ИЗУЧЕНИЕ СИМПТОМОВ ПОРАЖЕНИЯ НЕКРОТИЧЕСКОГО ИЗОЛЯТА PVX НА ТЕСТ ИНДИКАТОРНЫХ РАСТЕНИЯХ

Вохид Файзиев
Чирчикский государственный педагогический институт Ташкентской области
доц. кафедры Биологии
v.fayziyev@cspi.uz

Дилфуза Жавлиева
Чирчикский государственный педагогический институт Ташкентской области
преподователь кафедры Биологии
d.javliyeva@cspi.uz

Умида Жўраева
Национальный университет Узбекистана
доц. каф. Микробиологии и биотехнологии
umida.mirkamilovna@gmail.com

Абдурасул Вахабов
Национальный университет
проф. каф. Микробиологии и биотехнологии
a_vakhabov@rambler.ru

АННОТАЦИЯ

Одним из главных сельскохозяйственных культур является картофель, его ещё называют вторым хлебом. Это растение тоже поражает ряд фитопатогенных вирусов. Одним из таких вирусов является Х вирус картофеля, изучены его множество изолятов которые отличаются друг от друга биологическими, молекулярно-генетическими и другими свойствами. В связи с этим, в данной статье изучены симптомы вирусного поражения некротического изолята ХВК на индикаторных растениях. Некротический изолят вируса в отличие от других изолятов, на растении *Datura stramonium* проявляет некротические симптомы, а на растении *Nicotiana barley* появляет зеленую мозаику. В связи с этим изучение фитопатогенных вирусов, поражающих растения картофеля является актуальной и имеет большое практическое значение.

Ключевые слова: Х вирус картофеля, картошка, тест индикаторных растениие, резерваторных растение, иммуноферментный анализ, сэндвич вариант.

STUDY OF THE SYMPTOMS OF THE INJURATION OF NECROTIC ISOLATE PVX ON THE TEST OF INDICATOR PLANTS

Vokhid Fayziyev
Chirchik State Pedagogical Institute, Tashkent Region
Associate Prof.
Department of Biology
v.fayziyev@cspi.uz

Dilfuza Javliyeva
Chirchik State Pedagogical Institute, Tashkent Region
Lecturer
Department of Biology
d.javliyeva@cspi.uz

Umida Jurayeva
National University of Uzbekistan
Associate Prof.
Department Microbiology and Biotechnology
umida.mirkamilovna@gmail.com

Abdurasul Vakhabov
National University
Professor
Department Microbiology and Biotechnology
a_vakhabov@rambler.ru

ABSTRACT

Potato is considered that one of the main agricultural crops, it is also called the second bread. This plant is also infected by a number of phytopathogenic viruses. One of these viruses is the potato virus X, its many isolates have been studied, which differ from each other in biological, molecular-genetic and other properties. In this regard, this article studied the symptoms of viral lesions of the necrotic isolate of PVX on indicator plants. The necrotic isolate of the virus, unlike other isolates, shows necrotic symptoms on the *Datura stramonium* plant, and a green mosaic appears on the *Nicotiana barley* plant. In this regard, the study of phytopathogenic viruses infecting potato plants is relevant and great practical importance.

Key words: potato virus X, potato, test indicator plants, reservator of virus, Enzim-linked immunosorbent essay, “sandwich” version.

ВВЕДЕНИЕ

В конце прошлого века было известно, что растения картофеля поражаются около 20 фитопатогенными вирусами, а на сегодняшний день это количество составляет более 50 видов вирусов [3, 23]. К ним можно отнести следующие вирусы: вирус скручивания листьев картофеля ВСЛК (potato leaf roll virus, PLRV); Y вирус картофеля, YВК (Potato virus Y, PVY); X вирус картофеля, XВК (Potato virus X, PVX); S вирус картофеля, SВК (Potato virus S, PVS); M вирус картофеля, MВК (Potato virus M, PVM); A вирус картофеля, AВК (Potato virus A, PVA); вирус аукуба мозаики картофеля, ВАМК (Potato aucuba mosaic virus, PAMV); вирус измельчения верхних листьев картофеля, ВИВЛК (Potato mop top virus, PMTV); вирус погремковости табака, ВПТ, «rattle вирус» (Tobacco rattle virus, TRV); вирус черной пятнистости томата, ВЧПТ (Tomato black ring virus, TBRV); вирус желтой карликовости картофеля, ВЖКК (Potato yellow dwarf virus, PYDV) и другие [2, 4].

ЛИТЕРАТУРА И МЕТОДОЛОГИЯ

X вирус картофеля является одним из этих фитопатогенных вирусов и распространён во всех континентах, выращивающих картофель. На растениях картофеля проявляются симптомы крапчатой мозаики, во многих случаях в зависимости от штамма, вирус не проявляя симптомов поражения снижает урожайность от 10 до 59% и приносить большой ущерб сельскому хозяйству [1, 8, 9]. В результате первичных исследований, проводимых в этом направлении, установлены степень распространения обычного изолята этого вируса в

Ташкентской области и его растения-резерваторы [8, 23], а в последующих исследованиях изучены влияние вируса на количество пигмента в листьях растений, а также его некоторые молекулярно-генетические свойства [6, 7, 24].

Полученные в ходе исследований результаты показывают, что этот вирус быстро подвергается к мутации и в результате этого появляются новые изоляты [1, 2, 4]. Такие изменения наглядно проявляются в белковой оболочке вируса и ответственном за него гене [6, 13, 14, 16, 19]. Применяемые в последние годы в диагностике вирусов методы, на ряду с установлением такой изменчивости, также дают возможность их сравнительного изучения [3, 6, 11, 12, 15]. В Узбекистане с применением таких современных методов выделены ряд растительных вирусов как вирусы поражающие кукурузу, вирусы древесных растений как слива и другие, изучаются их некоторые свойства [9, 10]. В проявлении такого разнообразия в вирусах, является разнообразие абиотических, биотических и антропогенных факторов, которые влияют на вирусы [5, 8, 17]. В связи с этим изучение таких фитопатогенных вирусов и расширение научно-исследовательских работ в направлении фитовирусологии на сегодняшний день является актуальной задачей.

Целью исследования является выделение изолята Х-вируса картофеля, распространённого в нашей республике и изучение симптомов поражения «некротического» изолята ХВК на тест индикаторных растениях.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели были собраны образцы из разных фермерских хозяйств с симптомами Х вируса картофеля и изучены в лабораторных условиях “сэндвич” вариантом ИФА. Паралельно с образцы заражали тест-индикаторных растениий. Пробы были собраны в отдельные полиэтиленовые мешочки по 100-200гр [6, 8, 22, 23]. Определение вирусов методом ИФА приводится ниже.

Основные материалы для проведения ИФА: антитела к ХВК (IgG), конъюгат (IgG+фермент), полистироловые платы и химические реактивы, полученные из организации Internotional Centre of Potato (CIP). Для выявления вируса методом ИФА, первоначально листья картофеля с симптомами поражения и листья индикаторных растений зараженных с препаратом ХВК, который очищен из смещенных инфекции были собраны в отдельные полиэтиленовые мешочки. Затем добавляя фосфатный буфер (Ф.Б.) в соотношении 1:1 (состав для 1 литра - NaCl, KH_2PO_4, Na_2HPO_4, KCl, NaN_3, pH-7,4) их гомогенизировали и приготовили гомогенат. В полистироловые платы иммобилизировали АТ вируса (IgG) в течение 5-6 часов при 37°С, не связавшиеся антитела (АТ) смыли с помощью Ф.Б. с твином (на 1 литр Ф.Б. добавили 20 капель (0,5 мл) твина PBS-T) [7, 8]. Затем налили гомогенат

антигена (АГ), приготовленный из листьев определяемого растения и инкубировали в течение 3-4 часов при 37°С. Не связавшиеся АГ смыли Ф.Б. с твином. Затем в полистироловые платы налили конъюгат (IgG + фермент), поместили их в полиэтиленовые мешочки и хранили 3-4 часа при 37°С. Не связавшиеся конъюгаты смыли Ф.Б. с твином. Затем в каждую полистироловую плату налили по 80 мкл субстрата (состав: диэтаноламин, 37% HCl, дистиллированная вода и таблетки субстрата – р-нитрофенилфосфат) и наблюдали за проявлением реакции [23, 24]. Реакция проявлялась в течение 30-60 минут в виде изменения окраски. Результаты зафиксировались.

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованиях проводимых по изучению ХВК из растений картофеля сорта Умид, который проявляет чёрную системную мозаику был выделен «некротический» изолят ($ХВК_н$) и сравнительно изучены его свойства с «обычным» изолятом, выделенным в первичных исследованиях из сорта Диёра, проявляющий симптомы крапчатой мозаики на картофеле [8, 20]. В результате исследований установлено, что они являются отдельными изолятами, которые отличаются друг от друга по проявлению симптомов на растениях-хозяинах [6, 7, 24]. Для выяснения этого механически заражены тест-индикаторные растения, использованные в первичных исследованиях, относящиеся к 16 видам, 5 семействам выращенные в лабораторных условиях и полевых опытных полях. Изучены сходства и различия в сроках проявления симптомов, а также проявленных симптомов.

Изолят вируса, выделенного из сорта картофеля Диёра проявляет различные симптомы: на растениях семейства *Chenopodiaceae* - *Chenopodium quinoa, Ch. amaranticolor* и *Ch. murale* проявлял отличающиеся друг от друга желтые хлоротические пятна, на *Datura stramonium* семейства *Solanaceae* крапчатую мозаику, *D. metel u Lycopersicum esculentum* Mill зелёную мозаику, на *Gomphrena globosa* семейства *Amaranthus* красный кольцевой некроз [21, 23, 24].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изолят $ХВК_н$ в отличие от изолята $ХВК_о$, на растении *Ch. murale* проявлял жёлтые некротические пятна, на растении *D. stramonium* некротизацию листовой пластинки и замедление роста растения. Симптомы поражения на других тест- индикаторных растениях приведены в таблице (табл.1).

Таблица-1

Симптомы вирусного поражения на тест-индикаторных растениях изолятов ХВК

Название семейства и вида индикаторных растений	Изоляти ХВК			
	*ХВК$_о$		**ХВК$_н$	
	Симптомы заболевания	Сроки появления	Симптомы заболевания	Сроки появления
Chenopodium quinoa	ХП	13-14	ХП	10-12
Chenopodium amaranticolor	ХП	10-12	ХП	8-10
Chenopodium murale	ХП	6-7	ЖН	5-6
Chenopodium album	-	-	-	-
Datura stramonium	КМ	10-12	Н	8-10
Datura. metel	ЗМ	18-20	-	-
Phisalis floridana	-	-	-	-
Nicotiana barley	СМ	20-22	ЗМ	18-20
Nicotiana rustica	-	-	Н	14-16
Petunia hybrida	-	-	-	-
Lycopersicum esculentum	ЗМ	10-15	ББ, ЗМ	6-8
Solanum melon-gena	-	-	-	-
Capsicum annum	М	10-12	КМ	8-10
Vigna sinensis	-	-	-	-
Ocimum basilicum	-	-	-	-
Gomphrena globosa	ККН	5-6	КН	5-6

Примечание: симптомы заболевания означают: ХП – хлоротические пятна, КМ – крапчатая мозаика, ЗМ – зелёная мозаика, СМ - системная мозаика, М – мозаика, ККН – красный кольцевидный некроз, ЖН – желтый некроз, Н – некроз, КН – крупный некроз; “*” – означает “обычный” штамм вируса выделенного из сорта Диёра, “**” – означает “некротический” штамм выделенного из сорта Умид.

Установлено, что изолят ХВК$_н$ вируса в отличие от изолята ХВК$_о$ на табаке сорта *N. barley* проявляет зелёную мозаику, на сорте *N.rustica* некротические пятна, на растении *Capsicum annum* крапчатую мозаику. Оба изолята на растении *Ch. album* семейства *Chenopodiaceae*, на *Phisalis floridana, Petunia hybrida, Solanum melon-gena, Capsicum annum* семейства *Solanaceae*, на *Vigna sinensis* семейства *Leguminosae* и на *O. basilicum* семейства *Labiatae* не проявляли симптомов вирусного поражения (табл.1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значит, в результате проведенных исследований идентифицированы с помощью тест-индикаторных растений и изучены распространённые в

климатических условиях нашей республики “некротический” изолят $ХВК_н$, который на картофеле сорта Умид проявляет системную черную мозаику, на растениях *Datura stramonium, Ch. murale, Gomphrena globosa* крупные некротические поражения и “обычный” изолят $ХВК_о$, который на картофеле сорта Диёра проявляет симптомы крапчатой мозаики, на *Datura stramonium* обычную системную мозаику.

REFERENCES

1. Arshad, J., Ahmad, N., Bushra, T., Muhammad, T., Abdul, M. (2012). Molecular characterization of capsid protein gene of potato virus X from Pakistan. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(74), pp. 13854-13857.
2. Ahmed, Sh., Ahmed, I., Yaqub, T., Waseem, M., Tabassum, B., Masood, F., Khan, A. (2013). Molecular detection, phylogenetic analysis and designing of siRNA against Potato Virus X. *Advance ments in Life Sciences*, Vol . 1, Issue 1. pp. 37-44.
3. Eshboev, F., Yusupova, E., Piyakina, G., Mejlumyan, L. (2019). Isolation and study of the amino acid composition of proteins from soybean for producing conjugates for elisa//*Universum: Химия и биология: электрон. научн. журнал,* №11(65), –с. 62-65.
4. Belinda, A., Roger, A., Jones, C. (2010). Genetic variability in the coat protein gene of Potato virus X and the current relationship between phylogenetic placement and resistance groupings. *Arch Virol*, 155:1349–1356
5. Ramazonov, B., Mutalov, K., Fayziev, V., Koraev S. (2020). Morphogenetic characteristics and biological activity of takyr and meadow soils of the republic of Karakalpakstan (on the example of soils of Chimbay district). *Journal Of Critical Reviews*, Volume 7, Issue 5, pp. 243-249. DOI: http://dx.doi.org/10.31838/jcr.07.05.43
6. Fayziev, V., Javlieva, D., Kadirova, Z., Chirkov, S., Jurayeva, U., Vakhabov, A. (2020). Study of some biological properties necrotic isolate of potato virus X and phylogenetic analysis. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, Vol. 24, Issue 09. – P. 455-465. ISSN: 1475-7192
7. Fayziev, V., Jovlieva, D., Juraeva, U., Shavkiev, J., Eshboev, F. (2020). Effects of PVXN-UZ 915 necrotic isolate of Potato virus X on amount of pigments of Datura stramonium leaves. *Journal of Critical reviews*, Vol 7, Issue 9. – P. 400-403. ISSN- 2394-5125. DOI: http://dx.doi.org/10.31838/jcr.07.09.82
8. Fayziyev Vahid Bakhramovich, Vakhabov Abdurasul (2019). The study of the biological properties of potato virus X in common environmental conditions of Uzbekistan. *European Sciences review*, № 1–2 (January–Febrary). Volume 2, p. 46-50.

9. Sattorov, M., Sheveleva, A., Fayziev, V., Chirkov, S. (2020). First report of *Plum pox virus* on plum in Uzbekistan. *Plant Disease* (early view). https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0456-PDN
10. Sobirova, Z., Fayziev, V., Abduraimova Kh. (2020). Effect of The Virus of The Yellow Dwarf Corn Mosaic Growth and Development of Varieties of Corn in Various Phases. *Journal of Advanced Research in Dynamical and Control Systems*, 12(6), 602-606.
11. Ceroska, N., Moravec, T., Plchovec, H., Hoffmeisterova, H., Folwarezna, J., Dedic, P. (2010). Production of polyclonal antibodies to Potato Virus X using recombinant coat protein. *J. Phytopathology*, Vol.158, pp. 66-68.
12. Chirkov, S., *et al.* 2016. *Arch. Virol.*,161:425. https://doi.org/10.1007/s00705-015-2658-x
13. Mohammad, H., Nemat, S. (2017). Population genetic analysis of potato virus X based on the CP gene sequence. *Virus Dis.*, (January–March), 28(1): 93–101.
14. Hossain, M., Soodabe, P., Shabnam, P., Mohammad, M., Jahangir, H., Akbar, H., Katherine, B., Arvind, V. (2014). Molecular characterization and field survey of Iranian potato virus X isolates. *Virus Dis*, (July–September 2014) 25(3): 338–344.
15. Neda, E., Mina, K., Thomas, H., Mikhail, M. (2012), Complete genome sequence of an Iranian isolate of Potato virus X from the legume plant Pisum sativum. *J. Virus Genes*, Vol. 39, pp. 141–145
16. Khan, A., Tabassum, B., Nasir, I., Bilal, M., Tariq, M. and Husnain, T. (2015). Potato virus X from Pakistan: coat protein sequence analysis. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(4), Page: 1016-1021. ISSN: 1018-7081
17. Kagiwada, S., Yamaji, Y., Komatsu, K., Takahashi, S., Mori, T., Hirata, H., Suzuki, M., Ugaki, M., Namba, S. (2005). A single amino acid residue of RNA-dependent RNA polymerase in the Potato virus X genome determines the symptoms in Nicotiana plants. *Virus Res*, 110:177–182.
18. Karpova, O., Zayakina, O., Arkhipenko, M., Sheval, E., Kiselyova, O., Poljakov, V., Yaminsky, I., Rodionova, N. & Atabekov, J. Potato virus X RNA-mediated assembly of single-tailed ternary 'coat protein–RNA–movement protein' complexes. *J. Gen. Virol*, 87, 2006. – P. 2731–2740.
19. Ваҳобов, А. (2004). Умумий вирусологиядан амалий машғулотлар. I-жилд, Тошкент: Университет, – 150 б.
20. Ваҳобов, А. (2019). Вирусология. Дарслик –Т.: Университет, 210 –б.
21. Зыкин, А. (1976). Вирусные болезни картофеля. –Л.: Колос, -151 с.
22. Сиверс, Н. (1970). Очистка Х-вируса картофеля и изучение некоторых свойств его штаммов, выделенных на Украине: Автореф. дис.... канд. биол.

наук. – Киев: Институт микробиологии и вирусологии им. акад. Д.К. Заболотного АН УР, 1970. -21 с.

23. Файзиев, В.Б., Жавлиева, Д.Т., Жураева, У.М., Ваҳобов, А.Х., Кадирова З.Н. (2019). Изучение распротранение и определение растений резерваторов X и L вирусов методом иммуноферментного анализи. *Научное обозрение: Биологическое науки*, 2, №4,. -с. 79-86.
24. Файзиев, В.Б., Жавлиева, Д.Т., Жураева, У.М., Ваҳобов, А.Х. (2020). Картошка X вируснинг баъзи молекуляр-генетик хусусиятларини аниқлаш. Биология ва экология, №4, 2. -с. 4-11. http://dx.doi.org/10.26739/2181-0575-2020-4-1