi.
Toshkent sh., Yashnobod t. 22-harbiy shaxarcha.