

**POMIDORNING TURLI NAVLARINI TOMAT MOZAIKASI VIRUSIGA
CHIDAMLILIGINI IKKIYOQLAMA IMMUNODIFFUZIYA USULIDA
ANIQLASH**

***B.J.Axmadaliyev, kichik ilmiy xodim, O‘zR FA Genetika va O‘simliklar
Eksperimental Biologiyasi Instituti,***

B.A.Abduvaliyev, kichik ilmiy xodim, O‘zR FA Genetika va O‘EBI

K.I.Nugmanova, stajyor tadqiqotchi, O‘zR FA Genetika va O‘EBI

Z.N.Qodirova, katta ilmiy xodim O‘zR FA Genetika va O‘EBI

E-mail: ahmadaliyev_bobur@mail.ru

Tel: +998909928591

Annotatsiya. Ushbu ilmiy tadqiqotda ishida ToMV bilan sun'iy kasallantirilgan pomidor navlarining ToMV infeksiyasiga chidamliligi ikkiyoqlama immunodiffuziya usulida aniqlangan. Ikkiyoqlama immunodiffuziya usuli natijalariga ko'ra, pomidor navlarining tomat mozaikasi virusiga chidamliligi baholangan. Tadqiqot davomida olingan natijalar virus va unga olingan AZ bilan hosil qilgan pretsipitatsiya chiziqlariga qarab tekshirilgan pomidorning 25 xil navlaridan Darxon, Revansh, Blogodatniy, Perst, Sulton F₁ navlari virusga immun ekanligi, TMK-22, Sevara, Agro, Tvenid, Finish, Tanimi, Lojayin F₁, N-2274, Chelnok, Dolgonosik navlari ToMV ga chidamli va Zakovat, Faxriy, Magnat, L-200, Ofarin, Yoqut, Baqlajan, Surxon 142, Charodey, Ofarin-2 navlari esa ToMV ga chidamsiz ekanligi aniqlangan.

Kalit so'zlar: *Tomat mozaikasi virusi, ToMV, antizardob, ikkiyoqlama immunodiffuziya, antigen, fosfat buferi, tobamovirus, Solanum lycopersicum L.*

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ТОМАТА К ВИРУСУ
МОЗАИКИ ТОМАТА МЕТОДОМ ДВОЙНОЙ ИММУНОДИФФУЗИИ**

Аннотация. В данном исследовании устойчивость сортов томата, искусственно зараженных ВТом, к инфекции ВТом определяли методом двойной иммунодиффузии. По результатам двойной иммунодиффузии оценивали устойчивость сортов томата к вирусу томатной мозаики. Полученные в ходе исследования результаты показали, что среди 25 исследованных сортов томатов иммунитет к вирусу имеют сорта Дархан,

Реванш, Благодатный, Перст, Султан F1, в то время как сорта ТМК-22, Севара, Агро, Твенид, Финиш, Таними, Лоджаин F1, Н-2274, Челнок, Долгоносик являются устойчивыми, а сорта Заковат, Фахрий, Магнат, Л-200, Офарин, Ёкут, Баклажан, Сурхан 142, Чародей, Офарин-2 являются неустойчивыми.

Ключевые слова: ВТом, антисыворотка, двойной иммунодиффузии, антиген, фосфатный буфер, *tobamovirus*, *Solanum lycopersicum* L.

DETERMINATION OF RESISTANCE OF TOMATO VARIETIES TO TOMATO MOSAIC VIRUS BY THE METHOD OF DOUBLE IMMUNODIFFUSION

Abstract. In this study, the resistance of tomato varieties, artificially infected with ToMV, to ToMV infection was determined by the method of double immunodiffusion. The resistance of tomato varieties to the tomato mosaic virus was evaluated according to the results of double immunodiffusion. The results obtained during the study showed that among the 25 investigated tomato varieties, the varieties Darkhan, Revansh, Blagodatny, Perst, Sultan F1 have immunity to the virus, while the varieties ТМК-22, Sevara, Agro, Tvenid, Finish, Tanimi, Lodzhain F1, N-2274, Chelnok, Weevil are resistant, and varieties Zakovat, Fakhriy, Magnat, L-200, Ofarin, Yokut, Eggplant, Surkhan 142, Charodey, Ofarin-2 are susceptible to ToMV.

Keywords: ToMV, antiserum, double immunodiffusion, antigen, Phosphate-buffered saline (PBS), *tobamovirus*, *Solanum lycopersicum* L.

Kirish. Dunyodagi keng tarqalgan va inson iste'mol qiladigan ko'plab vitaminlar, minerallarga boy bo'lgan, ochiq maydon hamda issiqxonalarda yetishtiriladigan sabzavot ekinlaridan biri pomidor (*Solanum lycopersicum* L.) hisoblanadi. FAO (2020) ma'lumotlariga ko'ra, dunyoda yiliga 177 million tonna pomidor yetishtiriladi. Dunyoda yetishtiriladigan pomidor hosilining katta qismi Xitoy (56 million tonna/yil), Hindiston (18 million tonna/yil), Turkiya (12,6 million tonna/yil), Rossiya Federatsiyasiga (3 million tonna/yil) to'g'ri keladi.

O'zbekistonda 50 ming gektar maydonda pomidor yetishtiriladi, ishlab chiqarish hajmi yiliga 2,6 million tonnani tashkil etadi [1].

So'nggi o'n yil ichida o'simliklarda aniqlangan yangi kasalliklarining deyarli yarmi fitopatogen viruslar tomonidan keltirib chiqarishi aniqlangan. Pomidor o'simligining hosil sifati va miqdorini kamaytiruvchi, pomidorni kasallantirib, uning vegetasiyasini erta yakunlashiga sabab bo'luvchi, dunyo bo'ylab eng keng tarqalgan fitopatogen viruslardan biri tobamoviruslar avlodiga mansub Tomat mozaikasi virusi hisoblanadi [2].

ToMV birinchi bo'lib 1909-yilda AQSH da Klinton tomonidan *Solanum lycopersicum* L. o'simligidan ajratib olingan. ToMV ning virioni tayoqcha shaklida, 300x18 nm kattalikka ega [3]. Aksial kanalning diametri 4 nm. ToMV turli xil virus tashuvchi vektorlar (o'simlik shira bitlari, yaproq qurti, oq pashshalar) kontakt, gul changi va urug'lar orqali tarqaladi [4].

ToMV ning ba'zi shtammi ayrim xossalari bilan TMV ga o'xshasada, lekin ular xo'jayin va indikator o'simliklari, serologik xossalari va virusning oqsil aminokislotalari tarkibiga oid reaksiyalarda farqlanadi [5, 6]. TMV va ToMV *tobamovirus* avlodiga mansub ikkita yaqin tur bo'lib, ular turli o'lchamdagi nekrotik zararlanishga olib keladi va o'simlikning fermentativ faoliyatni turli darajada o'zgartiradi [7, 8, 9]. Axatov (2010) ma'lumotlariga ko'ra, Gollandiya va Daniyada pomidorning immun duragaylarida TMV ga hosil bo'lgan immunitetini ToMV tomonidan "yengib o'tish" hollari kuzatilmoqda [10]. Pomidorni kasallantiruvchi 136 ta virus turlari orasida Tomat mozaika virusi (ToMV) o'ta barqaror, yuqumli, kosmopolit tobamoviruslardan biri bo'lib, ochiq maydon va issiqxonada pomidor yetishtirishdagi asosiy cheklovchi omil hisoblanadi. Savzavotchilikda ToMV muammosini bartaraf etish uchun chidamli navlarni tanlash eng maqbul va amaliy yondashuv hisoblanadi [11].

Pomidorning turli navlarini fitopatogen viruslarga chidamliligini aniqlashning bir qator usullari mavjud bo'lib, shunday usullaridan biri ikkiyoqlama immunodiffuzion (IID) usul hisoblanadi. Ikkiyoqlama immunodiffuziya usuli - bu antigen va uning o'ziga xos antitanalari o'rtasidagi o'zaro ta'sir natijasida virusni

aniqlash uchun ishlatiladigan immunologik usul sanaladi. Bu usul antitana-antigen (virus) kompleksi bogʻlangan gelda pretsipitat chiziqlarini hosil qilish tamoyiliga asoslanadi [12, 13]. Antitana-antigen oʻzaro taʼsiri va pretsipitat chizigʻining paydo boʻlishi uchun gel 25-30 °C haroratda 12 dan 48 soatgacha inkubatsiya qilinadi. Gelda antitana-antigen bogʻlangan qismida pretsipitat chiziqlarining yoʻqligi oʻsimlikning virusga qarshiligini, chiziqlar mavjudligi esa oʻsimlikning mazkur virusga sezgirligini koʻrsatadi. Qishloq xoʻjaligida pomidor oʻsimligini fitopatogen viruslardan himoyalash va ularga qarshi kurashda turli xil pomidor navlarining viruslarga chidamlilik darajasini aniqlash amaliy seleksiya uchun ham juda muhim hisoblanib, bu oʻsimlikning potentsial hosildorligi va iqtisodiy ahamiyatiga salbiy taʼsir koʻrsatuvchi virusli kasallikka chidamliligi yoki virusga sezgirligi haqida qimmatli maʼlumotlarni beradi [12, 13, 14].

Tadqiqot materillari va ish uslublari. Pomidorning ToMV infeksiyasiga chidamli navlarini tanlash maqsadida oʻrganilayotgan pomidor nav va namunalarining urugʻlari maxsus lezimetrlarga ekildi. Oʻrganilayotgan pomidor nav va duragaylarining urugʻlari ToMV ning qisman tozalangan preparati bilan sunʼiy zararlantirildi. Buning uchun Petri likopchasi ichiga filtr qogʻozi qoʻyildi va pomidor urugʻlari solib ToMV ning qisman tozalangan preparatida 1-rasmda keltirilganidek 6-8 soat ivitilib (1-rasm), soʻng ekildi maxsus lezimetrga ekildi.



1-rasm. Chapda suv bilan va oʻngda virusli shirada ivitilgan pomidor urugʻlari
Izoh: olingan 25 xil pomidor navlarining urugʻlari shu tartibda ToMV preparatida ivitildi.

Nihollar gullash fazasining boshlanishida mexanik usulda ikkinchi marta ToMV ning qisman tozalangan preparati bilan kasallantirildi [12]. Namunalar kasallik alomatlari mavjud o'simliklarning uchki, o'rta va quyi qismi barglaridan 4 tadan olinib, namlik yutmaydigan paketlarga solib yig'ildi. Namuna to'g'risidagi ma'lumotlar (navi, kasallik belgilari, yig'ilgan sanasi) paketga yozib termos muzlatgichda laboratoriyaga olib kelindi. Laboratoriya sharoitida har bir namuna alohida chinni havonchaga solindi va 1:1 nisbatda 0,1 M fosfat buferi (pH 7,2) qo'shib gomogenizatsiya qilindi. Hosil bo'lgan gomogenat maydalanmagan o'simlik qoldiqlaridan ajratib olish uchun 7000 ayl.tez/daq. 20 daqiqa davomida sentrifuga qilinib, cho'kma usti suyuqligi (ChUS) eppendorf probirkalarga 1 ml dan quyib olindi [12, 16].

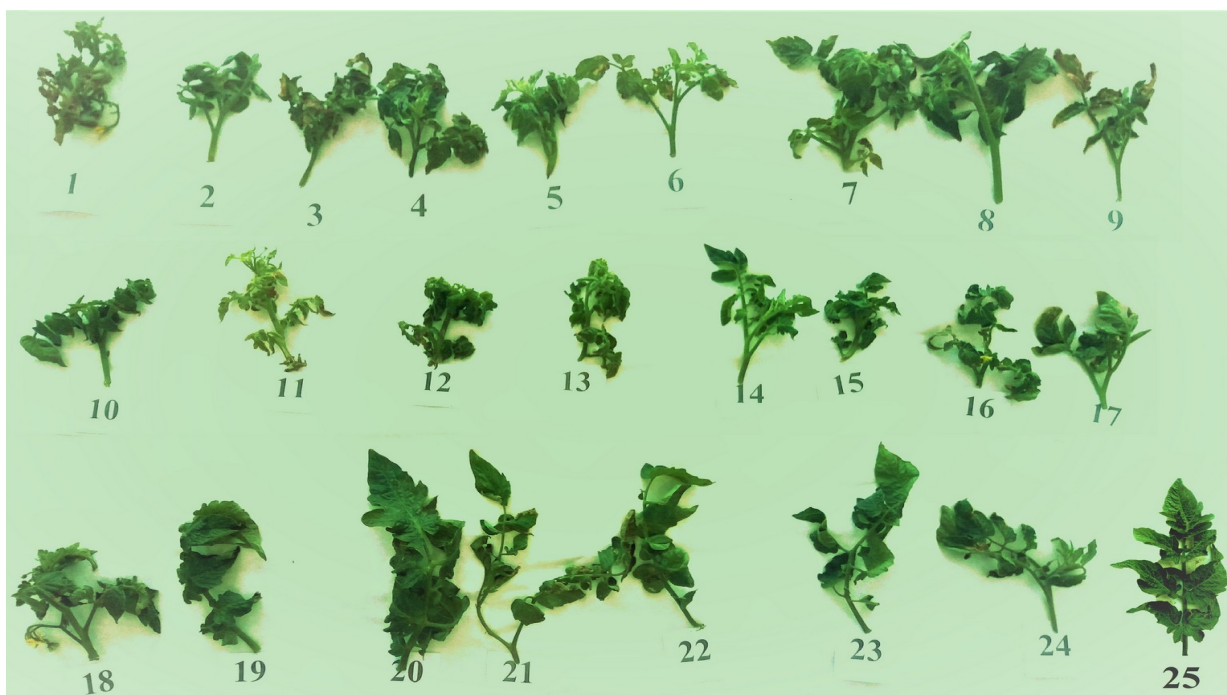
Yig'ilgan namunalarni ToMV bilan kasallanishini aniqlashda ikkiyoqlama immunodiffuziya usulidan foydalanildi. IID usulida pomidorni ToMV bilan kasallanishini aniqlash uchun 1% agaroz geli tayyorlab olindi. Buning uchun 1 g agaroz tortib olindi va 99 ml 0,1 M fosfat buferi (pH=7,2) qo'shib, mikroto'liqlik pechda gel to'liqlik eriguncha qizdirildi. 25 ml gel alohida idishga quyib olindi va harorati 50-55°C gacha sovutilgan suyuq agarda bakteriyalar o'sib ketmasligi uchun 1ml antibiotik (streptomitsin) qo'shib yaxshilab aralashtirildi. So'ngra «shayton» (suv tarozi) bilan gorizontall joylashtirilgan, o'lchami 9×12 sm bo'lgan shisha plastinka ustiga quyildi. Agaroz geli qotgandan so'ng, teshikchalar orasi 5 mm bo'lgan maxsus shtamplar yordamida qator qilib chuqurchalar tayyorlandi. ToMV ga olingan qon zardobidan 20 mkl olindi va xuddi shuncha miqdordagi 0.85 % NaCl eritmasi bilan aralashtirildi va chuqurchalarning birinchi qatoriga 20 mkl suyultirilgan antizardob (AZ) va uning qarshisiga esa shuncha miqdorda virusli shira (ChUS), ya'ni antigen (AG) solinib, plastinkalar tagiga 500 ml suv va 100 mkl xloroform solingan eksikatorida 48 soat davomida saqlandi [12, 16].

Tadqiqot natijalari va ularning muhokamasi. Serologik usullar o'simlik virusini erta diagnostika qilish va tavsiflashda hamda fitopatogen viruslarning o'zaro yaqinlik darajasini aniqlashda katta ahamiyatga ega. O'simliklar virusini identifikatsiyalash uchun serologik usullardan foydalanishni cheklovchi asosiy

omil - bu hayvon tanasida antizardob ishlab chiqarish uchun immunizatsiya qilishda foydalaniladigan tozalangan virus preparatini olish hisoblanadi [17]. Viruslar turli o'simlik hujayrasida har xil miqdorda to'planadi. Bu to'planish miqdori virus biologiyasiga ya'ni uning tashqi ta'sirlarga chidamliligiga bevosita bog'liq sanaladi. Masalan, bir kg virusli *D. stramonium* L. o'simligidan 135,5 mg kartoshkaning X virusining toza preparati ajratilgan bo'lsa [16], Tomat mozaikasi virusi bilan kasallangan pomidor o'simligining 1 kg virusli namunasidan 1-3 g toza virus preparati ajratib olingan [15]. Bundan ma'lum bo'ladiki Tomat mozaikasi virusi o'simlik hujayralarida ko'p miqdorda to'planib, o'simlikning hayotiy jarayonlarini buzilishiga sabab bo'ladi.

ToMV pomidor o'simligida sarg'ish-yashil mozaika, barglarning burishishi, barglarning kichrayishi va agrotexnik vositalardan noto'g'ri foydalanish natijasida kelib chiqadigan turli xil alomatlar bilan aralashib ketadigan barglarning boshqa deformatsiyalari va ranggining o'zgarishlari kabi alomatlarni keltirib chiqaradi [18].

Tadqiqotlar mobaynida kasallik belgilarining paydo bo'lishi ba'zi navlarda (Zakovat, Faxriy, Magnat, L-200, Ofarin, Yoqut, Baqlajan, Surxon 142, Charodey, Ofarin-2) dastlab gullash fazasigacha bo'lgan davrida kuzatildi. Bunda dastlab o'simliklarning uchki barglarida mozaika alomatlari paydo bo'lganligi, so'ngra mevalarning pishish fazasigacha bo'lgan davrda kasallik belgilari butun o'simlikka tarqalishi, barglarning maydalashuvi, barglarning chetki qismidan qurishi, o'simlikning o'sish konusi virus bilan zararlanishi natijasida pakanalik kabi virusli kasallikka xos alomatlar kuzatildi. Ikkinchi marta ToMV preparati mexanik usulda inokulatsiya qilinganidan 10 kun o'tib namunalar yig'ib olindi (2-rasm).



2-rasm. Ikkinchi marta virus yuqtirilgan pomidor namunalari

Izoh: navlar va duragaylar nomi 1-jadvalda keltirilgan

1-jadval

Tadqiqotlar davomida foydalanilgan pomidor navlari

№	Navlar va duragaylar nomi	№	Navlar va duragaylar nomi
1	TMK-22	14	Agro
2	Zakovat	15	Charodey
3	Darxon	16	Magnat
4	Faxriy	17	Orafin-2
5	L-200	18	Dolgnosik
6	Ofarin	19	Tvenid
7	Yoqut	20	Blogodatniy
8	N-2274	21	Perst
9	Baqlajon	22	Finish
10	Sevara	23	Tanimi
11	Surxon-142	24	Lojayin F ₁
12	Chelnok	25	Sulton F ₁
13	Revansh		

ToMV bilan sun'iy kasallantirilgan pomidor nav va duragaylarining virusga chidamliligini hamda virus konsentratsiyasini aniqlashda IID usulidan foydalanildi [17]. Buning uchun ToMV yuqtirilgan pomidorning nav va duragaylarining barglaridan o'simlik shirasi ajratib olindi hamda tadqiqotning ish uslublari qismida keltirilganidek IID usulida tajribalar o'tkazildi. 24 soatdan so'ng agaroz gelida AZ va AG o'zaro bog'lanishi natijasida hosil bo'lgan pretsipitatsiya chiziqlar paydo bo'lganligi kuzatildi (3-rasm).



3-rasm. Pomidor oʻsimligining nav va duragaylarini ToMV bilan kasallanish darajasi IID tahlili

Tadqiqot davomida olingan natijalar virus va unga olingan AZ bilan hosil qilgan pretsipitatsiya chiziqlariga qarab tekshirilgan 25 namunadan Darxon, Revansh, Blogodatniy, Perst, Sulton F₁ navlarining virusga immune ekanligi, TMK–22, Sevvara, Agro, Tvenid, Finish, Tanimi, Lojayin F₁, N-2274, Chelnok, Dolgnosik navlari ToMV ga chidamli va Zakovat, Faxriy, Magnat, L-200, Ofarin, Yoqut, Baqlajan, Surxon 142, Charodey, Ofarin-2 navlari esa ToMV ga chidamsiz ekanligi aniqlandi.

Xulosa: Tadqiqotlar davomida olingan natijalar turli xil pomidor navlarining Tomat mozaikasi virusiga chidamliligini aniqlashda, virusli kasalliklarga chidamli pomidor navlarni yaratishda amaliy seleksiyada va pomidor yetishtirishda oʻsimliklarni himoya qilish strategiyasini ishlab chiqishda muhim hisoblanadi. Pomidor navlarining ToMV ga chidamliligini ikki tomonlama immunodiffuziya yoʻli bilan aniqlash pomidor seleksiyasi sohasida navlarning ushbu virusga qarshi qanchalik samarali kurasha olishini aniqlashga yordam beradi.

Olingan natijalar asosida Darxon, Revansh, Blogodatniy, Perst, Sulton F₁ virusga chidamli navlar sifatida ToMV ga chidamli tomat navlarini yaratish uchun amaliy seleksiyaga tavsiya etildi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (accessed on 1 October 2020).
2. Нгуен Ха Тхи Куинь Чанг. Распространение и патогенез вирусных заболеваний томата в условиях Вьетнама и России // Автореф. Дисс. канд. С.-х- наук: // Москва, 2013. С.18-19
3. He M., He C.Q., Ding N.Z. Natural recombination between tobacco and tomato mosaic viruses. *Virus Res.* 2012. - Vol. 63. –P. 374–379.
4. C.H. Procter, P.R. Fry. Seed transmission of tobacco mosaic virus in tomato. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 8:2, P-367-369
5. Kumar S., Udaya Shankar A.C., Nayaka S.C., Lund O.S., Prakash H.S. Detection of Tobacco mosaic virus and Tomato mosaic virus in pepper and tomato by multiplex RT-PCR. *Lett Appl Microbiol* 53: 2011. –p. 359–363.
6. Chitra, T.R., H.S. Prakash, S.E. Albrechtsen, H.S. Shetty and S.B. Mathur. 1999. Infection of tomato and bell pepper by ToMV and TMV at different growth stages and establishment of virus in seeds. *J. Plant Pathol.*, 81: 123-126.
7. Ахатов А.К., Джалилов Ф.С., Белошапкина О.О., Стройков Ю.М., Чижев В.Н., Трусевич А.В. Защита овощных культур и картофеля от болезней // Москва 2006. 26-33 с. 114-123 с.
8. Гнутова Р.В. Таксономия вирусов растений Дальнего Востока России. // М: Наука. - 2009. - 465 с.
9. Holling M., Huttinga H. Tomato mosaic virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*. -1995. No 1. – P. 56.
10. Ахатов А.К. Мир томата глазами фитопатолога // Москва.:Издательства «КМК». - 2010. - 288 С.
11. Sahar N., Najeeb U., Khalid P.A., Amjad H., Muhammad Y.S. Evaluation of Tomato Hybrids for Resistance against Tomato Mosaic Virus (ToMV) // *Journal of Botanical Research*. Volume 04. 2022. –p. 1-11.
12. Ваҳобов А.Ҳ. Умумий вирусологиядан амалий машғулотлар. I-жилд // Тошкент: Университет, 2004.-126-152-б.
13. Matthews, R. E. F. 1991. *Plant Virol.* pp 1-815.
14. Ssekyewa C. Incidence, Distribution and Characteristics of Major Tomato Leaf Curl and Mosaic Virus Diseases in Uganda. // PhD-thesis. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Ghent, Belgium. 233 pp.
15. Ваҳобов А.Ҳ. Вирусология асослари дарслик // Тошкент. Ижод-Пресс 2019. -368 б.

16. Файзиев В.Б., Картошка Х-вирусининг Ўзбекистонда тарқалган изолятини ажратиш, хусусиятларини ўрганиш ва унинг диагностикаси // Автореф. дисс. б.ф.д., 2020. 42-б.

17. Lima J.A.A., Lima R.C.A., Goncalves M.F.B., Production of polyclonal antisera specific to plant viruses by rabbit oral immunization // Fitopatol. Bras. 2001, 26, 774–777.

18. Ахмадалиев Б.Ж. ва бошқалар. Помидор ўсимлигидан томат мозаикаси вирусини ажратиш // Фан ва таълимни ривожлантиришда ёшларнинг ўрни республика илмий ва илмий-техник конференцияси. Тошкент 22 ноябрь 2019 й. 46-48-б.