

**CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.01/2025.27.12.B.04.05 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI

BAXTIYOROVA MUNIRA SULTONALIYEVNA

**POMIDOR MEVASI JIGARRANG BUJMAYISHI (*TOMATO BROWN
RUGOSE FRUIT VIRUS*) VIRUSINI AJRATISH, XUSUSIYATLARINI
O'RGANISH VA UNING DIAGNOSTIKASI**

03.00.04 - Mikrobiologiya va virusologiya

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

Chirchiq - 2026

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Baxtiyorova Munira Sultonaliyevna

Pomidor mevasi jigarrang bujmayishi (*Tomato brown rugose fruit virus*) virusini ajratish, xususiyatlarini o'rganish va uning diagnostikasi..... 5

Бахтиёрова Мунира Султоналиевна

Выделение, изучение особенностей и диагностика вируса коричневой морщинистости плодов томата (*Tomato brown rugose fruit virus*)..... 21

Bakhtiyorova Munira Sultonaliyevna

Isolation, study of peculiarities and diagnostics of *Tomato brown rugose fruit virus*41

E'lon qilingan ishlar ro'yxati

Список опубликованных работ

List of published works45

CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.01/2025.27.12.B.04.05 RAQAMLI ILMIY KENGASH

CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA UNIVERSITETI

BAXTIYOROVA MUNIRA SULTONALIYEVNA

POMIDOR MEVASI JIGARRANG BUJMAYISHI (*TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS*) VIRUSINI AJRATISH, XUSUSIYATLARINI O'RGANISH VA UNING DIAGNOSTIKASI

03.00.04 - Mikrobiologiya va virusologiya

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

Chirchiq - 2026

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida №B2024.3.PhD/B1239 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.chdpu.uz/ilmiy-kengash) va "ZiyoNet" Axborot ta'lim portalida (www.zivonet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Fayziyev Voxid Baxramovich
biologiya fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

Sherimbetov Anvar Gulmirzayevich
biologiya fanlari doktori, professor

Maxmudov Toxir Halimovich
biologiya fanlari falsafa doktori (PhD), kat.i.x.

Yetakchi tashkilot:

Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universiteti

Dissertatsiya himoyasi Chirchiq davlat pedagogika universiteti huzuridagi PhD.01/2025.27.12.B.04.05 raqamli Ilmiy kengashning 2026 yil 20 » april kuni soat 14.00 » 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: chdpukengash@umail.uz)

Dissertatsiya ishi bilan Chirchiq davlat pedagogika universitetining Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (46 raqami bilan ro'yxatga olingan) (Manzil: 111720, Toshkent viloyati, Chirchiq shahar, Amir Temur ko'chasi, 104-uy, Tel.: (+99870) 712-27-55, faks: (+99870) 712-45-41; e-mail: chdpukengash@umail.uz)

Dissertatsiya avtoreferati 2026 yil 08 » 04 kuni tarqatildi.
(2026 yil 08 » 04 » 03 » raqamli reyestr bayonnomasi).



S.T.Jo'rayev
Ilmiy daraja beruvchi
Ilmiy kengash rais
o'rinbosari, b.f.d., professor

A.Q. Bo'ronov
Ilmiy daraja beruvchi
Ilmiy kengash ilmiy
kotiibi, 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) dissertasiyasi annotasiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Dunyoda bugungi kundagi mamlakatlar orasida global darajadagi mahsulotlar almashinuvining ortib borishi yer yuzida pomidor singari muhim qishloq xo'jalik o'simligini kasallantiruvchi viruslar sonining kun sayin ortib borishiga sabab bo'lmoqda. Natijada, pomidor ekini vegetatsiyasining qisqarishi va mahsulot sifatining yomonlashishi kabi salbiy oqibatlar qishloq xo'jaligida iqtisodiy zarar keltirmoqda. Shunday qilib, qishloq xo'jaligi ekinlarini zararlaydigan fitopatogen viruslarni tezkor aniqlash uchun zamonaviy diagnostika usullaridan, masalan, PZR usulidan foydalanishning ilmiy va amaliy ahamiyati katta, bu virus tarqalishining oldini olish va yuqori sifatli barqaror qishloq xo'jaligi mahsulotlarini ishlab chiqarish uchun muhimdir.

Jahonda pomidor o'simligini kasallantiruvchi fitoviruslarni aniqlash va xususiyatlarini o'rganish, molekulyar identifikatsiyalash hamda qarshi kurash choralarini ishlab chiqish borasida muhim ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Pomidor mevasining jigarrang bujmayishi virusi butun dunyoda keng tarqalgan pomidor hosildorligiga katta zarar keltiruvchi viruslardan biri bo'lib, bugungi kungacha bu virusning tarqalishi, biologiyasi, molekulyar-genetik xususiyatlarini aniqlash, virusning o'simlik fiziologik xususiyatlariga ta'sirini baholash, chidamli navlarni yaratish hamda zararini kamaytirishga katta e'tibor qaratilmoqda.

Mamlakatimizda ham pomidor (*Lycopersicon esculentum* Mill.) o'simligini kasallantiruvchi viruslarni aniqlash, o'simlikni turli kasalliklardan himoyalash, zamonaviy ilm-fan yutuqlaridan foydalanib hosildorligini oshirish va kasalliklarni tezkor diagnostika qilish borasida muhim natijalarga erishildi. Yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasida "Eksportbop mahsulotlar yetishtirish, meva-sabzavotchilikni rivojlantirish, intensiv bog'lar va issiqxonalar maydonini bir necha barobar kengaytirish hamda eksport salohiyatini oshirish"¹ ustuvor vazifalar sifatida belgilangan. Ushbu vazifalar asosida pomidor mevasining jigarrang bujmayishi virusini ajratish va uning molekulyar-genetik xususiyatlarini o'rganish, yangi izolyatlarini ro'yxatdan o'tkazish, oqsil qobig'i sinteziga javobgar bo'lgan geni asosida diagnostika qilish, tarqalish yo'llari va saqlanishini aniqlash hamda qarshi kurash choralarini ishlab chiqish muhim ahamiyat kasb etadi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 20-martdagi PQ-4246-sonli "O'zbekiston Respublikasida bog'dorchilik va issiqxona xo'jaligini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risidagi" Qarori va O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 20-oktyabrdagi PF-5853-sonli "O'zbekiston Respublikasida qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020-2030-yillarga mo'ljallangan strategiyasini tasdiqlash to'g'risida"gi, 2021-yil 15-iyuldagi PF-6262-sonli "Respublikada o'simliklar karantini va himoyasi tizimini tubdan takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risidagi" Farmonlari, Vazirlar

¹O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 28 yanvardagi PF-60-son "2022-2026 yillarga mo'ljallangan Yangi O'zbekiston taraqqiyot strategiyasi to'g'risida"gi Farmoni

Mahakamasining 2022-yil 5-iyuldagi 361-son “Qishloq xo‘jaligi vazirligi huzuridagi qishloq xo‘jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazining “Sabzavot, poliz ekinlari va kartoshkachilik ilmiy-tadqiqot instituti faoliyatini yanada rivojlantirish to‘g‘risida”gi qarori hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me‘yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirish uchun dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining “Qishloq xo‘jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi” ustuvor yo‘nalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o‘rganilganlik darajasi. Pomidor o‘simligining virusli kasalliklarini aniqlash va diagnostika qilish bo‘yicha xorijda: F.Holmes (1935), M.Hollings va O.Stone (1973), H.Laterrot (1982), I.Hanssen (2010) va M.Lapidot (2010) pomidorda keng tarqalgan *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) infeksiyasi, N.Soler (2011), S.Panno (2012), S.Davino (2016) tomonidan pomidorda uchraydigan yangi virus turlari aniqlanib, ularning molekulyar diagnostikasi ustida, so‘nggi yillarda *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) bo‘yicha izlanishlar N.Luria va A.Dombrovsky (2017), N.Salem (2019), R.Alkowni (2020), S.Panno (2020), B.Chanda va H.Fidan (2021) tomonidan olib borilgan.

MDH mamlakatlarida o‘simlik viruslarini o‘rganish bo‘yicha qator ilmiy tadqiqotlar amalga oshirilgan. Jumladan, Rossiya Fanlar Akademiyasi akademigi I.G.Atabekov rahbarligida S.Yu.Morozov (2001), O.Karpova (2006), R.V.Gnutova (2012), Yu.A.Shneyder (2021) va boshqa olimlar tomonidan pomidorda uchraydigan tobamoviruslar va begomoviruslarning molekulyar-genetik xususiyatlari, yangi shtammlarini aniqlash hamda ularning oqsil tuzilishini o‘rganishga oid tadqiqotlar olib borilgan.

Mamlakatimizda o‘simlik viruslarini aniqlash, ularning xususiyatlarini o‘rganish va diagnostikasi bo‘yicha bir qator olimlar tomonidan ilmiy izlanishlar olib borilgan. Jumladan, Yu.I.Vlasov (1960), V.Mirzaahmedov (1964), A.H.Vaxabov (1964), Q.S.Davronov (1984), Z.N.Qodirova (1992), U.M.Jo‘rayeva (1993), G.M.Umarova (2009), V.B.Fayziyev (2011), T.S.Xusanov (2020), T.H.Maxmudov (2023), D.T.Jovliyeva (2024), Z.Sh.Sobirova (2024) tomonidan olib borilgan bo‘lsa, pomidor o‘simligini kasallantiruvchi viruslar, jumladan tomat mozaikasi virusini o‘rganish bo‘yicha B.J.Ahmadaliyev (2023) tomonidan tadqiqotlar olib borilgan.

Ammo, mamlakatimizda ToBRFVni ajratish, biologik xususiyatlarini o‘rganish, diagnostika qilish, rezervator o‘simliklari va tarqalishini o‘rganish bo‘yicha tadqiqotlar olib borilmagan. Shu bois, ushbu yo‘nalishda olib boriladigan tadqiqotlar virusga qarshi kurash chora-tadbirlarini ishlab chiqishda muhim amaliy ahamiyat kasb etadi.

Tadqiqotning dissertatsiya bajarilgan oliy ta‘lim yoki ilmiy tadqiqot muassasasining ilmiy tadqiqot ishlari rejalari bilan bog‘liqligi. Chirchiq davlat pedagogika universitetining “O‘zbekiston iqlim sharoitida tarqalgan fitopatogen

viruslarni ajratish, xususiyatlarini o'rganish va diagnostika qilish" mavzusidagi ilmiy tadqiqot ishlari rejasiga muvofiq bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi issiqxona sharoitida tarqalgan pomidor mevasining jigarrang bujmayishi virusining RNKsini ajratish, xususiyatlarini aniqlash va molekulyar-genetik identifikatsiyalash hamda filogenetik shajarasini yaratishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

Toshkent viloyati tumanlarida yopiq izolyatsiyalangan sharoitda yetishtirilayotgan pomidor o'simliklarida virusga xos kasalliklarni molekulyar-genetik usullar yordamida monitoring qilish va tarqalish darajasini aniqlash;

ToBRFVni molekulyar diagnostika qilish hamda bioinformatik tahlillar asosida filogenetik shajarasini yaratish;

ToBRFVning izolyatsiyalangan yopiq sharoitda tarqalishi, rezervator o'simliklari va tuproqda saqlanishini aniqlash;

virus zararini pomidor mevasi tarkibidagi muhim biologik moddalar miqdoriga ta'sirini aniqlash orqali baholash;

import qilinayotgan pomidor urug'larida ToBRFVni molekulyar genetik usul yordamida aniqlash;

turli preparatlarning virusga ta'sir darajasini aniqlash va qarshi kurash choralarini ishlab chiqish.

Tadqiqotning obyekti sifatida respublikamizdagi issiqxonalarda tarqalgan pomidor o'simligini kasallantiruvchi pomidor mevasining jigarrang bujmayishi virusi (ToBRFV) izolyatlari olingan.

Tadqiqotning predmeti ToBRFVni ajratib olish, virusning pomidor mevasi tarkibidagi muhim moddalarga va o'simlik fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish, rezervatorlarini aniqlash hamda molekulyar-genetik identifikatsiyalash va filogenetik shajarasini yaratish tashkil etgan.

Tadqiqotning usullari. Ilmiy tadqiqot ishida virusologik, fizik kimyoviy, molekulyar-genetik, bioinformatik, statistika va qiyosiy tahlil usullaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

ToBRFV ilk bor Respublikamizda yopiq izolyatsiyalangan sharoitda pomidor o'simligi hosildorligi hamda meva sifatiga jiddiy zarar yetkazuvchi fitovirus sifatida aniqlangan;

virus "Tomato brown rugose fruit virus, M-24" izolyati komplekt genomi va "ToBRFV Uzb 4.1" izolyatining esa oqsil qobig'i (CP) sinteziga javobgar gen uchastkasini sekvens qilish orqali molekulyar identifikatsiya qilingan hamda bioinformatik tahlillar asosida filogenetik shajarasi yaratilgan va dunyoning boshqa mintaqalarida tarqalgan izolyatlardan farqlanishi isbotlangan;

PZR tahlillari yordamida virusning oddiy jag'-jag' (*Capsella bursa-pastoris* L.) va qoqio't (*Taraxacum officinale*) kabi yangi tabiiy rezervator o'simliklari aniqlangan;

ToBRFV "M-24" izolyatining CP genini boshqa izolyatlar bilan qiyosiy tahlili uning beshta uchastkasida nuqtali (Missense) mutatsiya mavjudligi

aniqlangan va *leysin* (L) aminokislota *glutaminga* (Q), *tirozin* (Y) aminokislota *aspartat kislotasiga* (D), *lizin* (K) aminokislota *asparaginga* (N), *alanin* (A) aminokislota *valinga* (V), *arginin* (R) aminokislota esa *seringa* (S) o'zgartirilganligi isbotlangan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

“Pomidor mevasi jigarrang bujmayishi (ToBRFV) virusi diagnostikasi va oldini olish choralari” nomli tavsiyanoma ishlab chiqilgan;

virusning saqlanishi va tarqalishini aniqlash bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar natijasida, yopiq izolyatsiyalangan sharoitda zararlangan tuproq, ekish materiali – pomidor ko'chatlari, urug' asosiy infeksiya manbai, changlatuvchi arilar (*Bombus terrestris*), mehnat qurollari va inson asosiy tarqatuvchi ekanligi isbotlangan.

Tadqiqot natijalarining ishonchligi. Tadqiqotning ishonchligi zamonaviy virusologik, biotexnologik, molekulyar genetik usullardan foydalanilganligi, ilmiy natijalar “Statistica 6.0” dasturidan foydalangan holda tahlil qilingani, shuningdek, SnapGene, MEGA11 dasturlari yordamida bioinformatik tahlil, GenBank NCBI ma'lumotlar bazasiga o'rganilgan virus izolyatining nukleotidlar ketma-ketligining ro'yxatdan o'tkazilganligi, natijalarni respublika va xalqaro konferensiyalarda muhokama qilinganligi va tadqiqot natijalarini O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasi tomonidan tavsiya etilgan ilmiy jurnallarda nashr etilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati Toshkent viloyati issiqxona sharoitida tarqalgan ToBRFVning oqsil qobig'i genom fragmenti hamda komplekt genomini sekvenslash orqali molekulyar identifikatsiya qilinganligi va bioinformatik tahlili yordamida virusning filogenetik shajarasi tuzilganligi hamda issiqxona sharoitida virusning saqlanishi va sirkulyatsiyasi uchun muhim hisoblangan yangi tabiiy rezervator o'simliklarining aniqlanganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati yopiq izolyatsiyalangan sharoitda pomidor ekin maydonlarida tezkor zamonaviy TT-PZR diagnostika usuli yordamida ToBRFVning monitoring qilinganligi va “Bakfungin”, “Bovera” kabi turli biopreparatlarning hamda KMnO₄, NaClO kabi kimyoviy preparatlarning virus infeksiyasiga qarshi samarali ta'sir etuvchi konsentratsiyasi va qo'llash usulining aniqlanganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Pomidor (*Lycopersicon esculentum* Mill.) o'simligini kasallantiruvchi ToBRFVni ajratish, xususiyatlarini o'rganish va ularning diagnostikasiga oid olingan ilmiy natijalar asosida:

ToBRFV virusining respublikamizda tarqalgan izolyati “Fitopatogen va boshqa mikroorganizmlar noyob ilmiy ob'yekti kolleksiyasi” genofondiga topshirilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi 2024-yil 6-noyabr 4/1255-2468-son ma'lumotnomasi). Natijada, fitopatogen mikroorganizmlar shtammlari kolleksiya genofondini boyitish, virus turlari xilma-xilliklari elektron bazasi axborot tahlil tizimini shakillantirish imkonini bergan;

Toshkent viloyati issiqxona sharoitida pomidor ekinlarida kuzatilgan virusli kasallik alomatlaridan TT-PZR usulida tahlil o'tkazilgan va respublikamizda ilk bor ToBRFV virusining "ToBRFV Uzb_4.1" va "Tomato brown rugose fruit virus, M-24" izolyatlari aniqlangan hamda ushbu izolyat Xalqaro GenBankning NCBI bazasiga OR501605.1 va PQ660493.1 ID raqam bilan joylashtirilgan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi Qishloq xo'jaligida bilim va innovatsiyalar milliy markazining 2025 yil 14 iyuldagi 05/06-04-395-sonli ma'lumotnomasi). Natijada, ushbu ma'lumotlar dunyo bo'yicha shu yo'nalishdagi ilmiy-tadqiqot ishlarida foydalanish hamda virus tarqalishini aniqlash va filogenetik shajarasini o'rganish imkonini bergan;

"ToBRFV virusi diagnostikasi va oldini olish choralari" nomli tavsiyanoma ishlab chiqilgan bo'lib, ushbu tavsiyanoma O'simliklar karantini va himoyasi agentligining Toshkent va Farg'ona viloyati boshqarmasi laboratoriyalarida amaliyotga joriy qilingan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi 2025 yil 14 iyuldagi 05/06-04-395-sonli ma'lumotnomasi). Natijada, issiqxonada yetishtirilayotgan pomidor va qalampir ekinlarida virusni erta aniqlash, fitosanitar nazoratga olish ishlarini olib borish, shu bilan birga virus tarqalish darajasini kamaytirishga ilmiy-uslubiy qo'llanma sifatida xizmat qilgan.

Tadqiqot natijalarining aprotatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 4 ta xalqaro va 4 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 13 ta ilmiy ish va 1 ta tavsiyanoma, shulardan 5 tasi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiya vazirligi huzuridagi OAKning doktorlik dissertatsiyalar asosiy ilmiy natijalarini chop etish uchun tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda, jumladan 3 tasi respublika va 2 tasi xorijiy ilmiy jurnallarda nashr qilingan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya ishi kirish, 3 ta bob, xulosalar, amaliy tavsiyalar, adabiyotlar ro'yxati va ilovalardan iborat. Dissertatsiya hajmi 115 sahifani tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Kirish qismida dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati, maqsad va vazifalariga asoslangan hamda tadqiqotning ob'yekti va predmetlari tavsiflab berilgan. Shuningdek, respublika fan va texnologiyalarining ustuvor yo'nalishlariga mosligi, ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon etilgan, olingan natijalarning ahamiyati, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilinganligi, natijalarning nashr etilganligi va dissertatsiya tuzilishi haqida ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning "**Pomidor mevasi jigarrang bujmayishi virusining umumiy xususiyatlari va diagnostikasi bo'yicha adabiyotlar tahlili**" deb nomlangan birinchi bobida pomidorni kasallantirib, uning vegetasiyasini erta yakunlanishiga sabab bo'luvchi, dunyo bo'ylab keng tarqalgan karantin virus

kasalliklar ro'yxatiga kiritilgan tashqi (A1) va ichki karantin (A2) hisoblangan xavfli fitopatogen viruslar, ToBRFV ning tavsifi, uning biologiyasi, ekologiyasi va sistematikasi hamda molekulyar-genetik xarakteristikasi haqidagi adabiyotlar tahlili keltirilgan.

Dissertatsiyaning **“Tadqiqotlar uchun foydalanilgan materiallar va uslublar”** deb nomlangan ikkinchi bobida tadqiqotni bajarish uchun foydalanilgan materiallar hamda virus RNKsini ajratish, TT-PZR, Real vaqtdagi TT-PZR, an'anaviy PZR va filogenetik shajarani yaratish kabi qator usullar tavsifi keltirilgan.

Dissertatsiyaning **“ToBRFVning xususiyatlarini o'rganish, molekulyar diagnostikasi va filogenetik analizi bo'yicha olingan natijalar va ularning tahlili”** deb nomlangan uchinchi bobida ToBRFVni molekulyar identifikatsiyalash va issiqxonalarda tarqalish darajasini monitoring qilish, virusning o'simlik morfo-fiziologik xususiyatlariga ta'sirini o'rganish kabi qator tadqiqot natijalari keltirilgan.

Dastlab, issiqxonalarda yetishtirilgan pomidor ekinlarida virusli kasalliklarga xos bo'lgan alomatlar barg plastinkasida mozaikalik dog'lanish, mevalarda burishish, sarg'ayish yoki jigarrang dog'larning paydo bo'lishi, notekis pishish, qattiqlashish va shakl o'zgarishi kabi kasallik belgilari kuzatilgan pomidorning barg va mevalaridan namunalar olinib, real vaqtdagi TT-PZR usulida tekshirildi. Natijada ushbu alomatlar ToBRFVga xos ekanligi tasdiqlandi (1-rasm).

Toshkent viloyatidagi

issiqxonalardan olingan namunalarning PZR tekshiruvlari asosida umumiy tekshirilgan namunalarning tarkibida ToBRFV aniqlanish darajasi 75% ni tashkil etdi. Virus aniqlangan pomidor o'simliklarini vizual monitoring qilish ayrim navlarda (barg va mevalarda) kasallik alomatlarining yaqqol namoyon bo'lganligini, ayrimlarida esa latent holatda ekanligi aniqlandi. Virus aniqlangan navlar orasida *Pink Paradise* va *Alamino* navlari ustunlik qildi. Shuningdek, *O'zge* navida ham infeksiya qayd etildi. *Zamira* va *Marvelans* navlarida esa manfiy natija, ya'ni virus bilan kasallanmaganligi kuzatildi. Pomidor bargi va mevasida virus bir vaqtda aniqlandi. Bu esa ToBRFV o'simlik tanasi bo'ylab keng tarqalishini ko'rsatdi. PZR tahlilining Cq qiymatlari 17,13 dan 29,19 gacha bo'lib, ularning farqlanishi infeksiya darajasining turlicha ekanini anglatadi (1-jadval).



1-rasm. Pomidor o'simligida uchraydigan virusga xos bo'lgan kasallik alomatlari. Rasmdagi: A - mevalardagi xlorotik dog'lar va bujmayish, B, D -notekis pishish va rangsizlanish, C, E, F - jigarrang bujmaygan dog'lar va mevalar qattiqlashish.

ToBRFVning Real vaqtdagi TT-PZR usuli yordamidagi diagnostikasi

Pomidor navi	Fermer xo'jalik nomi	Namuna Turi	PZR *Cq ko'rsatgichi	PZR xulosasi
Pink Paradise	"Agro Light"	Barg	NA	manfiy
Pink Paradise	"Organik biofood"	Meva	17,13	musbat
Zamira	"Salar Nuriddinov Pahriddin"	Barg	NA	manfiy
Alamino	"Agro Produkt Export"	Meva	25,65	musbat
Pink Paradise	"Eco Flowers"	Meva	26,64	musbat
O'zge	"Toshkent logistika servis"	Meva	29,19	musbat
Pink Paradise	"N green haus"	Barg	18,32	musbat
Pink Paradise	"Topliy Sad"	Meva	NA	manfiy
Marvelans	"Agro Impex Gold"	Meva	NA	manfiy
Pink Paradise	"Baxtiyor mirishkor fayz"	Barg	17,55	musbat
Pink Paradise	"Davr savdo"	meva	24,57	musbat
Pink Paradise	"Nsa Agro Development"	Barg	26,49	musbat
Alamino navi	"Stat Agro Product"	meva, barg	26,13	musbat
Pink Paradise	"Bobur Ulugbek Fayz"	meva, barg	16,54	musbat
Pink Paradise	"Maxamat Rixivoy Agro"	Barg	24,47	musbat
Alamino	"Abdujabbor Fotima Muruvvat"	Meva	28,77	musbat

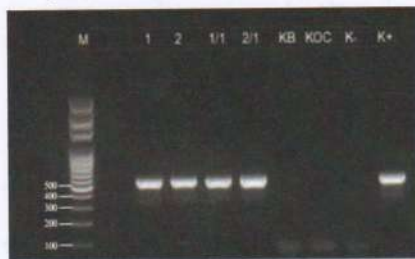
Izoh: *Cq (Quantification cycle) - kDNKning nusxalarini yaratish sikllari soni. Sikl ko'rsatgan ko'rsatgichdan boshlab sinov namunasi ijobiy hisoblanadi.

Tadqiqot davomida olingan ma'lumotlarga ko'ra, Qibray tumaniga qarashli fermer xo'jaliklarida kasallanish darajasi eng yuqori bo'lib, 48-55% ni tashkil etdi. Yuqori Chirchiq tumanidagi xo'jaliklarida kasallanish darajasi nisbatan kam bo'lib, 40-44% oralig'ida o'zgarib turdi. Zangiota tumanidagi xo'jaliklarda esa kasallanish darajasi 39-49% oralig'ida qayd etildi. Ushbu natijalar Qibray tumanini virusning asosiy tarqalish markazi sifatida baholash imkonini beradi.

ToBRFVni oqsil qobig'i geni asosida identifikatsiyalash va filogenetik analizi. ToBRFVning mamlakatimizda tarqalgan izolyatini oqsil qobig'iga (CP) javobgar bo'lgan geni asosida molekulyar identifikatsiya qilish uchun *Rodriguez-Mendoza et al.* (2019) tavsiya etgan praymerlar (ToBRFV-F-ACCAGAG-TCTTCCTATACTCGGA va ToBRFV-R TCACCATCTCTTAATAATCTCT) "Letgen Biotechnology LTD" (Turkiya) kompaniyasi tomonidan sintez qilindi. PZR mahsuloti 475 juft nukleotidni tashkil qildi. Ushbu praymerlar yordamida Toshkent viloyati Qibray tumani "Organik biofood" MCHJ issiqxonasida yetishtirilgan pomidorning *Pink Paradise* va *Alamino* navlaridan virusli kasallik belgilari bo'lgan namunalar olindi. An'anaviy TT-PZR usuli yordamida tahlillar amalga oshirildi (2-rasm).

Tadqiqot davomida pomidor o'simligidan ToBRFVning 2 ta izolyati ajratildi. Aniqlangan izolyatlar Xalqaro Gen bank - NCBI ma'lumotlar bazasiga "ToBRFV Uzb 4.1" (ID OR501605.1) va "Tomato brown rugose fruit virus, isolate M-24" (ID PQ660493.1) nomlari bilan joylashtirildi. O'rganilgan birinchi izolyat nukleotidlar ketma-ketligi (987 j.n.) ikkinchisi esa, to'liq genom sekvens qilindi, ya'ni 6360 j.n. ni tashkil etdi. CP geni nukleotidlar ketma-ketligi BLAST

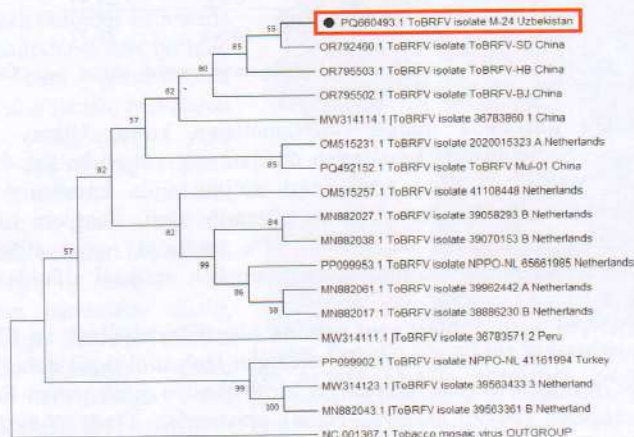
online dasturi yordamida Xalqaro Gen Bank - NCBI ma'lumotlar bazasidagi mavjud ToBRFV izolyatlarining nukleotidlar ketma-ketliklari bilan taqqoslandi.



2-rasm. Pomidor o'simligi bargi va mevalaridan ajratilgan ToBRFVning an'anaviy

TT-PZR tahlili. Elektroforez 1,5%-li agarozda gelida amalga oshirilgan: M-marker (O'GeneRuler 1 kb DNA ladder), 1-*Pink Paradise* navli pomidor bargi; 2-*Alamino* navli pomidor bargi; 1/1-*Pink Paradise* navli pomidor mevasi, 2/2-*Alamino* navli pomidor mevasi. PZR mahsuloti 475 bp ni tashkil etdi.

To'liq genom sekvens qilingan "M-24" mahalliy izolyat virusning filogenetik shajarasini ishlab chiqish uchun asos bo'lib xizmat qildi va MEGA11 dasturi yordamida uning filogenetik shajarasi tuzildi (3-rasm).



3-rasm. ToBRFVning filogenetik shajarasi

Filogenetik shajara tahlili natijalariga ko'ra, NCBI ma'lumotlar bazasiga joylashtirilgan barcha ToBRFV izolyatlari uchta asosiy klasterga (Clade-1, Clade-2 va Clade-3) guruhlandi. Mamlakatimizda aniqlangan "M-24" izolyati Xitoy izolyatlari bilan bir shoxda joylashgan. Barcha izolyatlar esa Niderlandiya izolyatining o'zak shoxidan tarqalganligini va ularning kelib chiqishi ushbu izolyatlarga yaqin ekanligini taxmin qilish mumkin. Virus gomologiyasini aniqlash bo'yicha o'tkazilgan bioinformatik tahlillar "Tomato brown rugose fruit virus, M-24" izolyati boshqa ToBRFV izolyatlari bilan 99,7-99,8% o'xshash ekanligini ko'rsatdi. OUTGROUP sifatida kiritilgan tamaki mozaika virusi (TMV) bilan o'xshashlik darajasi 82% ni tashkil etdi. Bu esa ToBRFV ning alohida mustaqil tobamovirus ekanligini ko'rsatadi.

Filogenetik shajara daraxtida O'zbekiston izolyatining Clade-3 tarkibida joylashishi uning boshqa mintaqalardan urug' yoki ekish materiallari orqali bizning mamlakatimizga kirib kelganligini ko'rsatdi.

Keyingi tadqiqotlarda O'zbekiston "M-24" izolyatining oqsil qobig'ini molekulyar tavsiflashga qaratildi. Xususan, uning aminokislota tarkibining boshqa yaqin izolyatlar bilan qiyosiy tahlili o'tkazildi. Nukleotid ketma-ketliklari "SnapGene" dasturi yordamida tahlil qilinib, yig'ildi. Nukleotid va aminokislota ketma-ketliklari GenBank va EBI bazalaridagi boshqa ToBRFV izolyatlari bilan taqqoslandi (jumladan, PP916473.1 - Yaz.Kha.To va PQ310342.1 - izolyat "B").

Ko'p ketma-ketlikli moslashtirish Clustal Omega dasturida bajarildi. Olib borilgan taqqiqot natijasida SNP (bir nukleotidli o'zgarish) va aminokislota almashilganligi aniqlandi. "M-24"(PQ660493.1) izolyatining nukleotidlar ketma-ketligi <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/PQ660493.1> saytida NCBI ma'lumotlar bazasidagi eng yaqin Eronning "Yaz.Kha.To" va "B" izolyatlari bilan taqqoslandi (4-rasm).

PP916473.1	ACCTG G T A CAAGCTGGTGGCCG A AGGGC
PQ660493.1	ACCAGTGGACAA C CTGGTGGTGG A AGCGC
PQ310342.1	ACC C TGGACAA G CTGGTGGTGG A AGGC
	*** ** ***** ***** **** **
1. XSB39591.1	VEN L AT L Y A TR A IN K L V A E LV K G F E A SG
2. XLM53549.1	VEN Q AT L D A TR A IN N L V E LV K G F E S SG
3. XQH04660.1	VEN A AT L D A TR A IN L V E LV K G F E A SG
	*** *** ***** ** ***** **

4-rasm. "M-24" izolyati oqsil qobig'i genomining nukleotid va aminokislotalar ketma-ketligining qiyosiy tahlili. Rasmdagi: 1 – "Yaz.Kha.To" (PP916473.1) izolyati, 2 – "M-24" (PQ660493.1) izolyati, 3 – "B" (PQ310342.1) izolyati.

"M-24" mahalliy izolyatning oqsil qobig'idagi nukleotidlar ketma-ketligi solishtirilgan boshqa izolyatlar bilan yaqin, ammo bir xil emasligi olib borilgan bioinformatik tahlillar natijasida ma'lum bo'ldi. "M-24" izolyati Eronning "Yaz.Kha.To" (PP916473.1) izolyati bilan solishtirilganda 6 ta, "B" (PQ310342.1) izolyati bilan solishtirilganda 4 ta SNP mutatsiyasi aniqlandi.

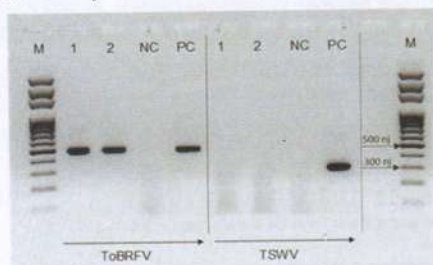
"M-24" izolyatiga yaqin bo'lgan Eronning "Yaz.Kha.To" (XSB39591.1) izolyati aminokislotalari bilan solishtirilganda 5 ta nuqtasida Missense mutatsiyaga uchranganligi (bitta aminokislotalarning boshqasiga almashtirilishi bilan kechuvchi genetik o'zgarish) aniqlandi, ya'ni *leutsin* (L) aminokislotalari *glutaminga* (Q), *tyrozin* (Y) aminokislotalari *aspartat kislotaga* (D), *lizin* (K) aminokislotalari *asparaginga* (N), *alanin* (A) aminokislotalari *valinga* (V), *arginin* (R) aminokislotalari esa *serin* (S) bilan almashganligi ma'lum bo'ldi.

Shuningdek "M-24" izolyati Eronning 2 - "B" (XQH04660.1) izolyati bilan solishtirilganda 3 ta nuqtasida Missense mutatsiya bo'lganligi aniqlandi. Bunda *prolin* (P) aminokislotalari *glutaminga* (Q), *lizin* (K) aminokislotalari *asparaginga* (N), *arginin* (R) aminokislotalari esa *serin* (S) bilan almashganligi ma'lum bo'ldi.

Ushbu molekulyar o'zgarishlar ToBRFV turli abiotik (harorat, agrotexnik tadbirlar, atrof-muhit stresslari) hamda biotik (o'simlik navlari, aralash

infeksiyalar, virus va xo'jayin koevolyutsiyasi) omillar ta'sirida shakllanganligini taxmin qilish mumkin.

ToBRFVning izolyatsiyalangan yopiq sharoitda tarqalishi, rezervator o'simliklari va saqlanishini aniqlash. Ushbu yo'nalishda tadqiqot olib borgan mualliflar tomonidan (Dombrovsky A., Smith E, 2017) ushbu virus yopiq izolyatsiyalangan sharoitda inson faoliyati, ish qurollari va boshqa qator yo'llar yordamida tarqalishi keltirilgan. Ammo, tarqatuvchi hasharotlar haqida ma'lumotlar kam uchraydi. Shu sababli tadqiqotda changlatuvchi ari - *Bombus terrestris*ning virus tarqalishida ishtirokini aniqlash maqsadida Toshkent viloyatining Qibray tumanidagi "Agro ProduktExport" MChJ, Zangiota tumanidagi "New Agromax" fermer xo'jaligi issiqxonalaridan pomidor mevasi, changlatuvchi arilardan olingan namunalar olindi. Virus turini aniqlash maqsadida ToBRFV va TSWV viruslari uchun maxsus spesifik praymerlar yordamida an'anaviy PZR tahlilidan o'tkazildi (5-rasm).



5-rasm. ToBRFV va TSWV viruslari tarqalishini aniqlash bo'yicha o'tkazilgan an'anaviy TT-PZR tahlili natijalarining elektroforegrammasi.

Rasmdagi: 1 - *Alamino* navli pomidor mevasi, 2 - *Bombus terrestris* changlatuvchi arilar, NC - salbiy nazorat, PC - ijobiy nazorat, M - marker (100 bp)

Olingan natijalar tahlili asosida changlatuvchi ari *Bombus terrestris* va pomidor mevasidan ToBRFV virusi aniqlandi, biroq tajribada TSWV virusi aniqlanmadi. Bu esa issiqxona ToBRFV virusi bilan kasallanganini va changlatuvchi arilar bevosita tarqatuvchi ekanligi tasdiqlaydi (5-rasm, 1, 2).

Virusga qarshi kurash choralarini ishlab chiqishda ularning tashuvchi hasharotlari va rezervator o'simliklarini aniqlash bugungi kunda muhim amaliy va nazariy ahamiyat kasb etadi. Tadqiqot doirasida Toshkent viloyatining Qibray tumanida joylashgan issiqxona xo'jaligida yetishtirilgan *Pink Paradise* navli pomidor o'simligi va u yerdagi begona o'tlardan ham namunalar olindi. Olingan namunalar laboratoriya sharoitida PZR tahlillaridan foydalangan holda tekshirish ishlari amalga oshirildi.

PZR tekshiruvlar shuni ko'rsatdiki, tekshirilgan issiqxona sharoitida o'suvchi jami 14 tur madaniy va yovvoyi o'simliklardan pomidor (*Pink Paradise* navi), oddiy jag'-jag' (*Capsella bursa-pastoris* L.), qoqio't (*Taraxacum officinale*), oddiy sho'ra (*Chenopodium quonea*) va qora ituzum (*Solanum nigrum*) kabi o'simliklar tanasida virus saqlashi tasdiqlandi. Jadvaldan ko'rinib turibdiki, *Pink Paradise* pomidor mevalarida virus akkumulatsiyasi Cq = 25,13 qiymatda, *Capsella bursa-pastoris* L. va *Solanum nigrum* namunalarida bu ko'rsatkich Cq = 29,62 va 25,39 ni, *Taraxacum officinale* va *Chenopodium*

quinoa namunalarida esa mos ravishda $Cq = 25,13$ va $Cq=26,79$ qiymatlar aniqlandi (2- jadval, 6-rasm).

2- jadval
ToBRFVning rezervatorlarini Real vaqtgi TT- PZR usuli yordamida aniqlash

O'simlik nomi	PZR xulosasi (Cq)
Pomidor (<i>Pink Paradise</i>)	25,13
Oddiy jag'-jag' (<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.)	26,79
Mingdevona (<i>Hyoscyamus</i> L.)	-
Yovvoyi karom (<i>Brossica campestris</i> L.)	-
Semizo't (<i>Portulaca oleracea</i> L.)	-
Sebarga (<i>Trifolium</i>)	-
Qora ituzum (<i>Solanum nigrum</i>)	25,62
Pechako't (<i>Convolvulus sepium</i>)	-
Ajriq (<i>Cynodon dactylon</i> L.)	-
Tugmachagul (<i>Malva</i> L.)	-
Qoqio't (<i>Taraxacum officinale</i>)	25,39
Yovvoyi latuk (<i>Lactuca serriola</i>)	-
Yulduzcha (<i>Stellaria media</i>)	-
Oddiy sho'ra (<i>Chenopodium quinoa</i>)	29,37
K+ (musbat nazorat)	27,28
KB-(ichki nazorat)	-
K- (manfiy nazorat)	-



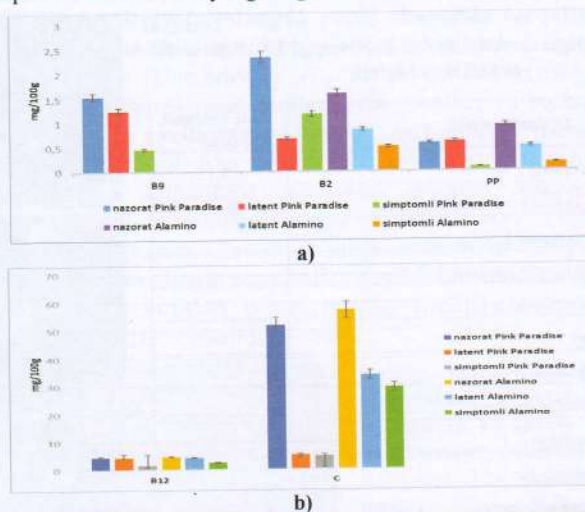
6-rasm. ToBRFV rezervator o'simliklari.
a) *Taraxacum officinale*,
b) *Capsella bursa-pastoris*,
c) *Chenopodium quinoa*

Demak, o'tkazilgan tadqiqot natijalariga ko'ra, ToBRFV ko'p yillik o'simliklar *Taraxacum officinale*, *Capsella bursa-pastoris* L. va bir yillik *Chenopodium quinoa*da kuzda o'sib, barglari qor tagida qishlab, bahorda o'sishda davom etishini inobatga olinsa, ToBRFVni rezervator o'simliklarda saqlanishi virusning davriy aylanishi va kengroq masofaga tarqalishiga sabab bo'ladi.

Virus zararini pomidor mevasi tarkibidagi muhim biologik moddalar miqdoriga ta'sirini aniqlash orqali baholash. Buning uchun ToBRFV bilan kasallangan va sog'lom pomidor mevalarida muhim biologik aktiv moddalar, jumladan B₉, B₂, B₁₂, PP hamda C vitaminlarning miqdoriy o'zgarishi o'rganildi (7-rasm).

Diagrammada, vitamin B₉ faqat *Pink Paradise* navida nazoratga nisbatan kasallangan va simptomli mevalarda 3 baravar kamayishi, vitamin B₂ esa *Alamino* navida 0,496 mg/g gacha, B₁₂ vitamini 1,6-2,6 mg/g gacha, PP vitamini simptomli mevalarda 0,08-0,16 mg/g gacha kamayganligi aniqlandi. Shuningdek, vitamin C da eng katta farq kuzatilib, sog'lom mevalarda 52-57 mg/g bo'lsa, kasallangan mevalarda bu ko'rsatkich 4,8-33 mg/g kamayib ketganligi aniqlandi. O'tkazilgan

tahlil natijalariga ko'ra, ToBRFV pomidor mevalarida antioksidant vitaminlar (C va B₂) miqdorini keskin kamaytirganligini ko'rish mumkin.



7-rasm. ToBRFV bilan kasllangan pomidor mevalaridagi vitaminlar miqdori. Rasmdagi: a) B₉, B₂ va PP vitaminlar miqdori; b) B₁₂ va C vitaminlar miqdori

Vitamin B₉ va B₁₂ miqdorining kamayishi nuklein kislotalar biosintezi va hujayra bo'linish va boshqa muhim hayotiy jarayonlarga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Umuman olganda, ToBRFV bilan kasallangan pomidor mevalarida vitaminlar va mikro va makro elementlarning kamayishi o'simlikning himoya tizimi zaiflashishiga olib keladi (3-jadval).

3-jadval

ToBRFVning pomidor mevasi tarkibidagi makro va mikroelementlar miqdoriga ta'siri

Makro va mikroelementlar	<i>Pink Paradise</i> (nazorat**)	<i>Pink Paradise</i> (latent)	<i>Pink Paradise</i> (simptomli)	<i>Alamino</i> (nazorat**)	<i>Alamino</i> (latent)	<i>Alamino</i> (simptomli)
Kaliy	2027±0,03*	10,36±0,02	9,36±0,01	2332±0,04	65,68±0,03	10,78±0,04
Temir	37,4±0,04	0	0	64,5±0,03	0	0
Mis	3,28±0,02*	0	0	2,85±0,02*	0	0
Marganes	14,6±0,01	0	0	24,2±0,01	0,044±0,02	0
Rux	15,6±0,04	0,009±0,01*	0,007±0,02	7,65±0,04	0,037±0,01*	0,002±0,01
Selen	0,41±0,03	0,004±0,02	0,003±0,01*	0,64±0,02	0,003±0,03	0,003±0,02

*P<0,05 - nazoratga nisbatan ishonchli; n=3; *** - nazorat sifatida sog'lom pomidor mevasi olingan.

Shuningdek, ToBRFVning pomidor mevasi tarkibidagi makro va mikroelementlarga ta'siri ham o'rganildi. Olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, virus bilan kasallanish nazoratga nisbatan *Pink Paradise* simptomli mevalarida Fe, Cu, Mn kabi elementlar butunlay aniqlanmagan. Kaliy esa 9,36 mg/g ni tashkil etdi va bu nazoratga nisbatan 200 baravar kamayganligini ko'rsatdi. *Alamino* navida ham Zn 7,65 mg/g dan 0,002 mg/g gacha kamaygan, Fe esa umuman aniqlanmagan.

Olib borilgan tahlillar natijasida pomidor mevalariga ToBRFV infeksiyasining ta'siri makro va mikroelementlar konsentratsiyasi kamayishiga olib keladi. Bu esa nafaqat o'simlikning normal metabolik jarayonlarini izdan chiqargan, balki mevaning oziqaviy va biologik qiymatini ham kamaytirgan.

Import qilinayotgan pomidor urug'larida ToBRFVni molekulyar genetik usullar yordamida aniqlash. 2022-2025 yillar mobaynida O'zbekiston Respublikasiga 20 dan ortiq davlatlardan umumiy 40 028 kg pomidor urug'i import qilingan. Ularning barchasi belgilangan standartlarga muvofiq an'anaviy PZR tahlili asosida ToBRFVga tekshirilgan, shundan 5 ta holatda virus aniqlangan ijobiy natijalar ko'rsatgan urug' namunalari boshqa usul bilan qayta tekshirilganda, Real vaqtdagi TT-PZR (qPCR) tahlilida 23,13-33,46 oralig'idagi Cq qiymatlari kuzatilgan. Bu ko'rsatkichlar urug'larda virus RNKsi mavjudligini tasdiqladi (4-jadval).

4-jadval

2022-2025 yillar davrida import qilingan pomidor urug'laridan ToBRFVni aniqlash

№	Pomidor nav va namuna nomi	Davlat nomi	ToBRFV diagnostikasi	
			An'anaviy TT-PZR	Real vaqtdagi TT-PZR(Cq)
1	Ancon	Turkiya	++	33,46
2	Firmont F ₁	Niderlandiya	++	33,38
3	Tiger F ₁	Isroil	++	31,02
4	Sevara	Turkiya	+++	30,01
5	Yusupov	Hindiston	+++	23,13

Natijalar shuni ko'rsatadiki, ToBRFVning urug' orqali yuqishi katta xavf tug'diradi va xalqaro savdo yo'llari orqali respublikaga kirib kelishi mumkin. Shu sababli, xalqaro standartlarga asoslangan PZR diagnostika usullarining O'zbekiston fitosanitar amaliyotiga joriy qilinishi virusning mamlakatimiz hududida keng tarqalib ketishining oldini olish va karantin xavfsizligini ta'minlashda muhim ahamiyatga ega.

ToBRFVga turli preparatlarning ta'sir darajasini aniqlash hamda qarshi kurash choralarini ishlab chiqish. Shu maqsadda kimyoviy preparat sifatida KMnO₄ va NaClO moddalari, hamda biologik preparatlar "Bakfungin", "Bovera", shungdek, O'zRFA Mikrobiologiya institutidan *Pseudomonas chlororaphis*, *P. trivialis*, *Bacillus subtilis* va *B. halotolerans* shtammlari olindi hamda ularning antiviral xususiyatlari o'rganildi. Buning uchun ToBRFV bilan kasallangan pomidor urug'lariga KMnO₄ (0,005% - 0,5%) va NaClO (2,5%-6,0%) eritmalarining turli konsentratsiyalarida 10, 20, 30 va 40 daqiqa davomida ishlov berildi. Dastlab nam kameraga, so'ngra tuproqqa ekildi. Namunalari har 15 kunda real vaqtdagi TT-PZR tahlillaridan o'tkazib borildi (5-jadval).

Natijalar shuni ko'rsatdiki, kimyoviy moddalar urug'ning unuvchanligiga salbiy ta'sir ko'rsatgan. Ayniqsa, yuqori konsentratsiyali KMnO₄ (0,5%) va NaClO (6,0%) eritmalarida 40 daqiqa ivitilgan urug'larning unuvchanligi mos ravishda 19,3% va 22,5% ni tashkil etgan. Biroq, real vaqtdagi TT-PZR natijalari past konsentratsiyali eritmalarda ishlov berilgan urug'larda ToBRFV RNKsi

saqlanib qolganligini ko'rsatdi, bu esa virusning kimyoviy vositalarga nisbatan yuqori chidamliligini tasdiqlaydi. Umuman olganda, kimyoviy preparatlar urug' yuzasidagi virus zarralarining faolligini qisman pasaytirgan bo'lsada, ularning past konsentratsiyalari virusni to'liq inaktivatsiya qilmagan. Yuqori konsentratsiyalarda esa urug'ning unuvchanligi 70% gacha pasaygan (5-jadval).

5-jadval

Kimyoviy preparatlarning ToBRFVga antiviral ta'siri

Preparat nomi	Konsentratsiya (%)	Ishlov berish, daqiqa	Urug' unuvchanligi, %	ToBRFV RNK mavjudligi (TT-PZR) sutka hisobida			
				15	30	45	60
Nazorat sog' (H ₂ O)	-	-	95,0±0,01*	0	0	0	0
Nazorat kasal (H ₂ O)	-	-	85,2±0,02*	15,06	16,20	16,25	16,39
KMnO ₄	0,005	10	84,6±0,01	16,26	18,39	25,39	27,36
KMnO ₄	0,05	20	71,3±0,03	16,30	18,70	26,25	31,40
KMnO ₄	0,1	30	58,4±0,02*	17,20	18,96	27,39	34,03
KMnO ₄	0,5	40	19,3±0,01	18,04	19,86	28,96	37,19
NaClO	2,5	10	78,6±0,04*	16,45	17,20	24,23	28,09
NaClO	3	20	61,2±0,01	17,63	20,56	28,36	31,39
NaClO	5	30	45,7±0,02	18,36	28,26	34,39	37,23
NaClO	6	40	22,5±0,01	19,03	28,69	32,57	38,96

*P<0,05 - nazoratga nisbatan ishonchli; n=3

Keyingi tadqiqotlar biologik preparatlarning ToBRFV ga antiviral ta'sirini aniqlash ustida olib borildi. Buning uchun ToBRFV bilan zararlangan, 65°C da qizdirilgan pomidor urug'lari "Bakfungin" va "Bovera" biopreparatlari hamda *Pseudomonas* va *Bacillus* avlodlariga mansub bakteriyalarning kultural suyuqliklarida 8 soat davomida ivitildi. Urug'lar nam kamerada unib chiqqandan so'ng, 2 ta chin barg hosil bo'lganda steril tuproqqa o'tkazildi. O'simliklar 4-5 ta chin barg chiqargach, biopreparatlar 1:100 nisbatda eritilib barg yuzasiga purkandi. Xuddi shunday ishlov gullash davrigacha yana bir marta takrorlandi hamda virus konsentratsiyasi har 15 kunda PZR tahlili orqali nazorat qilib borildi (6-jadval).

6-jadval

Biologik preparatlar va bakteriya kultural suyuqliklarining ToBRFVga antiviral ta'siri

Preparat nomi	Urug' unuvchanligi, %	ildizcha (radikula) sm	poyacha (gipokotil) sm	ToBRFV RNK mavjudligi (TT-PZR) sutka hisobida			
				15	30	45	60
Nazorat sog' (H ₂ O)	95,0±0,04	5,7±0,02	3,4±0,01*	0	0	0	0
Nazorat kasal (H ₂ O)	87,5±0,02*	3,0±0,01	4,0±0,02	15,41	16,20	16,35	17,99
"Bakfungin"	91,5±0,01	3,2±0,02	4,5±0,04	16,23	18,64	27,17	38,01
"Bovera"	89,8±0,03	3,9±0,01*	5,4±0,03	17,25	22,19	32,33	32,27
<i>Pseudomonas trivialis</i>	91,2±0,01*	2,9±0,03	6,3±0,01*	20,47	23,89	36,17	38,84
<i>P. chlororaphis</i>	91,5±0,02	2,6±0,04	4,3±0,04	16,41	28,32	27,09	26,62
<i>Bacillus subtilis</i>	90,0±0,04	3,4±0,01*	5,1±0,02	16,75	23,12	32,04	31,18
<i>B.halotolerans</i>	85,5±0,02	3,7±0,02	5,5±0,03*	17,03	27,18	32,99	37,71

*P<0,05 - nazoratga nisbatan ishonchli; n=3

O'tkazilgan PZR tahlillari natijasida "Bakfungin" (Cq=38,01), *Pseudomonas trivialis* (Cq = 38,84) va *Bacillus halotolerans* (Cq=37,71) variantlarida virus RNK deyarli aniqlanmadi. "Bovera" (Cq = 32,27) va *Bacillus subtilis* (Cq=31,18) variantlarida virus sezilarli darajada kamayganligi kuzatildi. *Pseudomonas chlororaphis* (Cq=26.62) variantida virus RNKsi yuqori konsentratsiyada bo'lib, preparat virusga sezilarli ta'sir qilmaganligini ko'rish mumkin.

Xulosa qilib aytganda, biopreparatlar urug'larning unuvchanligini va o'sish ko'rsatkichlarini yaxshilab, ToBRFV RNK miqdorini kamaytirishga olib kelgan. 60 sutkalik kuzatuv "Bakfungin", *P.trivialis* va *B.halotolerans* preparatlari Cq qiymatini > 37 ga teng bo'lishi, virus RNKning deyarli aniqlanmaydigan darajada kamayganligini ko'rsatdi. "Bovera" biopreparati va *B.subtilis* shtammi ham virus miqdorini sezilarli kamaytirgan, ammo to'liq ta'sir etmagan. Olingan natijalar biologik preparatlarning pomidor urug'larini viruslardan himoya qilishda samarali vosita sifatida foydalanish imkoniyatini berdi.

XULOSALAR:

Pomidor mevasi jigarrang bujmayishi (*Tomato brown rugose fruit virus*) virusini ajratish, xususiyatlarini o'rganish va uning diagnostikasi mavzusi bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar natijalari asosida quyidagi xulosalar taqdim etildi:

1. Pomidor o'simligida yashil xol-xol mozaika, mevalarining qattiqlashishi, halqali dog'lanish, jigarrang bujmayishi kabi alomatlar ToBRFV ga xos ekanligi real vaqtdagi-PZR usuli yordamida tasdiqlandi hamda Toshkent, Qibray, Yuqori Chirchiq va Zangiota tumanlari issiqxona sharoitida virusning tarqalishi monitoring qilindi va bu ko'rsatkich 39-51% gacha ekanligi aniqlandi;

2. O'zbekiston iqlim sharoitidan ToBRFV izolyati ajratildi, oqsil qobig'i sinteziga javobgar genom uchastkasini sekvens qilish asosida "ToBRFV Uzb 4.1" izolyati (ID OR501605.1) va to'liq genomini sekvens qilish orqali esa "Tomato brown rugose fruit virus, M-24" izolyati (ID PQ660493.1) molekulyar identifikatsiya qilindi hamda virus izolyatlari evolyutsiyasini ko'rsatuvchi filogenetik shajara daraxti yaratildi.

3. Issiqxona sharoitida oddiy jag'-jag' (*Capsella bursa-pastoris* L.), qoqio't (*Taraxacum officinale*), oddiy sho'ra (*Chenopodium quonea*) kabi aniqlangan tabiiy rezervator o'simliklari va tuproqlarida ToBRFVning saqlanishi hamda changlatuvchi ari *Bombus terrestris* asosiy tarqatuvchi ekanligi PZR tahlillari natijasida tasdiqlandi.

4. ToBRFVning pomidor mevasi tarkibidagi muhim biologik moddalar, jumladan, B₂ vitamini miqdorini nazoratga nisbatan 1,602 mg/g dan 0,496 mg/g (3,2 baravar) gacha, B₁₂ miqdorini 4,5-4,7 mg/g dan 1,6-2,6 mg/g (1,8-2,8 baravargacha), vitamin PP miqdori 0,57-0,93 mg/g dan 0,08-0,16 mg/g gacha (5,8-7,1 baravar), vitamin C miqdori esa 52-57 mg/g dan 48-33 mg/g gacha (1,7 baravar) kamaytirishi virus zararini yuqori baholashga asos bo'lib xizmat qildi.

5. Import qilinayotgan pomidor urug'lari tarkibidagi ToBRFV xalqaro diagnostik standartlar (IPPC va EPPO) asosida molekulyar-genetik diagnostika qilindi hamda 2022-2025 yillar oralig'ida Ancon va Sevara navlari (Turkiya), Firmont F₁ (Niderlandiya), Tiger F₁ (Isroil) va Yusupov (Hindiston) navlari virus bilan kasallangan import ekuv materiallari sifatida aniqlandi va utilizatsiya qilindi.

6. ToBRFVga qarshi KMnO₄ (0,5%), NaClO (6,0%) kimyoviy va "Bakfungin", "Bovera" biopreparatlari hamda *Pseudomonas chlororaphis*, *P. trivialis*, *Bacillus subtilis* va *B. halotolerans* kultural suyuqliklarining ta'sir darajasi o'rganildi. Natijada, kimyoviy preparatlar virus konsentrasiyasini (Cq > 37) kamaytirdi, biroq urug' unuvchanligi mos ravishda 19,3 % va 22,5 % ni tashkil etdi. Biologik preparatlar esa o'simlik immunitetini faollashtirib, virus yuklamasini 60 sutkalik kuzatuvda (Cq > 38) samarali kamaytirganligi aniqlandi. Eng yuqori samaradorlik "Bakfungin", *P. trivialis* va *B. halotolerans* preparatlarida kuzatildi, "Bovera" va *B. subtilis* esa virus yuklamasini sezilarli kamaytirdi.

AMALIY TAVSIYALAR

O'tkazilgan ilmiy izlanishlar, laboratoriya diagnostika natijalaridan kelib chiqib ToBRFV ning tarqalishini, virusning infeksiya manbalarini bartaraf etish va sog'lom ekin maydonini shakllantirish bo'yicha quyidagi amaliy tavsiyalar ishlab chiqildi:

pomidor yetishtiradigan issiqxonalarda virus saqlovchi sifatida aniqlangan oddiy jag'-jag' (*Capsella bursa-pastoris* L.), qoqio't (*Taraxacum officinale*), oddiy sho'ra (*Chenopodium quonea*) kabi yovvoyi o'simliklarni o'sishiga yo'l qo'ymaslik va doimiy fitosanitar tozalash ishlarini olib borish;

ToBRFV aniqlangan issiqxonalarda foydalanilgan changlatuvchi *Bombus terrestris* arilarini boshqa issiqxanalarga o'tkazmaslik hamda qayta changlatuvchi sifatida foydalanmaslik;

virus aniqlangan issiqxonalarda ishlatiladigan mehnat qurollari, jihozlar, ishchilarning kiyimlari va boshqa ashyolarni KMnO₄ (0,5%) yoki NaClO (6,0%) kimyoviy preparatlar bilan ishlov berish orqali virus tarqalishini kamaytirish;

issiqxonalarda ekilgan pomidor, qalampir kabi ekinlarni "Bakfungin" biopreparatlari, *Pseudomonas trivialis* va *Bacillus halotolerans* kultural suyuqliklari bilan ishlov berish orqali organik mahsulot yetishtish hamda virus zararini kamaytirishga erishish mumkin.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD.01/2025.27.12.В.04.05 ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ЧИРЧИКСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**ЧИРЧИКСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

БАХТИЕРОВА МУНИРА СУЛТОНАЛИЕВНА

**ВЫДЕЛЕНИЕ, ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ И ДИАГНОСТИКА
ВИРУСА КОРИЧНЕВОЙ МОРЩИННОСТИ ПЛОДОВ ТОМАТА
(*TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV)*)**

03.00.04 - Микробиология и вирусология

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

Чирчик-2026

Диссертация на соискание учёной степени доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан под номером №B2024.3.PhD/B1239.

Диссертационная работа выполнена Чирчикском государственном педагогическом университете.

Автореферат диссертации размещён на трёх языках (узбекском, русском и английском (резюме)) на веб-сайте диссертационного совета (www.chdpu.uz.ilmiy-kengash) и на информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель:

Файзиев Вахид Бахрамович
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Шеримбетов Анвар Гулмирзаевич
доктор биологических наук, профессор

Махмудов Тохир Халимович
доктор философии по биологии, с.н.с.

Ведущая организация:

**Национальный университет
Узбекистана им. М.Улугбека**

Защита диссертации состоится на заседании диссертационного совета PhD.01/2025.27.12.B.04.05 при Чирчикском государственном педагогическом университете 20 апрель 2026 года в 14⁰⁰ 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 №468) (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)

Автореферат диссертации был распространён « 08 04 » 2026 года.

(Протокол регистрации № 01 от « 09 » 04 » 2026 года)


С.Т. Жураев
Заместитель председателя
Научного совета по присвоению учёной
степени, д.б.н., профессор


А.К. Буранов
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, д.б.н., доцент



ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора (PhD) философии)

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день глобальное увеличение товарооборота между странами в мире приводит к увеличению числа вирусов, поражающих важные сельскохозяйственные культуры, такие как томаты. В результате, это приводит к таким негативным последствиям, как сокращение вегетационного периода томата, снижение качества продукции, и в итоге приводит к значительному экономическому ущербу. Поэтому, широкое использование современных методов диагностики, таких как ПЦР, направленных на быстрое выявление фитопатогенных вирусов, поражающих сельскохозяйственные культур, имеет большое научное и практическое значение для снижения распространения и вредоносности вирусов, а также производства высококачественной и экспортно-ориентированной сельскохозяйственной продукции.

В мире проводятся углубленные научные исследования по выявлению вирусов, поражающих томаты, изучению их характеристик, разработке мер по их молекулярной идентификации и борьбе с ними. Вирус коричневой морщинистости плодов томата является одним из самых распространенных в мире вирусов, наносящий значительный ущерб урожайности томатов, и в настоящее время уделяется большое внимание изучению его распространения, определению биологии и молекулярно-генетических особенностей, оценке его влияния на физиологические свойства растений, созданию устойчивых сортов и снижению его вредоносности.

В нашей стране достигнуты определённые результаты по выявлению вирусов (*Lycopersicon esculentum* Mill.), поражающих томат, защите растения от различных болезней, повышению его урожайности и защите от различных болезней с использованием современных научных достижений и быстрой диагностике болезней. В Стратегии развития Нового Узбекистана поставлены приоритетные задачи «Выращивание экспортноориентированной продукции и развитие плодовоовощеводства, увеличение площадей интенсивных садов в три раза и теплиц – в два раза, увеличение экспортного потенциала дополнительно на 1 миллиард долларов США»¹. Исходя из этих задач, выделение вируса коричневой морщинистости плодов томата, изучение его молекулярно-генетических особенностей, регистрация новых изолятов, диагностика на основе ответственного за синтез белка оболочки гена, выявление путей распространения и сохранности, а также разработка мер по борьбе с ним имеет большое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит решению задач, определенных в Постановлении Президента Республики Узбекистан №ПП-4246 «О мерах по дальнейшему развитию

¹Указ Президента Республики Узбекистан, от 28.01.2022 г. № УП-60 «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022 – 2026 годы»

садоводства и тепличного хозяйства в Республике Узбекистан» от 20 марта 2019 года, Указе Президента Республики Узбекистан №УП-5853 «Об утверждении Стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы» от 20 октября 2019 года, Указе Президента Республики Узбекистан №УП-6262 «О мерах по кардинальному совершенствованию системы карантина и защиты растений в республике» от 15 июля 2021 года, Указе Президента Республики Узбекистана №УП-60 «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы» от 28 января 2022 года, Постановлении Кабинета Министров Республики Узбекистан №361 «О дальнейшем развитии деятельности научно-исследовательского института овощных, бахчевых культур и картофелеводства Национального центра сельскохозяйственных знаний и инноваций при Министерстве сельского хозяйства» от 5 июля 2022 года, а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологии республики: Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий республики «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. За рубежом исследования по выявлению и диагностике вирусных болезней томата занимались такие учёные, как: F.Holmes (1935), M.Hollings и O.Stone (1973), H.Laterrot (1982), I.Hanssen (2010) и M.Lapidot (2010) выявили широко распространенную инфекцию томата Вирус желтой курчавости листьев томата (TYLCV), N.Soler (2011), S.Panno (2012), S.Davino (2016) выявили новые типы вирусов, обнаруженных у томатов, и провели их молекулярную диагностику, а в последние годы исследования вируса коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV) проводили N.Luria и A.Dombrovsky (2017), N.Salem (2019), R.Alkowni (2020), S.Panno (2020), B.Chanda и H.Fidan (2021).

В странах СНГ проведены ряд научных исследований по изучению вирусов растений. В частности, под руководством академика РАН И.Г.Атабекова, С.Ю.Морозова (2001), О.Карповой (2006), Р.В.Гнутовой (2012), Ю.А.Шнейдер (2021) и другими учеными, были проведены исследования по молекулярно-генетическим особенностям тобамовирусов и бегомовирусов, обнаруженных у томатов, выявлению новых штаммов и изучению структуры их белков.

В нашей стране ряд учёных проводили свои научные исследования по выявлению, изучению свойств и диагностике вирусов растений, в частности: Ю.И.Власов (1960), В.Мирзаахмедов (1964), А.Х.Вахабов (1964), К.С.Давронов (1984), З.Н.Кадилова (1992), У.М.Джурасева (1993), Г.М.Умарова (2009), В.Б.Файзиев (2011), Т.С.Хусанов (2020), Т.Х.Махмудов (2023), Д.Т.Жовлиева (2024), З.Ш.Собирова (2024). Исследования по изучению патогенных вирусов томата, в частности вируса томатной мозаики, проводились Б.Ж.Ахмадалиевом (2023).

Однако в нашей стране исследования по выделению вируса томата ToBRFV, изучению их биологических свойств, диагностике, растений-резерваторов и распространения не проводились, при том, что исследования в этой области при разработке мероприятий по борьбе с этим вирусом имеют большое практическое значение.

Связь темы диссертации с планами научно-исследовательской работы высшего образовательного учреждения, в котором выполнена диссертационная работа. Диссертационное исследование выполнено согласно плану научно-исследовательских работ Чирчикского государственного педагогического университета в рамках научной тематики "Выделение, изучение особенностей и диагностика фитопатогенных вирусов, распространенных в климатических условиях Узбекистана".

Целью исследования является выделение РНК вируса, определение особенностей и молекулярно-генетическая идентификация вируса коричневой морщинистости плодов томата, распространенного в условиях защищенного грунта, и построение его филогенетического дерева.

Задачи исследования:

мониторинг и определение уровня распространения вирусоспецифических заболеваний на томатах, выращиваемых в закрытых изолированных условиях в Ташкентской области, с помощью молекулярно-генетических методов;

молекулярная диагностика и построение филогенетического дерева вируса ToBRFV на основе его биоинформатического анализа;

определение распространения вируса ToBRFV в изолированных закрытых условиях, резерваторных растениях и сохранности;

оценка вредоносности вируса путем определения его влияния на содержание важных биологических веществ в плодах томата;

идентификация вируса ToBRFV в импортных семенах томата с использованием молекулярно-генетических методов;

определение степени воздействия различных препаратов на вирус и разработка мер по борьбе с ним.

Объектом исследования является изоляты вируса коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV), поражающего растения томата в тепличных хозяйствах нашей республики.

Предметом исследования являются выделение изолята вируса ToBRFV, изучение влияния вируса на важные вещества в плодах томата и физиологические свойства растения, определение его резерваторов, молекулярно-генетическая идентификация и построение его филогенетического дерева.

Методы исследования. В диссертационной работе были использованы вирусологические, физико-химические, молекулярно-генетические, биоинформатические, статистические методы, а также метод сравнительного анализа.

Научная новизна исследования заключается в следующем:
впервые в нашей Республике идентифицирован вирус ToBRFV как фитовирус, наносящий серьёзный ущерб урожайности и качеству растений томата в условиях закрытой изоляции;

методом секвенирования на основе полногеномного исследования изолята «Tomato brown rugose fruit virus, M-24» и участка гена ответственного за синтез белка оболочки (БО) изолята «ToBRFV Uzb_4.1» проведена молекулярная идентификация изолятов, а также на основе биоинформатического анализа построено их филогенетическое дерево, и доказаны его отличия от изолятов, распространенных в других регионах мира;

с помощью ПЦР-анализов выявлены новые растения-резервуары вируса, такие как пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* L.) и одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale*);

сравнительный анализ гена CP изолята ToBRFV «M-24» с другими изолятами выявил наличие точечной (миссенс-мутации) мутации в пяти его областях и доказано, что это привело к замене аминокислоты лейцина (L) на глутамин (Q), аминокислоты тирозина (Y) на аспарагиновую кислоту (D), аминокислоты лизина (K) на аспарагин (N), аминокислоты аланина (A) на валин (V) и аминокислоты аргинина (R) на серин (S).

Практические результаты исследования:

разработана рекомендация «Диагностика и профилактика вируса коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV)»;

в результате исследований, проведенных по определению выживаемости и распространения вируса, доказано, что основными источниками инфекции являются зараженная почва, посевной материал – рассада томатов и семена в закрытых, изолированных условиях, а основными переносчиками – пчелы-опылители (*Bombus terrestris*), орудия труда и человек.

Достоверность результатов исследования обосновывается применением в диссертационной работе классических и современных методов, соответствием научных подходов, полученных на основе анализа результатов с теоретическими данными, проведением статистического анализа популяционных данных на основе современных программ (Statistica 6.0), а также биоинформатическим анализом с использованием программ SnapGene, MEGA11, размещением нуклеотидной последовательности исследуемого вирусного изолята в базе данных GenBank NCBI, обсуждением результатов на национальных и международных конференциях, а также публикацией результатов исследования в научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования обосновывается молекулярной идентификацией фрагмента генома белковой оболочки вируса

ToBRFV и полной последовательности генома, построением филогенетического дерева вируса с использованием биоинформатического анализа, а также определением новых природных растений-резервуаров, имеющих важное значение для сохранения и циркуляции вируса в тепличных условиях.

Практическая значимость результатов исследования обосновывается проведением мониторингом вируса ToBRFV на полях томата в условиях закрытой изоляции с использованием современного быстрого диагностического метода ОТ-ПЦР, а также определением эффективной концентрации и способа применения различных биопрепаратов, таких как «Bakfungin», «Bovera», и химических препаратов, таких как KMnO₄, NaClO, против вирусной инфекции.

Внедрение результатов исследования. На основе полученных научных результатов по выделению, изучению особенностей и диагностике вируса ToBRFV, возбудителя заболевания томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.):

Распространенный на территории нашей республики изолят вируса ToBRFV был передан в генофонд «Коллекция уникальных научных объектов фитопатогенных и других микроорганизмов» (справка Академии Наук Республики Узбекистан № 4/1255-2468 от 6 ноября 2024 года). В результате, это дало возможность обогатить генофонд коллекции штаммов фитопатогенных микроорганизмов и сформировать информационно-аналитическую систему электронной базы данных видового разнообразия вирусов;

Методом ПЦР проведен анализ ряда симптомов вирусных заболеваний томата, наблюдаемых на посевах томата в тепличных условиях Ташкентской области, и впервые в нашей республике идентифицированы изоляты вируса ToBRFV «ToBRFV Uzb_4.1» и «Tomato brown rugose fruit virus, M-24», и биоинформативные сведения изолятов были размещены в базе данных NCBI (Национальный центр биотехнологической информации) с идентификационными номерами OR501605.1 и PQ660493.1 (справка Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан № 05/06-04-395 от 14 июля 2025 года). В результате, это сведения дали возможность применения данного изолят вируса в научных исследованиях в этой области по всему миру, определить миграцию этого вируса и изучить его филогенетическое дерево.

Разработанная рекомендация по теме «Диагностика и профилактика вируса коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV)» внедрена в лабораторную практику Ташкентского и Ферганского областных управлений Агентства по карантину и защите растений (справка Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан от 14 июля 2025 года № 05/06-04-395). В результате, она послужила научно-методическим руководством по раннему выявлению вируса и проведению

фитосанитарного контроля на культурах томата и перца в защищенных парниках, а также снижению уровня его распространения.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 4 международных и 4 республиканских научно-практических конференциях.

Публикации результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 13 научных работ и 1 рекомендация из них 5 научных статей, в рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, в том числе 3 в республиканских и 2 в зарубежных журналах.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, трёх глав, выводов, практические рекомендации и списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 115 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность и необходимость проведенных исследований, описаны цели, задачи, объекты и предметы исследования, указано соответствие основным приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, изложены научная новизна и практические результаты исследования, раскрыта теоретическая и практическая значимость полученных результатов, представлена информация о внедрении результатов исследования в практику, опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Анализ литературы по общей характеристике и диагностике вируса коричневой морщинистости плодов томата**» представлены сведения об описании вируса ToBRFV, его биологии, экологии и систематике, а также анализ литературы по опасным фитопатогенным вирусам, входящим в перечень карантинных вирусных заболеваний томатов, вызывающих преждевременную остановку их вегетации и широко распространенных во всем мире.

Во второй главе диссертации «**Материалы и методы исследования**» описаны материалы, использованные для проведения исследования, и ряд методов, таких как ОТ-ПЦР, ПЦР в реальном времени, классический ПЦР, детекция вируса, его изоляция, молекулярно-генетическая идентификация и построение филогенетического дерева.

В третьей главе диссертации «**Результаты и анализ характеристик, молекулярной диагностики и филогенетического анализа ToBRFV**» представлен ряд результатов исследований, таких как молекулярная идентификация вируса ToBRFV и мониторинг уровня его распространения в теплицах, изучение влияния вируса на морфофизиологические свойства растений.

Первоначально на томатах, выращиваемых в теплицах, были проведены наблюдения за симптомами заболеваний, характерных для вирусных заболеваний, таких как мозаичные пятна на листовых пластинках, скручивание, пожелтение или появление коричневых пятен на плодах, неравномерное созревание, затвердение и изменение формы плодов. Были отобраны пробы с листьев и плодов растения и методом ПЦР в реальном времени исследованы эти образцы и эти симптомы были признаны типичными для ToBRFV (Рисунок 1).

ПЦР-анализ образцов, собранных из районов, показал что 12 из них были положительными, а 4-отрицательными. В результате ПЦР-анализа установлено, что частота выявления ToBRFV в общего количества образцов составила 75%. Визуальный осмотр томатных растений, на которых был обнаружен вирус, показал, что у некоторых сортов наблюдались явные симптомы заболевания (на листьях и плодах), в то время как другие находились в латентной форме. Среди сортов, у которых был обнаружен вирус, преобладали сорта *Pink Paradise* и *Alamino*. Инфицирование также было зафиксировано у сорта *O'zge*. Отрицательные результаты наблюдались у сортов *Zamira* и *Marvelans*, то есть они не были инфицированы вирусом.



Рисунок 1. Симптомы, характерные для вирусных заболеваний, наблюдаемых на растениях томата.

На рисунке: А-хлоротичные пятна и деформация плодов; В, D - неравномерное созревание и изменение окраски; С, Е, F - коричневые морщинистые пятна и затвердение плодов.

Вирус был обнаружен одновременно и в листьях и плодах. Это показывает о широком распространении вируса ToBRFV по всем органам растений. Показатель S_q варьировались от 17,13 до 29,19 а их различия указывают на разную степень инфицирования. (таблица 1).

Согласно полученным данным, наиболее высокий уровень заболеваемости зафиксирован в хозяйствах Кибрайского района (48-55%). Это позволяет оценить Кибрайский район как основной очаг распространения вируса. В хозяйствах Юкори Чирчикского района уровень заболеваемости был относительно низким и колебался в пределах 40-44%. В хозяйствах Зангиатинского района уровень заболеваемости зафиксирован в пределах 39-49%. Эти результаты позволяют нам считать Кибрайский район основным центром распространения вируса.

Таблица 1

Диагностика вируса ToBRFV методом ОТ-ПЦР в реальном времени

Сорт томата	Название фермерского хозяйства	Тип образца	*C _q ПЦР показатель	Заключение ПЦР
<i>Pink Paradise</i>	“Agro Light”	лист	NA	отрицательный
<i>Pink Paradise</i>	“Organik biofood”	плод	17,13	положительный
<i>Zamira</i>	“Salar Nuriddinov Pahridin”	лист	NA	отрицательный
<i>Alamino</i>	“Agro Produkt Export”	плод	25,65	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“Eco Flowers”	плод	26,64	положительный
<i>O'zge</i>	“Toshkent logistika servis”	плод	29,19	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“N green haus”	лист	18,32	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“Topliy Sad”	плод	NA	отрицательный
<i>Marvelans</i>	“Agro Impex Gold”	плод	NA	отрицательный
<i>Pink Paradise</i>	“Baxtiyor mirishkor fayz”	лист	17,55	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“Davr savdo”	плод	24,57	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“Nsa Agro Development”	лист	26,49	положительный
<i>Alamino navi</i>	“Stat Agro Product”	плод, лист	26,13	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“Bobur Ulugbek Fayz”	плод, лист	16,54	положительный
<i>Pink Paradise</i>	“Maxamat Rixsivoy Agro”	лист	24,47	положительный
<i>Alamino</i>	“Abdujabbor Fotima Muruvvat”	плод	28,77	положительный

Примечание: *C_q (Quantification cycle) – количество циклов, необходимых для создания копий кДНК. Тестовый образец считается положительным, начиная с указанного цикла.

Идентификация вируса ToBRFV на основе гена белка оболочки и его филогенетический анализ. Для молекулярной идентификации распространенного в нашей стране изолята вируса ToBRFV, по гену, ответственному за белок оболочки (CP), компанией «Letgen Biotechnology LTD» (Турция) синтезирован праймер (ToBRFV-F-ACCAGAG-TCTTCCTATACTCGGA и ToBRFV-R TCACCATCTCTTAATAATCTCCT), рекомендованный Rodriguez-Mendoza *et al.* (2019). ПЦР-продукт составил 475 пар нуклеотидов. С использованием этих праймеров были отобраны и методом классической-ПЦР исследованы образцы томатов сортов *Pink Paradise* и *Alamino* с симптомами вируса ToBRFV, выращенных в теплице ООО «Organik biofood» Кибрайского района Ташкентской области (рисунок 2).

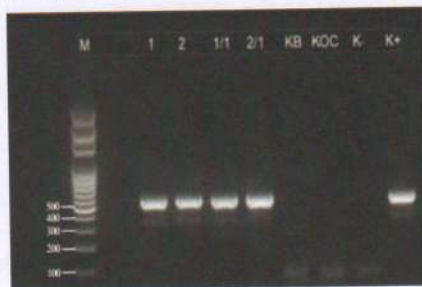


Рисунок. 2. Классический-ПЦР анализ вируса ToBRFV, выявленного в образцах листьев и плодов томата в Ташкентской области. Электрофорез проводили в 1,5% агарозном геле: М - маркер O'GeneRuler 1 kb DNA ladder; 1 – листья томата сорта *Pink Paradise*; 2 – листья томата сорта *Alamino*; 1/1 – плоды томата сорта *Pink Paradise*; 2/2 – плоды томата сорта *Alamino*. Длина ПЦР-продукта составила 475 п.н.

В ходе экспериментов были идентифицированы 2 изолята вируса ToBRFV, выделенных из томата. Нуклеотидные последовательности гена CP (475 п.н.) выявленных изолятов вируса были депонированы в базу данных NCBI под названиями «ToBRFV Uzb_4.1» (ID OR501605.1) и «Tomato brown rugose fruit virus, isolate M-24» (ID PQ660493.1). Изучена нуклеотидная последовательность первого изолята (987 п.н.) и секвенирован полный геном второго изолята длиной 6360 п.н. Эта полная последовательность генома послужила основой для построения филогенетического дерева вируса местного изолята, созданное с помощью программы MEGA11 (рисунок 3).

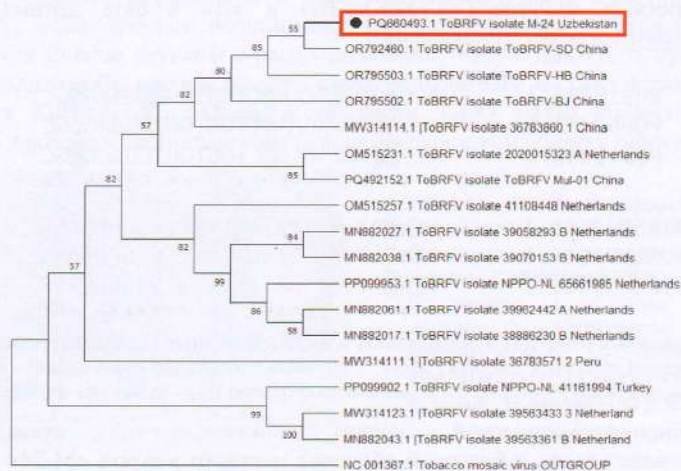


Рисунок 3. Филогенетическое дерево ToBRFV

Как видно из филогенетического дерева, все идентифицированные изоляты в базе данных расположены в трех калыстерах, а изолят «M-24», выявленный в нашем исследовании, находится в той же ветви, что и китайские изоляты, и можно предположить, что они произошли от одного и того же предков вируса, и что все они произошли от голландского изолята, близкого по происхождению к этим изолятам. Биоинформатический анализ гомологии вирусов показал, что изолят «Tomato brown rugose fruit virus, isolate M-24» на 99,7–99,8% схож с другими изолятами вируса ToBRFV. Уровень сходства с вирусом табачной мозаики (BTM), включенным в качестве OUTGROUP, значительно ниже (82%), что свидетельствует о том, что вирус ToBRFV является отдельным самостоятельным тобамовирусом.

Расположение узбекского изолята в кладе 3 на филогенетическом дереве указывает на высокую вероятность того, что вирус проникнул в нашу страну через семена или посадочный материал из других регионов.

Дальнейшие исследования были сосредоточены на молекулярной характеристике белковой оболочки узбекского изолята «M-24».

В частности, был проведен сравнительный анализ его аминокислотного состава с другими близкородственными изолятами. Нуклеотидные последовательности были проанализированы и собраны с использованием программы «SnapGene». Нуклеотидные и аминокислотные последовательности сравнивались с другими изолятами ToBRFV в базах данных GenBank и EBI. (включая PP916473.1 - Yaz.Kha.To и PQ310342.1 - изолят «В»).

Множественное выравнивание последовательностей было выполнено с использованием Clustal Omega. Результаты исследования выявили однонуклеотидные вариации (SNP) и замены аминокислот. Нуклеотидная последовательность изолята «М-24» (PQ660493.1) была сравнена с иранскими изолятами «Yaz.Kha.To» и «В» в базе данных NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Рисунок 4).

PP916473.1	ACCTGTGTACAACTGGTGGCCGAAGGGC
PQ660493.1	ACCACTGGACAACCTGGTGGTGGAAAGCGC
PQ310342.1	ACCACTGGACAACCTGGTGGTGGAAAGCGC
	*** ** * ** * ** * ** * ** * ** *
4.XSB39591.1	VENLATLYATRAINKLV AELVKGFERASG
5.XLM53549.1	VENQATLDATRAINNLVVELVKGFESASG
6.XQN04660.1	VENQATLDATRAINLVVELVKGFESASG
	*** ** * ** * ** * ** * ** * ** *

Рисунок 4. Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей белковой оболочки изолята "М-24" с другими изолятами. Примечание: 1 – изолят «Yaz.Kha.To» (PP916473.1), 2 – изолят «М-24» (PQ660493.1), 3 – изолят «В» (PQ310342.1).

Биоинформатический анализ показал, что нуклеотидная последовательность в белковой оболочке местного изолята «М-24» сходна, но не идентична последовательности других сравниваемых изолятов. При сравнении изолята «М-24» с иранским изолятом «Yaz.Kha.To» (PP916473.1) было обнаружено 6 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). При сравнении изолята «В» (PQ310342.1) было обнаружено 4 SNP-мутации.

Как видно из рисунка, при сравнении изолята «М-24» с наиболее близким иранским изолятом «Yaz.Kha.To» (XSB39591.1) обнаружено, что в 5 точках имела место миссенс-мутация. (генетическое изменение, сопровождающееся заменой одной аминокислоты на другую), то есть аминокислота лейцин (L) была заменена на глутамин (Q), аминокислота тирозин (Y) на аспарагиновую кислоту (D), аминокислота лизин (K) на аспарагин (N), аминокислота аланин (A) на валин (V) и аминокислота аргинин (R) на серин (S).

Кроме того, при сравнении изолята «М-24» с иранским изолятом «В» (XQN04660.1) было обнаружено 3 миссенс-мутации. В данном случае аминокислота пролин (P) была заменена на глутамин (Q), аминокислота лизин (K) на аспарагин (N), а аминокислота аргинин (R) на серин (S).

Эти молекулярные изменения могут быть обусловлены образованием ToBRFV под воздействием различных абиотических (температура, агротехнические мероприятия, стрессовые факторы окружающей среды) и биотических (сорта растений, смешанные инфекции, коэволюция вируса и хозяина) факторов.

Распространение вируса ToBRFV в изолированных условиях, выявление растений-резервуаров и его сохранность. По мнению авторов, проводивших исследования в данном направлении (Dombrovsky A., Smith E, 2017), этот вирус распространяется в закрытых изолированных условиях посредством деятельности человека, рабочих инструментов и ряда других средств. Однако, информации о насекомых-переносчиках малочисленны. Поэтому, целью данного исследования было определение участия шмеля-опылителя *Bombus terrestris* в распространении вируса. Для этого, проведён ПЦР-анализ пробы плодов томатов и пчел-опылителей из ряда фермерских хозяйств Кибрайского района, в частности, ООО «Agro ProduktExport» и «New Agromax» Зангиатинского района Ташкентской области (рисунок 5).

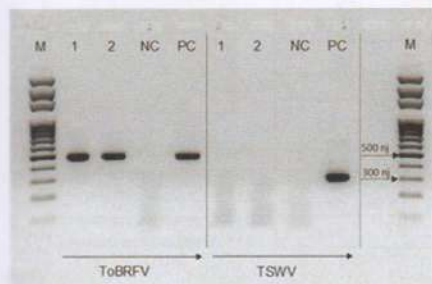


Рисунок 5. Электрофореграмма результатов классического ПЦР для определения распространения вирусов ToBRFV и TSWV.

На рисунке: 1 – плоды томата *Alamino*, 2 – опылители шмели *Bombus terrestris*, NC – отрицательный контроль, PC – положительный контроль, M – маркер (100 п.н.).

Как видно из рисунка, шмель опылитель *Bombus terrestris* и плоды томата были подтверждены как распространители ToBRFV (Рисунок 5, 1,2), но TSWV не был обнаружен.

Идентификация насекомых-переносчиков и растений-резервуаров вируса имеет большое практическое и теоретическое значение при разработке мер по борьбе с ним. В рамках исследования были также взяты образцы растений томата сорта «*Pink Paradise*», выращенных в теплице Кибрайского района Ташкентской области, и сорняков (дикорастущих растений). Полученные образцы были исследованы в лабораторных условиях с использованием ПЦР-анализа (таблица 2).

Как видно из таблицы, аккумуляция вируса в плодах томата сорта *Pink Paradise* составило $C_q = 25,13$, в образцах *Capsella bursa-pastoris* L. и *Solanum nigrum* этот показатель составил $C_q = 29,62$ и $25,39$, а в образцах *Taraxacum officinale* и *Chenopodium quinoa* значения составили $C_q = 25,13$ и $C_q = 26,79$ соответственно, что выше значений положительного контроля (K+) $C_q = 27,28$, что подтверждает латентное накопление вируса в организме данных растений (таблица 2, рисунок 6).

Таблица 2.

Определение растений резерваторов ToBRFV методом ОТ-ПЦР в реальном времени

Название растения	Результат ПЦР (Сq)
Томаты (<i>Pink Paradise</i>)	25,13
Обыкновенный ястребинка (<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.)	26,79
Белена черная (<i>Hyoscyamus</i> L.)	-
Дикая капуста (<i>Brassica campestris</i> L.)	-
Портулак (<i>Portulaca oleracea</i> L.)	-
Клевер (<i>Trifolium</i>)	-
Паслён черный (<i>Solanum nigrum</i>)	25,62
Вьюнок полевой (<i>Convolvulus sepium</i>)	-
Свиной пальчатый (<i>Cynodon dactylon</i> L.)	-
Мальва (<i>Malva</i> L.)	-
Одуванчик (<i>Taraxacum officinale</i>)	25,39
Дикий латук (<i>Lactuca serriola</i>)	-
Звездчатка (<i>Stellaria media</i>)	-
Амарант обыкновенный (<i>Chenopodium quinoa</i>)	29,37
K+ (положительный контроль)	27,28
KB- (внутренний контроль)	-
K- (отрицательный контроль)	-



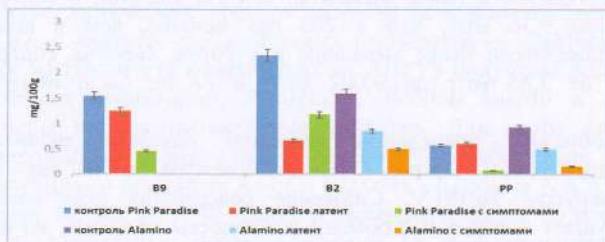
Рисунок 6. Резерваторные растения вируса ToBRFV.
 а) *Taraxacum officinale*,
 б) *Capsella bursa-pastoris*,
 в) *Chenopodium quinoa*

Соответственно, согласно результатам исследования, учитывая, что вирус ToBRFV развивается осенью на многолетних растениях *Taraxacum officinale*, *Capsella bursa-pastoris* L. и однолетнее растение *Chenopodium quinoa*, зимует под снегом и продолжает расти весной, сохранение вируса ToBRFV в растениях-резерваторах приводит к периодической циркуляции вируса и его распространению на более обширную территорию.

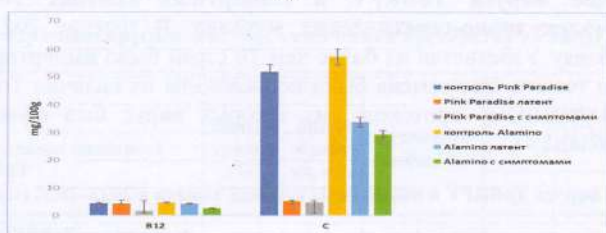
Оценка вредоносности вируса, путем определения его влияния на содержание важных биологически активных веществ в плодах томатов. Для этого были изучены количественные изменения важных биологически активных веществ, включая витамины В₉, В₂, В₁₂, РР и С, в плодах томатов, инфицированных вирусом ToBRFV, и здоровых плодах (рисунок 7).

Как видно из диаграммы, содержание витамина В₉ в пораженных и симптоматических плодах было снижено в 3 раза только у сорта *Pink Paradise* по сравнению с контролем, в то время как содержание витамина В₂ в поражённых и симптоматических плодах снизилось до 0,496 мг/г у сорта *Alamino*, витамина В₁₂ до 1,6-2,6 мг/г, а витамина РР- до 0,08-0,16 мг/г. Наибольшая разница наблюдалась в содержании

витамина С, которое составляло 52-57 мг/г в здоровых плодах, тогда как в пораженных плодах этот показатель снизился на 4,8-33 мг/г.



а)



б)

Рисунок 7. Содержание витаминов в инфицированных вирусом ToBRFV плодах томатов. На рисунке: а) количество витаминов В₉, В₂ и РР; б) количество витаминов В₁₂ и С.

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что вирус ToBRFV резко снижает содержание антиоксидантных витаминов (С и В₂) в плодах томатов. Снижение уровня витаминов В₉ и В₁₂ может негативно влиять на биосинтез нуклеиновых кислот и на другие жизненно-важные процессы клеточного деления. В целом, снижение содержания витаминов, макро и микроэлементов в плодах томатов, инфицированных вирусом ToBRFV, приводит к снижению защитной системы растения.

Также изучено влияние вируса ToBRFV на макро и микроэлементы в плодах томатов (таблица 3).

Таблица 3

Влияние вируса ToBRFV на содержание макро и микроэлементов в плодах томата

Макро и микроэлемент	<i>Pink Paradise</i> ** (контроль)	<i>Pink Paradise</i> , (латент)	<i>Pink Paradise</i> , (с симптомами)	<i>Alamino</i> ** (контроль)	<i>Alamino</i> (латент)	<i>Alamino</i> , (с симптомами)
Калий	2027±0,03*	10,36±0,02	9,36±0,01	2332±0,04	65,68±0,03	10,78±0,04
Железо	37,4±0,04	0	0	64,5±0,03	0	0
Медь	3,28±0,02*	0	0	2,85±0,02*	0	0
Марганец	14,6±0,01	0	0	24,2±0,01	0,044±0,02	0
Цинк	15,6±0,04	0,009±0,01*	0,007±0,02	7,65±0,04	0,037±0,01*	0,002±0,01
Селен	0,41±0,03	0,004±0,02	0,003±0,01*	0,64±0,02	0,003±0,03	0,003±0,02

*P<0,05 – достоверно по сравнению с контролем; n=3; «**» – в качестве контроля взяты здоровые плоды томатов.

Полученные результаты показали, что в зараженных (симптоматических) плодах сорта *Pink Paradise*, по сравнению с контролем, полностью отсутствовали такие элементы, как Fe, Cu, Mn, а содержание Калия составило 9,36 мг/г, что в 200 раз меньше, чем в контроле. Аналогичные показатели были выявлены и у сорта *Alamino*: содержание Zn снизилось от 7,65 мг/г до 0,002 мг/г, а Fe не было обнаружено (таблица 3).

Таким образом, проведенные анализы показали значительное снижение концентрации макро и микроэлементов в плодах томата зараженных вирусом ToBRFV. Снижение содержания этих элементов не только нарушает нормальные обменные процессы растения, но и резко снижает пищевую и биологическую ценность плодов.

Выявление вируса ToBRFV в импортных семенах томатов с помощью молекулярно-генетических методов. В течение 2022-2025 годов в Республику Узбекистан из более чем 20 стран было импортировано 40028 кг семян томата. Все семена были исследованы на наличие ToBRFV согласно установленному протоколу, из которых вирус был обнаружен в 5 случаях (таблица 4).

Таблица 4

Выявление вируса ToBRFV в импортных семенах томата в 2022–2025 годах

№	Сорт томата	Страна происхождения семян	Диагностика ToBRFV	
			Классическая ПЦР	ПЦР в реальном времени (Cq)
1	Семена томата сорта Ancon	Турция	++	33,46
2	Семена томата сорта Firmont F ₁	Нидерланды	++	33,38
3	Семена томата сорта Tiger F ₁	Израиль	++	31,02
4	Семена томата сорта Sevara	Турция	+++	30,01
5	Семена томата сорта Yusufov	Индия	+++	23,13

Образцы семян, проявившие положительные результаты, были повторно протестированы с использованием другого метода. Анализ методом ПЦР в реальном времени (qPCR) показал значения Cq в диапазоне от 23,13 до 33,46. Эти значения подтвердили наличие вирусной РНК в семенах.

Как показали полученные результаты, что передача ToBRFV через семена представляет значительный риск и может проникнуть в республику по международным торговым путям. Поэтому, внедрение в фитосанитарную практику Узбекистана методов ПЦР-диагностики, основанных на международных стандартах, имеет большое значение для предотвращения широкого распространения вируса в нашей стране и обеспечения карантинной безопасности.

Определение степени воздействия различных препаратов на вирус ToBRFV и разработки мер по борьбе с ним. Для этой цели в качестве химических препаратов были использованы вещества $KMnO_4$ и $NaClO$, в качестве биологических препаратов – «Bakfungin», «Bovera», а также из Института микробиологии АНПУЗ получены штаммы бактерий *Pseudomonas chlororaphis*, *P. trivialis*, *Bacillus subtilis* и *B. halotolerans* и изучены их противовирусные свойства. Для этого семена томатов, инфицированные вирусом ToBRFV, обрабатывали различными концентрациями растворов $KMnO_4$ (0,005% - 0,05%) и $NaClO$ (2,5% - 6,0%) в течение 10, 20, 30 и 40 минут и высевали сначала во влажную камеру, затем в специальную почву и каждые 15 дней проводили ПЦР-анализ в реальном времени (таблица 5).

Таблица 5
Противовирусное действие химических препаратов на вирус ToBRFV

Название препарата	Концентрация (%)	Время обработки, мин	Всхожесть семян, %	Наличие РНК ToBRFV (ОТ-ПЦР), сутки			
				15	30	45	60
Контроль здоровый (H_2O)	-	-	95,0±0,01*	0	0	0	0
Контроль зараженный (H_2O)	-	-	85,2±0,02*	15.06	16.20	16.25	16.39
$KMnO_4$	0,005	10	84,6±0,01	16.26	18.39	25.39	27.36
$KMnO_4$	0,05	20	71,3±0,03	16.30	18.70	26.25	31.40
$KMnO_4$	0,1	30	58,4±0,02*	17.20	18.96	27.39	34.03
$KMnO_4$	0,5	40	19,3±0,01	18.04	19.86	28.96	37.19
$NaClO$	2,5	10	78,6±0,04*	16.45	17.20	24.23	28.09
$NaClO$	3	20	61,2±0,01	17.63	20.56	28.36	31.39
$NaClO$	5	30	45,7±0,02	18.36	28.26	34.39	37.23
$NaClO$	6	40	22,5±0,01	19.03	28.69	32.57	38.96

* $P < 0,05$ - достоверно по сравнению с контролем; $n = 3$

Полученные результаты показали, что химические препараты оказали значительное влияние на прорастание семян. В частности, всхожесть семян, инкубированных в течение 40 минут в высококонцентрированных растворах $KMnO_4$ (0,5%) и $NaClO$ (6,0%), снизилась до 19,3% и 22,5% соответственно. Однако результаты ПЦР в реальном времени показали, что РНК вируса ToBRFV обнаружена в семенах, обработанных низкоконцентрированными растворами, что подтверждает высокую устойчивость вируса к химическим препаратам. В целом, хотя химические препараты частично снижали активность вирусных частиц на поверхности семян, их низкие концентрации не приводили к полной инактивации вируса

(таблица 5). При более высоких концентрациях жизнеспособность семян значительно снизилась до 70%.

Дальнейшие исследования были направлены на определение противовирусного воздействия биопрепаратов на вирус ToBRFV. Для этого семена томатов, зараженные вирусом ToBRFV, нагревали до 65°C и инкубировали в течение 8 часов в биопрепаратах «Bakfungin» и «Bovera», а также в культуральных жидкостях бактерий родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. После проращивания во влажной камере семена переносили в стерильную почву при формировании 2 настоящих листьев. Когда у растений появлялось 4-5 настоящих листьев, биопрепараты растворяли в соотношении 1:100 и распыляли на поверхность листьев. Такую обработку повторяли еще раз до периода цветения, а концентрацию вируса контролировали каждые 15 дней методом ПЦР-анализа (таблица 6).

Таблица 6

Противовирусное действие биологических препаратов и культуральных жидкостей бактерий на вирус ToBRFV

Название препарата	Всхожесть семян, %	Длина корешка (радикул а), см	Длина стебля (гипокот иль), см	Наличие РНК ToBRFV (ОТ-ПЦР), сутки			
				15	30	45	60
Контроль здоровый (H ₂ O)	95,0±0,04	5,7±0,02	3,4±0,01*	0	0	0	0
Контроль заражённый (H ₂ O)	87,5±0,02*	3,0±0,01	4,0±0,02	15.41	16.20	16.35	17.99
«Bakfungin»	91,5±0,01	3,2±0,02	4,5±0,04	16.23	18.64	27.17	38.01
«Bovera»	89,8±0,03	3,9±0,01*	5,4±0,03	17.25	22.19	32.33	32.27
<i>Pseudomonas trivialis</i>	91,2±0,01*	2,9±0,03	6,3±0,01*	20.47	23.89	36.17	38.84
<i>P. chlororaphis</i>	91,5±0,02	2,6±0,04	4,3±0,04	16.41	28.32	27.09	26.62
<i>Bacillus subtilis</i>	90,0±0,04	3,4±0,01*	5,1±0,02	16.75	23.12	32.04	31.18
<i>Bacillus halotolerans</i>	85,5±0,02	3,7±0,02	5,5±0,03*	17.03	27.18	32.99	37.71

*P < 0,05 - достоверно по сравнению с контролем; n = 3

Следует отметить, что биопрепараты улучшали проращивание и рост семян, а также снижали содержание РНК вируса ToBRFV. 60-суточное наблюдение показало, что препараты «Bakfungin», *Pseudomonas trivialis* и *Bacillus halotolerans* имели значения Cq > 37 и снижали содержание вирусной РНК практически до неопределяемого уровня. Биопрепарат «Bovera» и штамм *Bacillus subtilis* также значительно снижали содержание вируса, но не оказывали полного эффекта. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования биопрепаратов в качестве эффективного средства биопротекторной защиты семян томата от вирусов.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных научных исследований по диссертации доктора наук (PhD) на тему «Выделение, характеристика и диагностика вируса коричневой морщинистости (*Tomato brown rugose fruit virus*) плодов томата» предоставлены следующие выводы:

1. Методом ПЦР в реальном времени подтверждена специфичность симптомов зеленой мозаики, затвердения плодов, кольцевой пятнистости и бурой гнили томатов к вирусу ToBRFV. Проведен мониторинг распространения вируса в тепличных условиях Ташкентского, Кибрайского, Юкори Чирчикского и Зангиатинского районов Ташкентской области, при этом показатель составил 39–51%.

2. В условиях Узбекистана выделен изолят вируса ToBRFV, и на основании секвенирования участка генома, ответственного за синтез белка оболочки, изолят «ToBRFV Uzb_4.1» (ID OR501605.1) и изолят «Tomato brown rugose fruit virus, M-24» (ID PQ660493.1) были молекулярно идентифицированы путем секвенирования полного генома. Построено филогенетическое дерево, отражающее эволюцию вирусных изолятов.

3. В результате ПЦР-анализов, подтверждено наличие вируса ToBRFV в природных резерваторных растениях и почвах в условиях теплицы, таких как пастушья сумка (*Capsella bursa-pastoris* L.), одуванчик (*Taraxacum officinale*) и киноа (*Chenopodium quonea*), а также то, что основным его переносчиком является шмель-опылитель *Bombus terrestris*.

4. Основанием для увеличения вредоносности вируса послужило снижение содержания важных биологических веществ в плодах томата под действием вируса ToBRFV, в том числе витамина B₂ от 1,602 мг/г до 0,496 мг/г (в 3,2 раза) по сравнению с контролем, B₁₂ от 4,5–4,7 мг/г до 1,6–2,6 мг/г (в 1,8–2,8 раза), витамина PP от 0,57–0,93 мг/г до 0,08–0,16 мг/г (в 5,8–7,1 раза) и витамина C от 52–57 мг/г до 48–33 мг/г (в 1,7 раза).

5. Молекулярно-генетическая диагностика вируса ToBRFV в импортных семенах томата проводилась на основе международных диагностических стандартов (IPPC и EPPO), и в 2022–2025 годах были идентифицированы и утилизированы как импортные материалы, зараженные вирусом, сорта Ancon и Sevara (Турция), Firmont F₁ (Нидерланды), Tiger F₁ (Израиль) и Yusufov (Индия).

6. Изучена эффективность химических препаратов KMnO₄ (0,5%) и NaClO (6,0%), биологических препаратов «Bakfungin», «Bovera» и культуральных жидкостей бактерий *Pseudomonas chlororaphis*, *P. trivialis*, *Bacillus subtilis* и *B. halotolerans* против вируса ToBRFV. В результате химические препараты снижали концентрацию вируса (Cq > 37), но всхожесть семян снижалась до 19,3% и 22,5%, соответственно. Выявлено, что биологические препараты активировали иммунитет растений и

эффективно снижали вирусную нагрузку в течение 60 суток наблюдений ($C_q > 38$). Наибольшая эффективность наблюдалась у препаратов «Bakfungin», *P. trivialis* и *B. halotolerans*, в то время как «Bovera» и *B. subtilis* оказали существенного влияния на снижение вирусной нагрузки

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основе результатов научных исследований и лабораторной диагностики разработаны следующие практические рекомендации по предотвращению распространения вируса ToBRFV, устранению источников вирусной инфекции и формированию здоровой посевной площади:

предотвращать рост дикорастущих растений, таких как киноа (*Chenopodium quinoa*), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* L.) и одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale*), которые были идентифицированы как резерватеры вируса, в томатных теплицах и проводить регулярную фитосанитарную очистку;

не переносить используемые в теплицах пчел-опылителей *Bombus terrestris*, где был выявлен вирус ToBRFV, в другие теплицы и не использовать их в качестве повторных опылителей;

снизить распространение вируса путем обработки инструментов, оборудования, рабочей одежды и других предметов, используемых в теплицах, где был выявлен вирус, химическими препаратами, такими как $KMnO_4$ (0,5%) или $NaClO$ (6,0%);

необходимо обеспечить органическое производство и снизить ущерб от вирусов путем обработки таких культур, как томаты и перец, выращиваемых в теплицах, биопрепаратами «Bakfungin», культуральными жидкостями *Pseudomonas trivialis* и *Bacillus halotolerans*.

**SCIENTIFIC COUNCIL PhD.01/2025.27.12.B.04.05 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREES AT CHIRCHIK STATE PEDAGOGICAL
UNIVERSITY**

CHIRCHIK STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY

BAKHTIYOROVA MUNIRA SULTONALIYEVNA

**ISOLATION, STUDY OF PECULIARITIES AND DIAGNOSTICS OF
TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS**

03.00.04-Microbiology and virology

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

Chirchik-2026

The topic of the Doctor of Philosophy (PhD) dissertation is registered with the Higher Attestation Commission under the Ministry of Higher and Secondary Specialized Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan under № B2024.3.PhD/B1239.

The dissertation was carried out at the Chirchik State Pedagogical University.

The abstract of the dissertation is available in three languages (Uzbek, Russian, English [resume]) on the Scientific Council website (www.chdpu.uz/ilmiv-kengash) and on the "ZiyoNet" Information and Education Portal (www.zivonet.uz).

Scientific supervisor: Fayziev Vokhid Bakhramovich
Doctor of biological sciences, professor.

Official opponents: Sherimbetov Anvar Gulmirzayevich
Doctor of biological sciences, professor


Maxmudov Tokhir Khalimovich
Doktor of philosophy in biological sciences,
senior researcher

Leading organization: National university of Uzbekistan named
after M.Ulugbek

The defense of the dissertation will take place at the meeting of the PhD.01/2025 27.12.B.04.05 Scientific Council of Chirchik State Pedagogical University in 2026 on 20 April at 14 o'clock. (Address: 111720, Tashkent Region, Chirchiq 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 and Resource Center of Chirchik State Pedagogical University (registered under № 463) (Address: 111720, Tashkent Region, Chirchiq City, Amir Temur Street, House 104, Phone: (+99870) 712-27-55, Fax: (+99870) 712-45-41, E-mail: chdpukengash@umail.uz)

The dissertation abstract was distributed on 09 April 2026 (according to the registry protocol No. 03 dated 09 April 2026).


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

A.Q. 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 is to isolate the RNA *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) circulating under greenhouse conditions, investigate its characteristics, perform molecular-genetic identification, and construct its phylogenetic tree.

The object of research was isolates of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) infecting tomato plants in greenhouses across our country.

The scientific novelty of the research is as follows:

for the first time in our Republic, the complete genome of the “Tomato brown rugose fruit virus, isolate M-24” and the coat protein (CP) gene fragment nucleotide sequence of the “ToBRFV Uzb_4.1” isolate were molecularly identified through sequencing. Based on bioinformatic analyses, their phylogenetic trees were constructed, demonstrating clear differentiation from isolates distributed in other regions of the world;

using PCR analyses, new natural host plants of the virus were identified, including *Capsella bursa-pastoris* L. and *Taraxacum officinale*;

Comparison of the ToBRFV “M-24” isolate with other isolates revealed five missense mutations, resulting in the substitution of *leucine* (L) with *glutamine* (Q), *tyrosine* (Y) with *aspartic acid* (D), *lysine* (K) with *asparagine* (N), *alanine* (A) with *valine* (V), and *arginine* (R) with *serine* (S).

The implementation of the research results.

Based on the research on the isolation, characterization and diagnosis of Tomato brown rugose fruit virus isolate in Uzbekistan:

the ToBRFV isolate circulating in our country was deposited in the “Collection of Unique Scientific Objects of Phytopathogens and other microorganisms” of the Institute of Genetics and Experimental Biology of Plants (Reference: Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 6 November 2024, №. 4/1255-2468). This contributed to the enrichment of the gene bank of phytopathogenic microorganism strains and enabled the development of an information- analysis system for the electronic database of virus diversity.

a series of viral disease symptoms observed in tomato crops under protected conditions in Tashkent region were analyzed using the RT-PCR method. For the first time in the country, isolates of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), namely “ToBRFV Uzb_4.1” and “Tomato brown rugose fruit virus, isolate M-24”, were identified. These isolates were deposited in the International GeneBank (NCBI) database under the accession numbers OR501605.1 and PQ660493.1 (Reference: Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan, 14 July 2025, №. 05/06-04-395). Consequently, these virus isolates can be used in global research, facilitating studies on virus migration and phylogenetic relationships.

a guideline titled “Diagnosis and prevention measures for Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV)” was developed and implemented in the laboratories of the Tashkent and Fergana regional branches of the Plant Quarantine and protection Agency (Reference: Ministry of Agriculture of the

Republic of Uzbekistan, 14 July 2025, № 05/06-04-395). This guideline serves as a scientific and methodological tool for early detection of the virus in greenhouse-grown tomato and pepper crops, for conducting phytosanitary control measures, and for reducing the extent of virus dissemination.

The structure and scope of the dissertation. The structure of the dissertation consists of introduction, three chapters, conclusions, practical recommendations list of used literature. The volume of the dissertation is 115 pages.

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

I bo'lim (I часть; part I)

1. Baxtiyorova M.S., Norov T.M., Fayziyev V.B. Pomidor barg va meva to'qimalarining ToBRFV virusiga ta'sirchanligini molekulyar baholash // NamDU ilmiy axborotnomasi. –Namangan, 2023. № 8. –B. 150-158. (03.00.00. №17)
2. Baxtiyorova M.S. Issiqxona sharoitida pomidorning virusli kasalliklarini molekulyar identifikatsiya qilish // Xorazm ma'mun akademiyasi axborotnomasi. –Xiva, 2023. № 10(1). –B.13-16. (03.00.00. №12)
3. Baxtiyorova M.S., Fayziyev V.B. Identification of certain biological properties and reservoir plants of Tomato brown rugose fruit virus using the PCR method // Modern Biology and Genetics. –Chirchik, 2025. №2 (12). –P. 4-14. (03.00.00. <https://oak.uz/pages/4802>)
4. Bakhtiyorova M., Norov T., Khodjaeva S., Botirova N., Cillo F., Abou Kubaa R. First report of tomato brown rugose fruit virus on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in Uzbekistan // Journal of Plant Pathology, –Italy, 2024. –P. 779. (Scopus).
5. Bakhtiyorova M.S., Yusubakhmedov A.A., Fayziyev V.B. Comparative Analysis of Amino Acid Composition of the Coat Protein of Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) "M-24" Isolate // International Journal of Virology and Molecular Biology 2025, 14(6). –P. 103-106. (03.00.00. Amerika nashirlari, №12)

II bo'lim (II часть; part II)

6. Bakhtiyorova M.S., Khodjaeva S.M. Molecular assessment of virus accumulation level in tomato plant tissues infected with Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) // Modern approaches in the study of the plant kingdom dedicated to the Year of Heydar Aliyev –Baku, 2023. –P 131-132.
7. Бахтиярова М.С., Ходжаева С.М. Влияние высоких температур на выживаемость вируса коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV) в почве // Фитосанитария. Карантин растений Русско- английский научный журнал, Спецвыпуск. Материалы международной научно- практической конференции «Защита и карантин растений. Здоровые растения - здоровая нация» –Россия, 2024. Часть первая –С. 11.
8. Baxtiyorova M.S., Fayziyev V.B., Xodjaeva S.M. Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) virusi biologiyasi va uning ahamiyati // Материалы международной научнопрактической конференции Инновационные основы сельскохозяйственных и биоэкологических исследований в регионе приаралья. Часть 2. –Нукус, 2023. –С. 52-53.

9. Baxtiyoroʻva M.S. Toshkent viloyati issiqxonalarida pomidor oʻsimligining TOBRFV virusi bilan kasallanish monitoringi // Agro kimyo himoya va oʻsimliklar karantini Jurnal. –Toshkent, 2024. Maxsus son. №1. –B. 140-143.

10. Nomozova G.I., Nosirov B., Baxtiyoroʻva M.S. Pomidorning virusli kasalliklarini diagnostika qilishda molekulyar genetik va immunoferment tahlili usullarining roli // Genetika, genomika va biotexnologiyaning zamonaviy muammolari Respublika ilmiy anjumaninig tezislari toʻplami –Toshkent, 2024. –B. 57-59.

11. Baxtiyoroʻva M.S. TOBRFV virusining rezervator oʻsimliklarini PCR usuli orqali aniqlash // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning holati va rivojlanish istiqbollari: yosh olimlar nigohi, Science and innovation Xalqaro ilmiy jurnali Maxsus soni. –Toshkent, 2024. –B. 268-270.

12. Baxtiyoroʻva M.S., Nomozova G.I. Changlatuvchi asalari (*Bombus terrestris*) Tomato brown rugose fruit virusining tashuvchisi // Qishloq xoʻjaligi mahsulotlari eksportida oʻsimliklar karantini va himoyasining oʻrni Respublika ilmiy amaliy anjuman New innovations in national education jurnali Maxsus son 1- jild. –Toshkent, 2025. I qism –B. 175-178.

13. Baxtiyoroʻva M.S. Pomidor mevasining jigarrang bujmayishi virusining (ToBRFV) molekulyar diagnostikasi va tarqalishi // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning holati va rivojlanish istiqbollari Xalqaro ilmiy-amaliy konferensiya –Toshkent, 2025 –B.264-268b.

14. M.S. Baxtiyoroʻva, V.B. Fayziyev, S.M. Xodjaeva, O.A. Sulaymonov. Pomidor mevasi jigarrang bujmatishi (Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) virusi diagnostikasi va oldini olish choralari (Tavsiyanoma) // –Toshkent, “Voris-nashriyot” nashriyoti, 2025. –40 b.

Avtoreferat O'zMPU «Ilmiy axborotlari» jurnali tahririyati
tomonidan 2026-yil 06-aprelda tahrirdan o'tkazildi.



Bosishga ruxsat etildi. 06.04.2026 y.
Qog'oz bichimi 60x84 1/16. Times New Roman
gamiturasida terildi.
Ofset uslubida oq qog'ozda chop etildi.
Nashriyot hisob tabog'i 3.0, Adadi 100. Buyurtma № 06-04
Bahosi kelishuv asosida

«ZUXRO BARAKA BIZNES» MChJ
bosmaxonasida chop etildi.
Manzil: Toshkent shahar Chilonzor tumani,
Bunyodkor shoh ko'chasi 27 A-uy.