

Maxmudov Toxir Xalimovich
O‘zR FA Genetika va O‘simliklar Eksperimental
Biologiyasi Instituti katta ilmiy xodimi
E-mail: tohir_m@inbox.ru
Tel: +998974336101

UO‘K 578.42. 578.53. 578. 76. 578. 861.1

**ARPANING SARIQ PAKANALIK VIRUSINING REZERVATOR
O‘SIMLIKLARINI POLIMERAZA ZANJIR REAKSIYA USULIDA
DIAGNOSTIKA QILISH**

Аннотация. Ushbu ilmiy tadqiqotda ishida Toshkent viloyati bug‘doy ekilgan dala atroflariga Arpaning sariq pakanalik virusining rezervator o‘simliklarni aniqlash maqsadida monitoring ishlari olib borilgan. Asosan Alopecurus, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Pers, Hordeum bulbosum kabi o‘simliklarda ASPV ga xos kasallik alomatlari ko‘zatilgan. Yig‘ilgan namunalarni PZR usulida tekshirilganda Alopecuru, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Pers), Hordeum bulbosum o‘simliglari ASPV- bilan kasalnganligi aniqlangan. Tajribalar natijasiga ko‘ra ASPVning rezervator o‘simliklari Alopecurus, Phragmites communis Trim, Sorghum halepense L. Pers, Hordeum bulbosum ekanligi aniqlanlgan.

Kalit so‘zlar: Arpaning sariq pakanalik virusi, Lyuteovirus, rezervator, fitopatogen, teskari transkripsiya, polimeraza zanjir reaksiyasi.

Махмудов Тохир Халимович
PhD, Старший научный сотрудник
института генетики и экспериментальной биологии
растений Академии Наук Республики Узбекистан

**ДИАГНОСТИКА РАСТЕНИЙ-РЕЗЕРВУАРОВ ВИРУСА ЖЕЛТОЙ
КАРЛИКОВОСТИ ЯЧМЕНЯ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ
РЕАКЦИИ**

Аннотация. В данном научном исследовании проводился мониторинг с целью выявления растений-резервуаров вируса желтой карликовости ячменя вокруг пшеничного поля Ташкентской области. Симптомы ВЖКЯ преимущественно наблюдаюлись у таких растений, как Alopecurus,

Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Per, Hordeum bulbosum, и др. При исследовании собранных образцов методом ПЦР было установлено, что растения Alopecurus, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense (L.) Pers, Hordeum bulbosum, заражены ВЖКЯ. По результатам опытов установлено, что растениями-резервуарами ВЖКЯ являются Alopecurus, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Per, Hordeum bulbosum.

Ключевые слова: *Вirus желтой карликовости ячменя, лутеовирус, резерватор, фитопатоген, обратная транскрипция, полимеразная цепная реакция.*

BARLEY YELLOW DWARF VIRUS RESERVOIR PLANTS DIAGNOSTICS USING POLYMERASE CHAIN REACTION

Abstract. *In this research, monitoring was conducted to identify reservoir plants of the barley yellow dwarf virus around a wheat field in the Tashkent region. Symptoms of BYDV were mainly observed in such plants as Alopecurus, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Per, Hordeum bulbosum., et al. When studying the collected samples using the PCR method, it was found that the plants were Alopecurus, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Pers, and Hordeum bulbosum. According to the results of the experiments, it was established that the plants-reservoirs of BYDV are Alopecurus, Phragmites communis Trin, Sorghum halepense L. Pers, and Hordeum bulbosum.*

Keywords: *Barley yellow dwarf virus, Luteovirus, reservoir, phytopathogen, reverse transcription, polymerase chain reaction.*

Kirish. *Xozirgi kunda qishloq xo'jaligi ekinlarida sakkiz mingdan ortiq kasallik quzgatuvchi fitopatogenlar aniqlangan. Dunyo miqyosida o'simliklarning virusli kasalliklar iqtisodiy zarari bo'yicha muhim o'rinni egallaydi. G'alla ekinlarda yuzga yaqin fitopotogen viruslar aniqlangan. Viruslar butun dunyo miqyosida o'simlik kasalliklarining deyarli 50% ni tashkil qiladi [1].*

Firipotogen viruslardan biri Arpaning sariq pakanalik virusini ilk bor 1951 yil AQShning Kaliforniya shtatida donli ekinlarda aniqlangan va yangi virus sifatida tavsiflangan [2].

ASPV *Poaceae* oilasiga kiruvchi o'simliklardan bug'doy, arpa, jo'xori, sholi kabi qishloq xo'jaligida muhim ahamiyatga ega ekinlar, shuningdek, yaylov va yovvoyi o'tlarni kasallantiradi. ASPVni tabiatdagi aylanishini o'rganish virus sirkulyatsiyasining asosiy dolzarb muammolaridan biri hisoblanadi. Virus sirkulyatsiyasini o'rganishda yil fasillariga qarab tabiatda virus-rezervatorlari, tashuvchi vektorlarida saqlanishi va ko'payishi, virus sirkulyatsiyasida qatnashadigan biologik ob'ektlarni o'chish va rivojlanishidagi optimal sharoitlarni bo'lishi muhim ahamiyatga ega. ASPVni xo'jayin o'simliklarda aniqlash va bu xo'jayin o'simlikga yuqishi manbai, yuqumlilikga ega bo'lgan o'simlikdan boshqa sog'lom o'simliklarga tarqalishi uni tarqatish omillariga, ya'ni tashuvchilariga ham bogliq bo'ladi. Begona va yovvoyi o'tlarning bargi, poyasi va ildizlarida viruslar saqlanib, ular rezervator o'simliklar bo'lib, ASPV ko'pgina begona o'tlarni kasallantirishi adabiyotlarda keltirilgan [3].

Dunyo miqyosida g'alla ekinlarida iqtisodiy zarar keltiruvchi ASPVni o'rganish kasallikni oldini olish ularga qarshi kurash choralarini ishlab chiqish muhim vazifalardan biri hisobalanadi.

Respublikamizda fitopatogen viruslar buyicha bugungi kunda ilmiy tadqiqot ishlari olib borilmoqda. G'alla ekinlarini kasallantiruvchi arpaning sariq pakanalik virusi immunologik usullarda bug'doy o'simligida 2001 yilda aniqlangan [4].

Viloyatlar kesimida g'alla o'simligida uchraydigan viruslarining tarqalish darajasi o'rganilgan [5].

Bundan tashqari bug'doy o'simligini kasallantiruvchi ASPV ning shtammlari PZR usulida o'ranilgan va mintaqamizda aniqlangan *BYDV-PAV* shtammi T-UZB1 izolyatining CP genining genetik xilma-xilligi bo'yicha ilmiy tadqiqotlar olib borilgan [6].

ASPV-PAV T-UZB1 izolyati oqsil qobig'i aminokislota ketma-ketligi, Tariq o'simligidan ajratilgan ASPV-PAV T-UZB2 izolyati oqsil qobig'i aminokislota ketma-ketligining qiyosiy tahlili o'rganilgan [7-8].

Ushbu tadqiqot ishida ASPVni tabiatdagi aylanishini o'rganish va virus-rezervatorlarini PZR usulida aniqlashni maqsad qilib olindi.

Tadqiqot materillari va ish uslublari. Tadqiqot obekti sifatida 2023-yil May-Iyun oylarida Toshkent viloyati bug'doy ekilgan dalalar atrofidagi *Alopecuru*, *Phragmites communis Trin*, *Sorghum halepense L. Pers*, *Hordeum bulbosum* o'simliglaridan namunalar yig'ildi. Namunalar Alpicool (Rossiya) markali avto muzlatgichning -20°C kamerasida saqlandi va laboratoriyaga keltirildi. Virus RNK degradatsiyasini oldini olish maqsadida namunalar -20°C muzlatgichda saqlandi.

Umumiy RNK ajratish: Tekshirilayotgan o'simlik bargidan total RNKni ajratib olish uchun "Invitrogen" (Termo Fisher, USA Cat.N:12183018A) "PURELINK RNA MINI KIT" tavsiyanomasi asosida ilova qilingan ko'rsatmalariga muvofiq amalga oshirildi. Ajratilgan umumiy RNK molekulasini uzoq muddatga -80°C xarorat muzlatgichda saqlandi.

Teskari transkripsiya usulida cDNK olish: M-MLV Reverse Transcriptase (InvitrogenTM USA) tavsiyasiga ko'ra aralashma (master mix) tayyorlanib olinadi. Bu usul quyidagi jarayonlar bosqichida amalga oliniladi. 1-bosqich; aralashma (master mix) RNK-3 μl , dNTP-1 μl , ddH₂O-1 μl , Praymer rev.Lu4-0,5 μl , probirkalarga solinadi. PZR amplifikatorda 65°C da 5 daqiqaga quyiladi. 2-bosqich; aralashma (master mix) 5X PZR bufer-2 μl , 0.1 M DTT-1 μl , ddH₂O-0.5 μl , M-MLV -0.5 μl probirkalarga solinadi. PZR amplifikatorda 37°C da 2 daqiqa, 37°C da 50 daqiqa, 70°C da 15 daqiqa davomida cDNK sintezlanadi.

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) usuli: PZR usuli bu o'rganilgan gen yoki DNK regionlarini maxsus praymerlar yordamida ko'paytirish uchun amalga oshiriladi. PlatinumTM Hot Start PCR Master Mix (2X) PZR reagentlar tuplami asosida amalga oshiriladi. PZR uchun quyidagi bitta namuna uchun aralashma (master mix) tayyorlanadi: ddH₂O- 6,6 μl , PLATINUM master mix-12,5 μl , MgCL-0,9 μl , praymer-F-0,5 μl , praymer-R 0,5 μl , kDNK-4 μl .

ASPVni polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) yordamida diagnostika qilish 25 mkl da amalga oshiriladi. PZR termosiklik dasturi: boshlang'ich denaturasiya bosqichi 94°C da 2 daqiqa, 94°C da 1 daqiqa, 1 sikl, yonish (otjig), 41°C 2 daqiqa, va elongasiya 72°C 2 daqiqa, 94°C 1 daqiqa, yonish (otjig) 41°C 1 daqiqa, bosqichlar ketma-ket 45 sikl da takrorlandi; elongatsiya bosqichi 72°C 2 daqiqa,

yakuniy elongatsiya bosqichi 72°C 5 daqiqa 4°C 24 soat vaqtga dasturlanib PZR amplifikator “T960” (China) da amalga oshirildi.

Gel-elektroforez usuli. Namunalardan ajratilgan DNK ni deteksiya qilish va PZR maxsulotlarning uzunligini aniqlash uchun qo'llaniladi. Elektroforez 80V da 60-100 daqiqa davomida gorizontal elektroforez SE-1 (Xelikon, Rossiya) yordamida amalga oshirildi. Gel transillyuminator BK AG-100 (Gel Imaging Ayalysis System Biobase China) da tahlil qilinib rasmga olindi.

Tadqiqot natijalari va ularning muhokamasi. Arpaning sariq pakanlaik virusu (ASPV) kuchli fitopatogen viruslar hisoblanadi. ASPV bir zanjirli RNKdan iborat. Bugungi kunda ASPV ning bir nechta shtamm va izoliyatlari turli mintaqalarda aniqlangan. Virus kasallangan o'simlikdan sog' o'simlikka *Schizaphis graminum*, *Sitobion avenae Fabr*, *Brachycolus noxius Mord*, *Rhopalosiphum padi L*, *Rhopalosiphum maidis*, *Methopolophium dirhodum Walk* shiralari orqali tarqaladi [9-10].

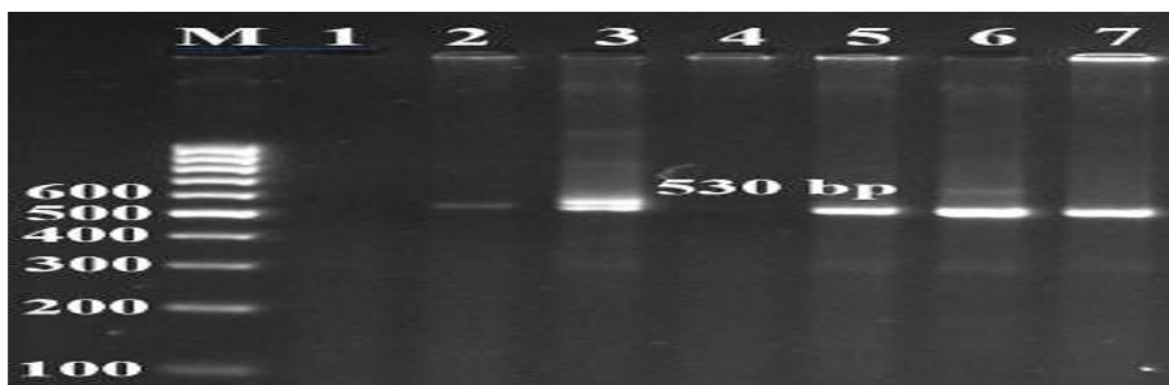
ASPV ning keltiradigan iqtisodiy zararini oldini olish avallom bor virusga chidamli bo'lgan navlarni yaratish va virusni tarqatuvchi vektorlarga qarshi kurashish eng samarali usuliridan biri hisoblanadi.

Poaceae oilasiga mansub *Alopecuru*, *Phragmites communis Trin*, *Sorghum halepense L. Pers*, *Hordeum bulbosum* o'simliklarini ASPV bilan kasallanishini o'rganish maqsadida maqsadida 2023-yil May-Iyun oylarida Toshkent viloyati, bug'doy ekilgan dalalar atrofidagi *Poaceae* oilasiga mansub o'simliklarida monitoring ishlari olib borildi. Olib borilgan monitoring natijalarga ko'ra *Alopecuru*, *Phragmites communis Trin*, *Sorghum halepense L. Pers*, *Hordeum bulbosum* o'simliklarida ASPV xos kasallik alomatlari mavjudligi aniqlandi (1-rasm).



1-rasm. ASPVning rezervator o'simliklari. 1-*Alopecuru*, 2- *Phragmites communis Trin*, 3-*Sorghum halepense L. Pers*, 4-*Hordeum bulbosum*.

Olib borilgan tadqiqot natijalariga ko'ra 2023-yil Toshkent viloyati bug'doy ekilgan dalalar atrofida *Alopecuru*, *Phragmites communis Trin*, *Sorghum halepense L. Pers*, *Hordeum bulbosum* o'simliklaridan olib kelingan namunalarda PZR tahlili otkazilganda *Luteovirus* avlodiga mansub arpaning sariq pakanalik virusi 530 bp da gel-elektroforez analizida aniqlandi (2-rasim).



2-rasm. ASPV uchun spesifik Lu1-Fva Lu4-R praymerlari bilan o'tkazilgan PZR amplifikasiya mahsulotlarining elektroferogrammasi.

3-*Alopecuru*, 5-*Phragmites communis Trin*, 6-*Sorghum halepense L. Pers*, 7-*Hordeum bulbosum*

PZR mahsulotlari tahlili ish uslubi asosida gel-elektroforez analizi qilindi. Elektroforez 80V da 60-100 daqiqa davomida gorizonta elektroforez SE-1 (Xelikon, Rossiya) yordamida amalga oshirildi. Gel transillyuminator BK AG-100 (Gel Imaging Ayalysis System Biobase China) da tahlil qilinib rasmga olindi.

Rezervator o'slimliklarda Lu1-F va Lu4-R universal praymerlardan foydalanib PZR amalga oshirildi. PZR natijasiga ko'ra 3-*Alopecuru*, 5-*Phragmites communis Trin*, 6-*Sorghum halepense L. Pers*, 7-*Hordeum bulbosum* o'simliklari ASPV bilan zararlanishi ko'zatildi. Demak, begona va yovvoyi o'tlarning bargi, poyasi va ildizlarida ASPV saqlanib, ular rezervator bo'lib, virusni tabiatda aylanishida muqim saqlanib qolishiga, "infeksiyon fon" dalalar bo'lishida muhim

rol o'ynaydi. Respublikamizda ilk bor Arpaning sariq pakanalik virusining rezervator o'simliklari polimeraza zanjir reaksiyasi usulida aniqlandi.

Xulosalar. Olib borilgan tadqiqotlar natijalarga ko'ra Toshkent viloyati, bug'doy ekilgan dalalar atrofidagi *Alopecurus*, *Phragmites communis Trin*, *Sorghum halepense L. Pers*, *Hordeum bulbosum* o'simliklarida ASPV bilan kasallanganligi PZR usulida aniqlandi. ASPV *Alopecurus*, *Phragmites communis Trin*, *Sorghum halepense L. Pers*, *Hordeum bulbosum* o'simliklarida saqlanib, ASPVning tabiatdagi sirkulyatsiyasining bir qismi ekanligi aniqlandi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati

- 1.Jones RAC, Naidu RA (2019) Global dimensions of plant virus diseases:current status and future perspectives. Annu Rev Virol 6(1):387–409.
- 2.Oswald JW, Houston BR (1951). A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. Plant Disease Reports 35:471-475
- 3.Вахобов А.Х. Ўсимлик вирусларини аниқлашда иммунология усуллари қўллаш. – Тошкент: 1991. – 5–11 б.
- 4.Makkouk KM, Kumari SG, Kadirova Z, Zueva A. First Record of Barley yellow striate mosaic virus and Cereal yellow dwarf virus-RPV Infecting Wheat in Uzbekistan. Plant Dis. 2001 Oct;85(10):1122.
- 5.Қодирова З.Н., Махмудов Т.Х, Ахмаджонов М.А., А.Абдукаримов. Ўзбекистон Республикасининг айрим вилоятларида буғдойнинг вирус касалликларини тарқалишини ўрганиш. // О'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining Maruzalari 2020, N-4, 83-88 б.
- 6.Makhmudov T., Kadirova Z.N., Adilov B.S., Abdikarimov B.Q., Abduvaliev B.A., Ziyaev Z.M., Sherimbetov A.G., Kurganov S. Molecular identification based on coat protein sequences of the barley yellow dwarf virus from Uzbekistan. // 2023, Pak. J. Phytopathol. Vol.35, No.1, pp 127-135.
- 7.Maxmudov Toxir Xalimovich. ASPV-PAV T-UZB1 izolyati oqsil qobig'i aminokislota ketma-ketligining qiyosiy tahlili OZIQ-OVQAT XAVFSIZLIGI: MILLIY VA GLOBAL MUAMMOLAR" ILMIY JURNALI (№2024/2) 13-18 b.

8.T.X.Maxmudov Z.N.Qodirova. Tariq o'simligidan ajratilgan arpaning sariq pakanalik virusi T-UZB2 izolyati oqsil qobig'i aminokislota ketma-ketligining qiyosiy tahlili. namdu ilmiy axborotnomasi 2024-6-son 15-163 b.

9.Rochow WF (1969) Biological properties of four isolates of barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 59: 1580–1589.

10.Lucio-Zavaleta E, Smith DM and Gray SM (2001) Variation in transmission efficiency among barley yellow dwarf virus –RMV isolates and clones of the normally inefficient aphid vector, *Rhopalosiphum padi*. *Phytopathology* 91: 792–796.