

ЎСИМЛИКЛАР КАСАЛЛИКЛАРИ ДИАГНОСТИКАСИ ВА КАСАЛЛИК ҚЎЗГАТУВЧИЛАР ИДЕНТИФИКАЦИЯСИНИНГ ЗАМОНАВИЙ ВА ИСТИҚБОЛЛИ УСУЛЛАРИ (ШАРҲ)

Аннотация. Ўсимлик инфекциясига касаллигининг қўзғатувчисини тез топиш ва идентификация қилиш унга қарши курашнинг биринчи ва энг муҳим босқичидир. Касаллик сабабини эрта аниқлаш тўғри кураш чораларини тўғри муддатда аниқлашга ва ҳосил йўқотилишининг олдини олишга имкон яратади. Ўсимликлар касалликларини аниқлашнинг бир қатор анъанавий усуллари бор, аммо диагностика тезкорлиги ва ишончлилигини таъминлаш ҳамда анъанавий диагностикада мавжуд бўлган муаммоларни бартараф этиш учун патогенлар мавжудлигини аниқлаш ва уларни идентификация қилишда янги восита ва технологиялар жорий этилмоқда. Мақолада ўсимлик касалликларига таъсир қўйишда ва патогенларни идентификация қилишда дунёда ҳозирги кунда қўлланилаётган энг замонавий усуллар – иммунодиагностика, молекуляр-генетик (ва филогенетик) идентификация, масс-спектрометрия ва бошқалар бўйича маълумотлар келтирилган.

Калит сўзлар: ўсимлик касаллиги, диагностика, идентификация, иммунологик диагноз, ИФА, иммунохроматографик таҳлил, ПЗР, MALDI-TOF MS.

Аннотация. Быстрое и надежное выявление болезни растения и идентификация её возбудителя является первым и важнейшим этапом борьбы с ней. Раннее определение причины болезни позволит своевременно выбрать правильный метод защиты и обеспечит предотвратить потери урожая. Существует ряд традиционных методов определения болезней растений, однако для обеспечения оперативности и надёжности диагностики, а также устранения присущих традиционной диагностике недостатков в последние годы разработаны и внедрены в практику новые средства и технологии идентификации возбудителей болезней. В статье представлена информация о таких применяемых в мире сегодня новаторских методах диагностики болезней и идентификации их возбудителей, как иммунодиагностика, молекулярно-генетическая (и филогенетическая) идентификация, масс-спектрометрия и др.

Ключевые слова: болезни растений, диагностика, идентификация, иммунологическая диагностика, ИФА, иммунохроматографический анализ, ПЦР, MALDI-TOF MS.

Annotation. Rapid and reliable detection of plant disease and identification of its pathogen is the first and most important stage in disease control. Early identification of the cause of the disease allows timely selection of the proper protection method and ensures prevention of crop losses. There are a number of traditional methods for identifying plant diseases, however, in order to ensure the promptness and reliability of diagnostics, as well as to eliminate the shortcomings inherent in traditional diagnostics, in recent years, new means and technologies for identifying pathogens have been developed and introduced into practice. The article provides information on such innovative methods of diagnosis of diseases and identification of their pathogens, which are used in the world today, such as immunodiagnostics, molecular-genetic (and phylogenetic) identification, mass spectrometry, etc.

Keywords: plant disease, detection, diagnosis, identification, immunological diagnostics, ELISA, immunochromatographic assays, PCR, MALDI-TOF MS.

Кириш. Ўсимликларда касаллик қўзғатувчи микроорганизмлар, жумладан замбуруғлар, бактериялар, фитоплазма ва вируслар турли экотизимларда ўстирилатган экинларни зарарлаб, сифат ва миқдорий жиҳатда катта зиён келтиради. Ўсимлик касалликлари туфайли йўқотиладиган ҳосил миқдори 9-14,2 фоизни ташкил этади [47]. Ҳисоб китоблар шуни кўрсатганки, қишлоқ хўжалик маҳсулотларини 14,1% га яқинини ўсимлик касалликлари туфайли йўқотилиши, пул қийматида 220 млрд АҚШ долларини ташкил этиб, бунда ривожланаётган мамлакатлар кўпроқ зарар кўраётганлиги маълум бўлади [9]. Келтирилаётган зарарни баҳолаш турли касалликлар учун турли аниқликларда амалга оширилади. Лекин зарарни баҳолашда аниқлик даржасидан қатъий назар, имкон қадар ҳосил йўқотилишини олдини олиш учун шошилинч чоралар кўриш лозимлиги таъкидланади. Қишлоқ хўжалиги экинлари касалликларига қарши кураш тизимининг самарадорлиги кўп

ҳолларда фитопатогенни яъни касаллик қўзғатувчини тезкор, ишончли ва аниқ идентификация қилиш ҳамда бу орқали касаллик белгисига аниқ таъсир қўйишга боғлиқ [45].

Ўсимликлар касалликларининг диагностикаси мукаммаллашиб бормоқда. Диагностика ишончлилигини, тезлигини таъминлаш учун янги восита ва технологиялар яратилмоқда ҳамда жорий этилмоқда. Шундай бўлсада, анъанавий таъсир усуллари ўз мавқеини йўқотмагани ҳолда яратилган восита ва технологиялар ўсимлик касалликларини ўз вақтида, тезкор ва юқори аниқликда таъсир қўйиш имконини беради. Бу эса қишлоқ хўжалиги экинларининг касалликларига қарши кураш бўйича реал вақтда қарор қабул қилиш учун хизмат қилади. Фитопатологик тадқиқотларда бир қатор анъанавий таъсир усулларида фойдаланилади. Бу усулларга визуал кузатиш, микроскопия, микологик таъсир, биологик таъсир ёки индикатор ўсимликларда синаш ва бошқалар киради.

Шуни таъкидлаш лозимки, касалликларга ҳўжайин ўсимликдаги ташқи аломатлар бўйича ташхис қўйиш ҳар доим ҳам ишончли эмас. Чунки кўплаб касалликларнинг белгилари ташқи таъсир натижасида келиб чиққан физиологик бузилишлар симптомлари билан мос келади ва айрим фитопатогенлар ривожланиш бошида симптомсиз ёки характерли белгилари кучсиз намоён бўладиган ҳолда касаллик қўзғатиши мумкин. Индикатор ўсимликлар ёрдамида касалликларга ташхис қўйиш жараёни давомийлигининг узоклиги, махсус изоляция камералар зарурати усулнинг камчилиги ҳисобланади ва усулдан зарарли организмларга қарши пестицидлар қўлланилган вазиятларда фойдаланиш ташхис ишончилигини камайтиради.

Бундан ташқари, бир хил касаллик белгиси, турли омиллар натижасида (замбуруғлар, бактериялар ёки ноинфекцион касалликлар) юзага келиши мумкин. Бу ҳолат эса касалликлар диагностикасини ва уларнинг қўзғатувчиларини аниқ идентификациясини қийинлаштиради. Шунинг учун касалликларни аниқлашда фақатгина битта симптомни асос қилиб олиниши тўғри бўлмайди деган хулосага келиш мумкин.

Шунинг учун фитопатологик тадқиқотларда ҳар бир усулга эҳтиёж сезилади. Ўсимлик касалликларини анъанавий диагностикасида мавжуд муаммоларни бартараф этиш зарурати фитопатологияда патогенлар мавжудлигини аниқлаш ва уларни идентификация қилишнинг тубдан янги усулларини жорий этилишига олиб келди.

Фитопатологияда ўсимликлар касалликлари қўзғатувчиларини идентификация қилишда бир қатор истиқболли замонавий усуллардан фойдаланилади. Бу усулларга иммунологик диагностика, молекуляр-генетик идентификация, масс-спектрофотометрия ва бошқалар киради [2, 7, 10, 25, 45, 52].

Фитопатологик тадқиқотларда кенг қўлланиладиган истиқболли замонавий ташхис усулларини кўриб чиқамиз.

Фитопатоген организмларни идентификация қилишнинг истиқболли замонавий усуллари.

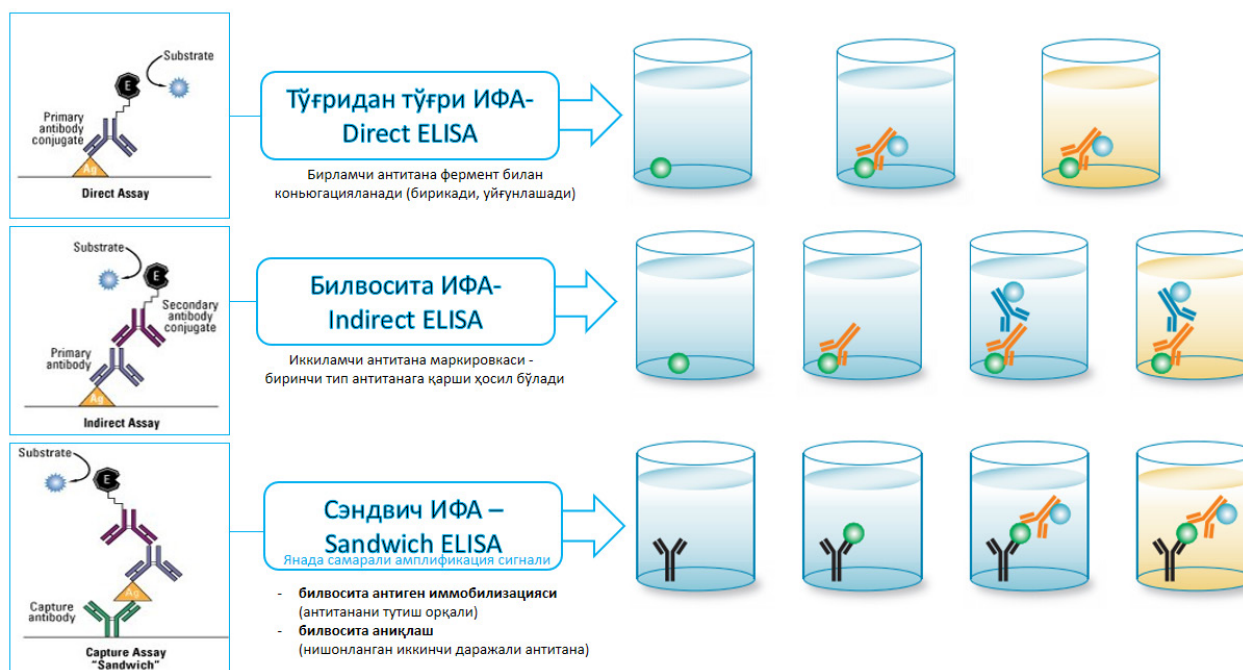
Иммунологик диагностика усуллари. Бу усул асосида антиген-антитаналарнинг махсус реакцияси ётади. Бунда кичик молекуляр бирикмалар, вируслар мавжудлигини ҳамда уларнинг микдорий кўрсаткичлари аниқланади.

Иммунодиагностика яъни серологик усулларга иммунофлуоресценция, иммуноблоттинг, серологик махсус электрон микроскопия, Иммунофермент таҳлили (ИФА-ELISA) ва бошқа кўплаб усуллар киради [2]. Дастлаб серологик усуллар асосан, вируслар идентификацияси учун фойдаланилган бўлса [1, 48], кейинги йилларда ўсимликларда касаллик қўзғатувчи бошқа патогенларни, хусусан замбуруғлар, оомицетлар, бактерия ва фитоплазмалар диагностикаси учун ҳам фойдаланилмоқда [11, 20, 30, 48, 62].

Иммунодиагностиканинг кўпгина усуллари бўлсада, булар орасида ИФА - Фермент билан боғланган иммуносорбент таҳлили (ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) нисбатан сезгир ва махсус бўлиб, ишончли диагноз қўйиш имкониятини беради.

Бунда муайян вирусга специфик антителоларга фермент уланади ва конъюгат номли комплекс олинади. Конъюгатга вирус билан зарарланган ўсимликнинг шираси қўшилади. Фермент билан "тамғаланган" антитаналар вирус-антиген билан реакцияга киради. Антиген антитаналар томонидан адсорбция қилиниши натижасида антитанга уланган фермент нофаол ҳолатга келади. Вирус билан реакцияга кирмаган антитаналардаги фермент эса фаол ҳолатда қолади. Сўнгра ушбу фермент таъсир қиладиган субстрат солинади. Реакцияга кирган фермент микдори колориметрия (маҳсулот рангининг ўзгаришини ўлчаш) ёрдамида аниқланади. Вирус мавжудлиги ва унинг концентрацияси тажриба ва назорат вариантларида фермент фаоллиги пасайишини солиштириш асосида аниқланади [7].

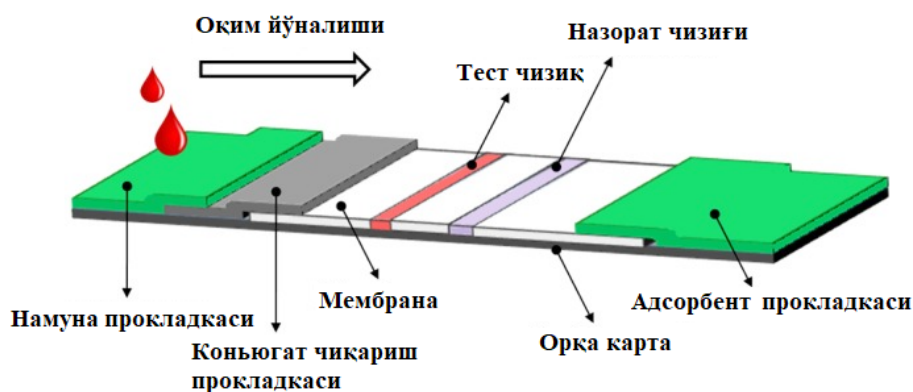
Иммунофермент таҳлилда, номидан кўриниб турибдики, икки хил реакцияга асосланади, яъни иммунокимёвий ва ферментатив реакциялар. Иммунокимёвий реакцияда патоген антигени билан антитананинг боғланиши юз берса,



1-расм. Иммунофермент таҳлил (ELISA) турлари ва улардаги жараёнлар кетма-кетлиги (Biorad, <https://www.biorad-antibodies.com> манбаси асосида тайёрланди)

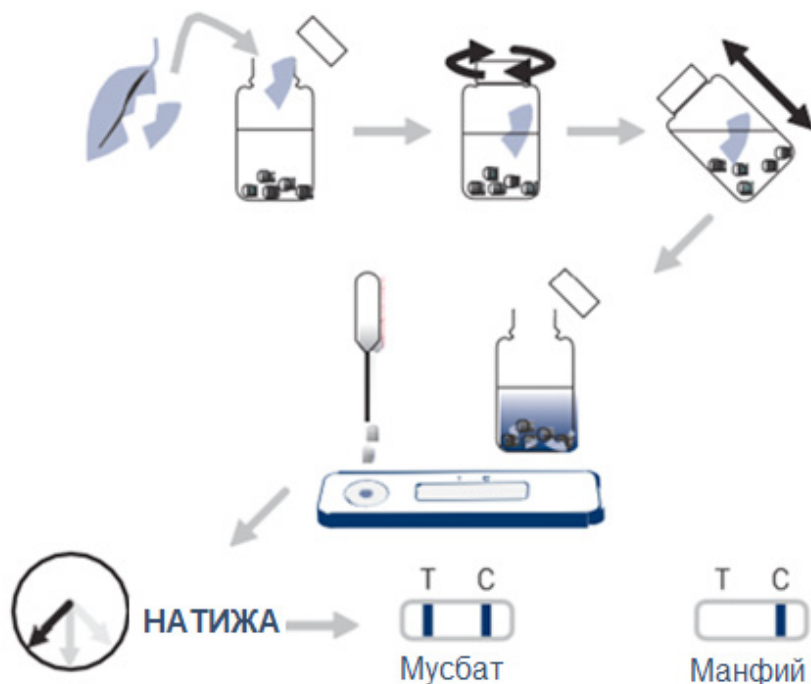
ферментатив реакцияда эса бир модда фермент таъсирида иммунологик реакция натижасини кўради, ҳисобга олади ҳамда ферментатив реакция натижасида намуна ранги ўзгаради. Фермент таъсир кўрсатган модда субстрат, фермент таъсирида олинган модда эса ферментатив реакция маҳсулоти дейилади. Фермент молекуласи билан кимёвий боғланган (конъюгацияланган) хрен пероксидаза, бета-галактозидаза, ишқорий фосфатазалар антитаналар сифатида ишлатилади [2, 3, 15].

Қаттиқ фаза ИФА яъни ELISA нинг бир неча ўзига хос усуллари бўлиб, буларга тўғридан тўғри ИФА, билвосита ИФА, сэндвич ИФА кабилар киради (1-расм).



2-расм. Иммунохроматографик таҳлил тест-тасмаси (Манба: Koczula, Gallotta, 2016)

Иммунохроматографик таҳлил (LFIA-Lateral Flow Immunoassay) юққа қатламли хроматография принципига асосланган, антиген ва унга мос бўлган антитана ўртасидаги реакцияни ўз ичига оладиган иммунокимёвий ташхис усули



3-расм. Ўсимлик намунасида патоген мавжудлигини иммунохроматографик таҳлил тест-тасмаси ёрдамида аниқлаш (Манба: <https://www.pocketdiagnostic.com>)

ҳисобланади. Махсус тест-чизиклар ёки тест-кассеталар орқали амалга оширилади [35, 46].

Ён оқимли иммунохроматографик таҳлил тести – мураккаб аралашма таркибидаги моддани сифат ва миқдор жиҳатидан аниқлайдиган қоғозга асосланган платформа бўлиб, бунда тест-тасмага намуна қуйилади ва 5-10 дақиқа оралиғида натижа намоён бўлади. Ишлаб чиқариши кам харажалилиги, ишлатиш қулайлиги ва тезкор натижа олиш мумкинлиги туфайли тест-жиҳоз қўлланилишини кенгайтирди [16]. Ён оқимли иммунохроматографик таҳлил тести (LFA-Lateral Flow Assay) ёрдамида турли биологик намуналарни сўлак [19], зардоб [42], қон [57] ва бошқа суюқликларни текшириш мумкин.

Бугунги кунга келиб, ён оқимли иммунохроматографик таҳлил тестлари ўсимликларнинг касалликлари диагностикасида ҳам кенг қўлланилмоқда [17, 21, 41].

Иммунохроматографик таҳлили тест-тасмасида текшириш осон бўлиб, тест-тасма чуқурчасига қуйилган суюқ намуна ёки экстракт, ташқи таъсирларсиз эритма билан таъсирлаша оладиган молекулалар бириктирилган полимер чизиклар бўйлаб ҳаракатланади. Ён оқимли иммунохроматографик таҳлил тест-тасмаларида намуна ва конъюгат прокладкаси ва мембраналар орқа картага бириктирилган бўлади. Конъюгат прокладкасига текширилаётган намунага таъсирчан бўлган махсус антитана (ранг ёки флуоресцент парчалар, коллоид олтин ва латекс микрошарчалар бириктирилган патоген учун махсус бўлган антитана) мавжуд бўлиб, намуна суюқлиги антитана билан бирикади ва чизик бўйлаб аниқлаш зонаси ўтади. Нитроцеллюлозадан иборат ғовакли мембранага биологик компонентлар (асосан антитана ёки антиген) иммобилизация қилинган бўлади. Уларнинг роли конъюгацияланган антитанага боғланган аналит (текширилаётган биологик объект) билан реакцияга киришишдан иборат. Тест чизигидаги натижа намуналар тўғри ҳаракатланганидан далолат берса, назорат чизигини бўялиши эса текширилаётган намуна натижаси мусбатлигини билдиради (5, 6-расмлар), яъни материалда патоген мавжудлигидан огоҳ қилади [67, 68]. Ушбу «нарвонли» таҳлилнинг принципи шундаки, бунда иммобилизация қилинган антитана томонидан босқичма-босқич колорометрик конъюгат-антиген комплексларини таъқиб қилиниши ҳисобланиб, бунда тасмада пайдо бўладиган чизикчалар сони текширилаётган модданинг (аналитнинг) концентрациясига тўғри пропорционалдир [24, 29].

Молекуляр - генетик идентификация. Ўсимлик касалликлари диагностикасида уларнинг систематик ўрнини

аниқлаш муҳим аҳамият касб этади, чунки касаллик кўзгатувчининг тур таркибини аниқламасдан туриб, унга қарши кураш чорасини ишлаб чиқиб бўлмайди. Ўсимлик касалликлари диагностикасида анъанавий ёндошув, асосан касалликларни симптомлари, патогеннинг морфологик хусусиятлари (микроскопия) бўйича аниқлашга асосланади. Ушбу усуллар муҳим ва зарурати юқори бўлсада, лекин уни юқори сифатли амалга ошириш учун маълум бир шартлар, хусусан патогеннинг касаллик белгилари аниқ намоён бўлиши керак. Бундан ташқари, идентификация бўйича катта тажрибага эга бўлган мутахассисга муҳтожлик сезилади. Шунингдек, икки ёки ундан ортиқ касаллик белгиларининг ўхшашлиги ҳам анъанавий идентификацияни янада қийинлаштиради. Ташхис учун кўпинча касаллик кўзгатувчиларнинг янги ирқларини, жумладан янги ўзига хос бўлмаган белгиларни пайдо бўлиши ҳам аниқ ташхис қўйишга тўсқинлик қилади. Кейинги йилларда анъанавий диагностика ва идентификацияни амалга оширишдаги маълум бир қийинчиликлар ва мавҳумликлар эса юқори аниқлик, ноёблилик, нисбатан соддароқ бўлган ва юқори сифатни таъминлайдиган замонавий молекуляр - генетик усуллардан фойдаланишни тақозо этмоқда.

Ўсимликларда касаллик кўзгатувчи организмларни (вируслар, фитоплазмалар, бактериялар, замбуруғлар ва бошқалар) молекуляр-генетик идентификация қилишнинг кўпгина усуллари бўлиб, уларга нуклеин кислоталар гибридизацияси, полимераза занжир реакцияси (ПЗР), тесқари транскрипция ПЗР (ТТ-ПЗР), реал-вақт ПЗР ва ДНК микро-чиплари киради [2, 45].

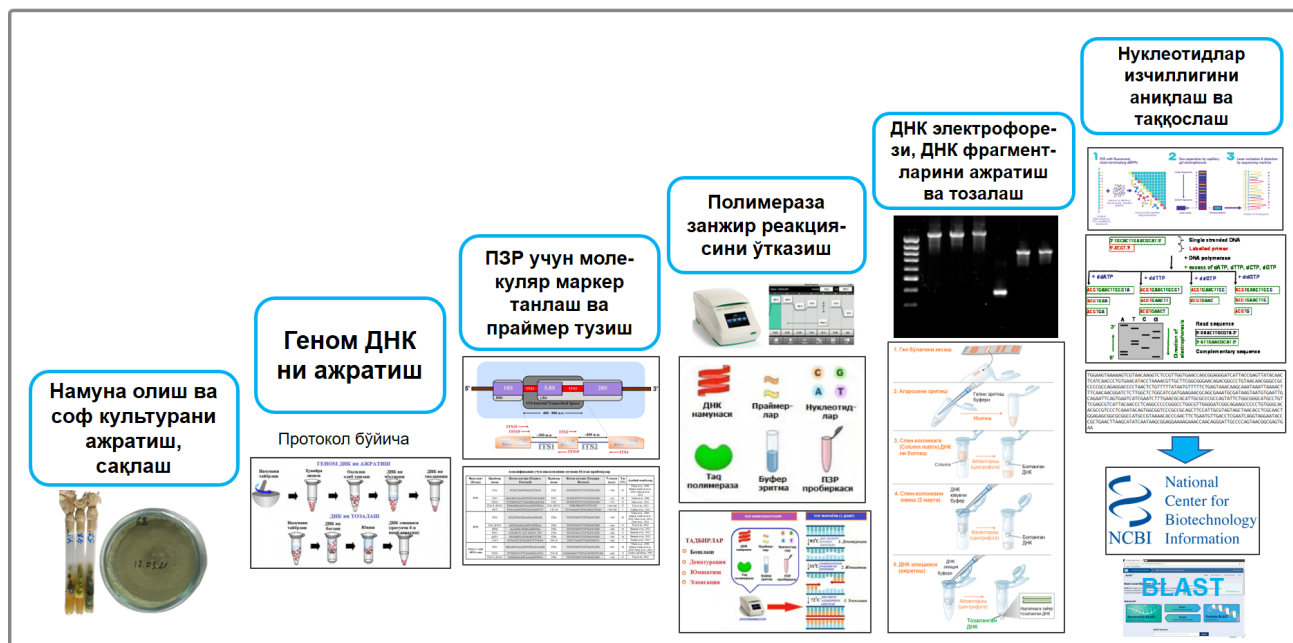
Полимераза занжир реакцияси 1983 йилда АҚШ лик биокимёгар Кэри Муллис томонидан ихтиро қилинган (1993 йилда Нобель мукофоти совриндори) бўлиб, бу ихтиро молекуляр биология ва тиббиётда инқилобий ўзгариш қилди [13]. ПЗР сунъий шароитда ферментлар таъсирида ДНК нинг маълум бир қисмини кўп марталаб кўпайишига (амплификация) асосланади. Бунда маълум шартга жавоб берадиган нуклеотидлар кетма-кетлиги ДНК-матрицада

мавжуд бўлгандагина ўша фрагментнинг миллионлаб нусхалари ҳосил бўлади. Одатдаги ПЗР шаротида 3000 жуфт нуклеотиддан катта бўлмаган фрагментлар амплификация қилинади [4, 63]. ПЗР ўсимликлар касалликлари диагностикасида биринчи марта 1991 йилда Расмуссен ва Вульф [51] *Pseudomonas syringae* pv. *pis* бактериясини аниқлашда фойдаланилиб, ундан кейин ўсимлик касалликлари диагностикасининг анъанавий усуллари нисбатан устунликка эгаллиги учун ҳам кенг қўлланилиб келинмоқда [12]. ПЗР асосидаги диагностика специфик, сезгир, самарали, тез ва универсал ҳисобланади [32].

Фитопатоген организмлар геномининг маълум бир участкасини секвенс қилиш билан патогеннинг туркуми ва турини маълумотлар базасига мурожаат қилиш билан аниқлаш мумкин [2].

ДНК баркодинг (DNA barcoding) – бу молекуляр идентификация усули бўлиб, ДНК даги қисқа генетик маркерлардан фойдаланган ҳолда организмнинг маълум бир таксонга тегишлилигини аниқлашдир [31]. Фитопатоген замбуруғлар молекуляр идентификацияси учун RAPD (Random amplification of polymorphic DNA), ITS (Internal Transcribed Spacer), IGS (Intergenic spacer), TEF-1a (translation elongation factor 1-α), BT-3 (beta-tubulin), COI (cytochrome oxidase I) каби молекуляр маркерлардан фойдаланилади [2, 6, 8, 23, 27, 60, 65, 66]. Замбуруғлар учун асосий генетик маркер ҳисобланган ички транскрипция қилинувчи оралик (ITS - Internal Transcribed Spacer) – бу рибосомал ДНК нинг тандем такропланадиган ген кластеридаги генлараро оралик, тахминан 600 жуфт нуклеотиддан иборат оралик кетма-кетлик бўлиб, 18S (рДНК нинг кичик суббирлиги - SSU) ва 28S (рДНК нинг катта суббирлиги LSU) суббирликлари билан ёнма-ён жойлашган [14, 56]. ДНК га асосланган таксономия ёки ДНК баркодингда замбуруғлар учун иккиламчи генетик маркер ҳисобланган TEF-1a [44, 60] нинг узунлиги Генбанкдаги секвенсларда 66-3000 ж.н. ни ташкил этган [44].

Бактерияларни нуклеотидлар изчиллигига кўра идентификация қилишда асосан 16S рРНК генидан [2, 5, 18, 38,



4-расм. Молекуляр-генетик идентификация - босқичма-босқич (анъанавий ПЗР га асосланган молекуляр идентификация)

64, 69] фойдаланилади, шунингдек ДНК-гираза В суббирлиги (gyrB), РНК полимераза (groB, groD ва б.), иссиқлик шоки оксигени боғлиқ бўлган генлар (srp60, hsp70 ва б.) ва бошқа маркерлар комбинациясидан фойдаланиш таклиф этилади [39, 49, 61].

Фитопатогенларни нуклеотидлар кетма-кетлигига кўра идентификация қилиш (анъанавий ПЗР да) бир қатор босқичларни ўз ичига олади, буларга намуна олиш, соф культура ажратиш, геном ДНК ни ажратиш, ПЗР учун молекуляр маркер танлаш ва праймер тузиш (танланган генетик маркерга асосан праймер тузилади), полимераза занжир реакциясини ўтказиш, электрофорезда ДНК фрагментларини ажратиш ва ДНК ни тозалаш, нуклеотидлар кетма-кетлигини аниқлаш (секвенс) кабилар қиради [2, 8].

Нуклеотидлар кетма-кетлиги аниқлангандан кейин ДНК кетма-кетликлари тахрирланади ва текисланади. Бу ишлар махсус дастурларда амалга оширилади. Бу дастурларга Sequencing Analysis (Applied Biosystems), BioEdit (Ibis Biosciences, USA), UGENE (UniPro, Россия) ва ClustalX кабилар қиради. Тадқиқ қилинган намуналар нуклеотидлари изчиллигини генетик маълумотлар базаларидан изоҳланган нуклеотидлар изчиллигини билан таққослаш BlastN алгоритмлари ёрдамида NCBI (National Center for Biotechnology Information, АҚШ) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) халқаро ресурсида амалга оширилади [8, 37]. Нуклеотидлар кетма-кетлигини таққослаш учун NCBI ресурсидан ташқари, кўпгина молекуляр биология, генетика, биомедицинага оид халқаро маълумотлар базалари мавжуд бўлиб уларга EMBL (The European Molecular Biology Laboratory), ENA (European Nucleotide Archive), DDBJ (DNA Data Bank of Japan), FungiDB (Fungal and Oomycetes Genomics Resources), MycoBank (Centraalbureau voor Schimmelcultures fungal biodiversity center) ва бошқалар қиради.

MALDI-TOF масс-спектрометрия. Матрицада фаоллаштирилган лазер десорбцияси/ионизацияси – учини вақти масс-спектрометрия (Matrix-assisted laser desorption

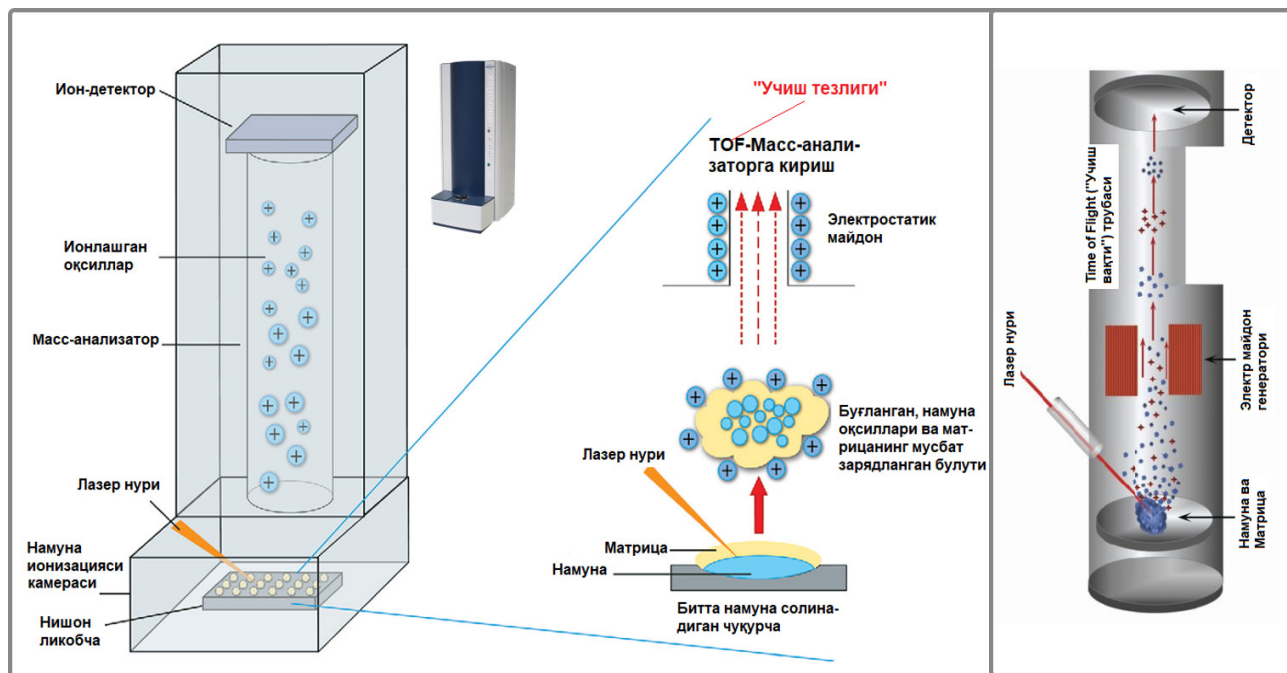
ionization–time of flight mass spectrometry - MALDI-TOF MS) – микроорганизмлар кенг доирасини мунтазам равишда идентификация қилиш учун тезкор, аниқ ва тежамкор усул сифатида пайдо бўлди [22, 50].

MALDI-TOF масс-спектрометрия - “юмшоқ” ионизациянинг десорбцион методи бўлиб, лазер импульсларини ютувчи матрицадан фойдаланган ҳолда анализ қилинаётган моддани кичик фрагментацияларини ҳосил қилиб ионлаш ҳисобланади [33]. Матрица - лазер нурланишининг деструктив (ёмон, ҳалокатли таъсир) хусусиятларини пасайишига ва таҳлил этилаётган моддани ионланишига олиб келади. Кристалланган молекулалардан иборат бўлиб, матрица сифатида синапин кислотаси, α -циано-4-гидроксисиннам кислотаси (α -CHCA) ва 2,5-дигидрооксibenзой кислотаси (DHB) ишлатилади [36].

MALDI-TOF масс-спектрометрия учувчан бўлмаган юқори молекуляр бирикмаларни (пептидлар, оксиллар, углеводлар, олигонуклеотидлар, синтетик полимерлар, органик комплекс бирикмалар ва б.) таҳлил қилиш учун кенг қўлланилади [28, 54, 58].

MALDI-TOF масс-спектрометрияда микроорганизмларни идентификация жараёни қуйидаги кетма-кетликларни ўз ичига олади: бактерия, замбуруғ ёки замбуруғсимон организмнинг соф культураси олинади (тўғридан тўғри қаттиқ агарли муҳитга экиш орқали ёки суюқ муҳитга ўстириш орқали, агар суюқ культурга ўстирилганда колониялар буфер эритмалар билан аралаштирилган ҳолда центрифуга қилиб чўктирилади, бошланғич супернатант олиб ташланади); тозаланган культура металл планшет ячейкаси (96 ячейкали металл планшет) суриш ва қуриш;

матрица-суюқликни металл планшетдаги ячейкада қуриган культура устига суриш, аралаштириш ва қуриш; металл планшетни ускуна қолипига жойлаштириш [10, 40, 34]. Ускуна ёқилгандан сўнг, металл планшетдаги ячейкалар бўйича лазер нурининг таъсири бошланади ва компьютер дастурида ҳар бир тур учун специфик бўлган спектрлар мажмуаси юзага келиб, бу спектрлар маълум бир турнинг



5-расм. MALDI-TOF масс-спектрометриянинг ишлаш принциплари (Манба: Patel, 2015)

ўзига хос “бармоқ изи” вазифасини бажаради. Дастур маълумотлар базасида мавжуд спектрларга таққослаган ҳолда намунанинг қайси турга мансублигини намоиш қилади (5, 6-расм).

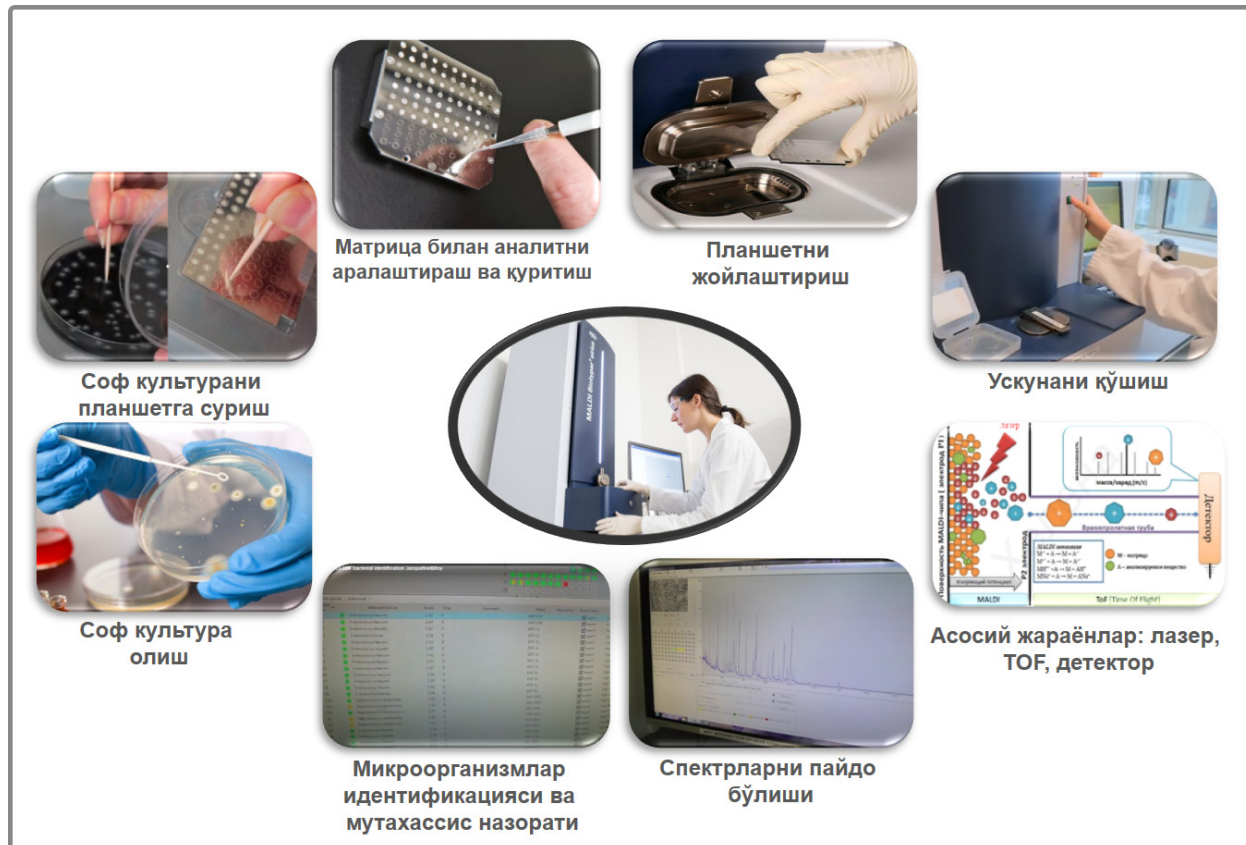
Бугунги кунда MALDI-TOF масс-спектрометрия микроорганизм идентификация тизимлари ишлаб чиқарувчи етакчи компанияларга Bruker Daltonics (АҚШ), Shimadzu (Япония) ва bioMérieux (Франция) лар киради.

Bruker Daltonics компаниясининг Bruker MALDI Biotyper микроорганизм идентификация тизими маълумотлар базасида микроорганизмлар тур ва штаммларининг 7000 га яқин масс-спектрлари мавжудлиги ва бу миқдор доимий тўлдириб борилаётганлиги (<https://www.bruker.com>), Shimadzu компаниясининг AXIMA Microorganism Identification System нинг SARAMIS (Spectral ARchive And Microbial Identification System) базасида биологик объектларнинг 50000 дан ортиқ спектрлари мавжудлиги келтирилган (<https://www.shimadzu.com>). Барча ушбу ускуна ишлаб чиқарувчиларнинг MALDI-TOF масс-спектрометрия микроорганизмлар спектрлари базаларидаги асосий эътибор клиник муҳим бўлган бактерияларга ва замбуруғларга қаратилганлигини билиш мумкин [34, 40, 50, 52]. Шундай бўлсада охириги йилларда ушбу базаларда доимий равишда фитопатоген микроорганизмларни ҳам ўзига хос спектрлари тўлдириб борилаётганлиги ва уларнинг миқдори йилдан йилга ошиб бораётганлиги маълум бўлади [10, 55, 59, 70].

Францияда ўтказилган тадқиқотда [43] 9 турга мансуб *Fusarium* туркумининг 62 та изоляти молекуляр (TEF-1 гени секвенси) ва MALDI-TOF идентификация қилинади. Молекуляр идентификация билан тасдиқланган ([\[www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/\]\(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/\)\) кўп қайд этиладиган турларнинг \(*Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticilloides*, *F. proliferatum*, *F. dimerum*\) 57 та изоляти \(92%\) тўғри идентификация қилинган. MALDI-TOF маълумотлар базасида мавжуд бўлмаган 4 та тур \(*F. chlamydosporum*, *F. equiseti*, *F. polyphialidicum*, *F. sacchari*\) аниқланмаган. Морфологик ва молекуляр идентификацияси бир-бирига тўғри келмаган 6 та изолятнинг 5 тасида молекуляр-генетик ва MALDI-TOF идентификация бир-бирига мос келган. Масс-спектрал ташхисга асосланган қисқа муддат талаб қиладиган бу усулни фузариум туркуми вакиллари тур даражасида аниқлашда қимматли восита сифатида фойдаланиш мумкин. Фақат маълумотлар базаси одатий бўлмаган турлар спектрлари билан бойитилиб борилиши лозим. Шунингдек, клиник муҳим бўлган грамм-манфий бактерияларнинг туркумини 99.8%, турларини 98.2% и \[26\], грамм-мусбат бактерияларнинг туркумини 95.5%, турларини 92.8% и \[53\], замбуруғларнинг эса 92.5% и \[34\] тўғри аниқланган.](http://</p>
</div>
<div data-bbox=)

Ушбу шарҳ мақолада ҳамда олдин чоп этилган “Ўсимликлар касалликлари диагностикасининг аънавий усуллари (шарҳ)” мавзусидаги мақолада келтирилган ўсимлик касалликларига ташхис қўйиш ва касаллик қўзғатувчиларни идентификация қилиш усулларининг ҳар бирининг ўзига хос бўлган камчиликлари бўлсада, диагностикада ўз ўрнини йўқотмайди. Янги истиқболли, замонавий, тезкор ва ишончли усулларни кенг жорий этилиши аънавий усуллардан воз кечиш кераклигини билдирмайди.

Қайси усулда аниқланишидан қатъий назар, касаллик қўзғатувчининг тури ва изолятларини тезкор, аниқ ва ишончли идентификация қилиш касалликларга қарши кураш



6-расм. MALDI-TOF масс-спектрометрияда микроорганизм идентификациясининг босқичма- босқич жараёни.

тизимини ишлаб чиқишнинг асосий талаби ҳисобланади. Ўсимлик касалликларига ташхис қўйиш лабораториялари (ИТИ, Ўсимликлар карантини инспекцияси ҳамда хусусий Ўсимликлар клиникаси лабораториялари) ҳудудда кузатилган далалар ёки лабораторияга келтирилган намуналардаги фитопатогенларни тезкор, ишончли идентификация қилиш, касалликнинг кўпайиш сабабларини аниқлаш ва уларни назорат қилиш бўйича тизимли ҳамда профессионал хизмат кўрсатиши талаб этилади. Бунда диагностика лабораторияларида юқорида келтирилган усулларни амалга ошириш имкониятининг мавжудлиги диагностика

сифатини ва тезкорлигини кафолатлайди.

Альберт ХАКИМОВ,

докторант (DSc), PhD, ТошДАУ

Ильхом САЛАХУТДИНОВ,

б.ф.н., катта илмий ходим,

Геномика ва биоинформатика маркази,

Самад ЎТАГАНОВ,

таянч докторант (PhD),

Ўсимликлар карантини илмий-тадқиқот маркази,

Динара БИКМЕТОВА,

магистрант, ТошДАУ.

АДАБИЁТЛАР:

1. Власов Ю.И., Ларина Э.И., Трускинов Э.В. Сельскохозяйственная фитовирусология СПб.- Пушкин: ВИЗР, 2016. - 236 с. Приложение к журналу «Вестник защиты растений», Выпуск 17.
2. Дьяков Ю.Т. Общая фитопатология / Ю.Т. Дьяков, С.Н. Еланский. М.: Изд-во Юрайт, 2019. 238 с.
3. Дьяков Ю.Т., редактор, Фундаментальная фитопатология. – М.: КРАСАНД, 2012 – 512 с.
4. Пилильщикова Н. Диагностика болезней растений и современные технологии // 22 августа 2013, <https://biomolecula.ru/articles/diagnostika-boleznei-rastenii-i-sovremennye-tehnologii>
5. Сидоренко А.В., Новик Г.И., Акимов В.Н. Использование методов геносистематики в классификации и идентификации бактерий рода *Bifidobacterium* // Микробиология. 2008, 3, С. 293-302.
6. Ҳасанов Б.А., Шеримбетов А.Г. Таксономия рода *Fusarium* и современные методы идентификации его видов (обзор) // Ўзбекистон биология журнали. 2020, №2, Б. 22-32.
7. Ҳасанов Б.О. Қишлоқ хўжалик экинларининг касалликлари ва уларга қарши кураш чоралари. Магистратура талабалари учун ўқув қўлланма. ТошДАУ нашр таҳририяти бўлими, 2011, 153 б.
8. Эгамбердиев Ш.Ш, Салахутдинов И.Б., Раджапов Ф.С., Курбонов А.Ё., Абдурахмонов И.Ю. Методические указания по определению патогенов рода *Fusarium*, выявлению наиболее агрессивных форм и методы защиты от них // Центр геномики и биоинформатики АН РУз, МЧЖ «Фан ва таълим полиграф», Ташкент, 2017. 38 стр.
9. Agrios G. N. Plant pathology // San Diego: Academic Press. 2005, 952 p.
10. Ahmad F., Babalola O.O., Tak H.I. Potential of MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid detection technique in plant pathology: identification of plant-associated microorganisms // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2012, 404(4), P. 1247–1255. doi:10.1007/s00216-012-6091-7
11. Alarcon B., López M.M., Cambra M., Gorris M.T., Guerri J. Differentiation of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* isolated from potato by Western blot and subsequent indirect ELISA // Journal of Applied Bacteriology. 1990. Vol. 69, № 1. P. 17–24. doi:10.1111/j.1365-2672.1990.tb02906.x
12. Balodi R., Sunaina B., Ghatak A., Rao R.H. Plant Disease Diagnosis: Technological Advancements and Challenges // Indian Phytopathology, 2017, 70(3), P. 275-281. doi: 10.24838/ip.2017.v70.i3.72487
13. Bartlett J.M.S., Stirling D. A Short History of the Polymerase Chain Reaction // in PCR Protocols. 2003, P. 3–6. doi:10.1385/1592593844
14. Begerow D., Nilsson H., Unterseher M., Maier W. Current state and perspectives of fungal DNA barcoding and rapid identification procedures // Applied Microbiology and Biotechnology. 2010, 87 (1), P. 99-108. doi:10.1007/s00253-010-2585-4
15. Bio-Rad. An Introduction to ELISA - Basics Guide | Bio-Rad [Electronic resource] // Bio-Rad. 2015. URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/download-request-copy-elisa-guide.html> (accessed: 13.03.2021).
16. Boisen M.L., Oottamasathien D., Jones A.B., Millett M.M., Nelson D.S., Bornholdt Z.A., et al. Development of Prototype Filovirus Recombinant Antigen Immunoassays // Journal of Infectious Diseases. 2015. Vol. 212, № suppl 2. P. S359–S367. doi: 10.1093/infdis/jiv353.
17. Boonham N., Glover R., Tomlinson J., Mumford R. Exploiting generic platform technologies for the detection and identification of plant pathogens // European Journal of Plant Pathology. 2008. Vol. 121, № 3. P. 355–363. doi: 10.1007/s10658-008-9284-3
18. Cai H., Archambault M., Prescott J.F. 16S Ribosomal RNA Sequence-Based Identification of Veterinary Clinical Bacteria // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2003, №15(5), P. 465–469. doi:10.1177/104063870301500511
19. Carrio A., Sampedro C., Sanchez-Lopez J.L., Pimienta M., Campoy P. Automated Low-Cost Smartphone-Based Lateral Flow Saliva Test Reader for Drugs-of-Abuse Detection // Sensors. 2015. Vol. 15, № 11. P. 29569–29593. doi: 10.3390/s151129569.
20. Caruso P., Gorris M.T., Cambra M., Palomo J.L., Collar J., López M.M. Enrichment Double-Antibody Sandwich Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay That Uses a Specific Monoclonal Antibody for Sensitive Detection of *Ralstonia solanacearum* in Asymptomatic Potato Tubers // Applied and Environmental Microbiology. 2002. Vol. 68, № 7. P. 3634–3638. doi:10.1128/AEM.68.7.3634-3638.2002
21. Danks C., Barker I. On-site detection of plant pathogens using lateral-flow devices // EPPO Bulletin. 2000. Vol. 30, № 3-4. P. 421–426. doi: 10.1111/j.1365-2338.2000.tb00922.x

22. Dingle T.C., Butler-Wu S.M. Maldi-tof mass spectrometry for microorganism identification // *Clinics in Laboratory Medicine*. 2013, September, 33(3), P.589–609. doi: 10.1016/j.cll.2013.03.001
23. Egamberdiev S.S., Salakhutdinov I., Abdullaev A.A., Ulloa M., Saha S., Radjapov F., Mullaohunov B. Mansurov D., Jenkins J.N., Abdurakhmonov I.Y. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* race 3 by single-base extension method and allele-specific polymerase chain reaction // *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2014, 36 (2), P. 2016–223. DOI: 10.1080/07060661.2014.905496
24. Fang C., Chen Z., Li L., Xia J. Barcode lateral flow immunochromatographic strip for prostate acid phosphatase determination // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Vol. 56, № 5. P. 1035–1040. doi: 10.1016/j.jpba.2011.08.008.
25. Fang Y., Ramasamy R. Current and Prospective Methods for Plant Disease Detection // *Biosensors*. 2015, № 3 (5), P. 537–561. doi: 10.3390/bios5030537
26. Faron M.L., Buchan B.W., Hyke J., Madisen N., Lillie J.L., Granato P.A. et al. Multicenter Evaluation of the Bruker MALDI Biotyper CA System for the Identification of Clinical Aerobic Gram-Negative Bacterial Isolates // *PLOS ONE* / ed. Chakravorty D. 2015. Vol. 10, № 11. P. e0141350.
27. Fell J.W., Blatt G.M. Separation of strains of the yeasts *Xanthophyllomyces dendrorhous* and *Phaffia rhodozyma* based on rDNA IGS and ITS sequence analysis // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 1999, 23 (1), P. 677–681. doi:10.1038/sj.jim.2900681
28. Fukuyama Y., Nakaya S., Yamazaki Y., Tanaka K. Ionic liquid matrixes optimized for MALDI-MS of sulfated/sialylated/neutral oligosaccharides and glycopeptides // *Analytical Chemistry*. 2008, 80 (6): 2171–2179. doi:10.1021/ac7021986
29. Fung K.-K., Chan C.P.-Y., Renneberg R. Development of enzyme-based bar code-style lateral-flow assay for hydrogen peroxide determination // *Analytica Chimica Acta*. 2009. Vol. 634, № 1. P. 89–95. doi: 10.1016/j.aca.2008.11.064.
30. Hampton R., Ball E., De Boer S. Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens: A laboratory manual. APS Press, St. Paul, Minn, 1990, 389 p.
31. Hebert P.D., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*. - 2003. - Vol. 270, no. 1512. P. 313–321. doi:10.1098/rspb.2002.2218
32. Henson J. M., French R. The Polymerase Chain Reaction and Plant Disease Diagnosis // *Annual Review of Phytopathology*. 1993. № 1 (31). C. 81–109. DOI: 10.1146/annurev.py.31.090193.000501
33. Hillenkamp F., Karas M., Beavis R.C., Chait B.T. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers // *Analytical chemistry*. 2013, Vol. 63, № 24, P. 1193A–1203A. doi: 10.1021/ac00024a716
34. Hou T.Y., Chiang N.C., Teng S.H. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2019. Vol. 27, № 2. P. 404–414.
35. Koczula Katarzyna M., Gallotta A. Lateral flow assays // *Essays in Biochemistry* / ed. Estrela P. 2016. Vol. 60, № 1. P. 111–120. doi:10.1042/EBC20150012
36. Korfmacher W.A. Using Mass Spectrometry for Drug Metabolism Studies // *CRC Press*. 2009, p. 342.
37. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets // *Molecular Biology and Evolution*. 2016, №33, P. 1870–1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
38. Lane D.J., Pace B., Olsen G.J. et al. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 1985, 82, P. 6955–6959.
39. Lecomte P., Manceau C., Paulin J.P., Keck M. Identification by PCR analysis on plasmid pE29 of isolates of *Erwinia amylovora* responsible of an outbreak in Central Europe // *European journal plant pathology*. 1997, 103, P. 91–98.
40. Lévesque S., Dufresne P.J., Soualhine H., Domingo M.-C., Bekal S., Lefebvre B., et al. A side by side comparison of Bruker Biotyper and VITEK MS: utility of MALDI-TOF MS technology for microorganism identification in a public health reference laboratory // *PLoS ONE*. 2015, 10(12), e0144878. doi:10.1371/journal.pone.0144878
41. López-Soriano P., Noguera P., Gorris M.T., Puchades R., Maquieira Á., Marco-Noales E., López M.M. Lateral flow immunoassay for on-site detection of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* in symptomatic field samples // *PLOS ONE* / ed. Melcher U. 2017. Vol. 12, № 4. P. e0176201. doi: 10.1371/journal.pone.0176201
42. Magambo K.A., Kalluvya S.E., Kapoor S.W., Seni J., Chofle A.A., Fitzgerald D.W., et al. Utility of urine and serum lateral flow assays to determine the prevalence and predictors of cryptococcal antigenemia in HIV-positive outpatients beginning antiretroviral therapy in Mwanza, Tanzania // *Journal of the International AIDS Society*. 2014. Vol. 17, № 1. P. 19040. doi: 10.7448/IAS.17.1.19040
43. Marinach-Patrice C., Lethuillier A., Marly A., Brossas J.Y., Gene J., Symoens F., Datry A., Guarro J., Mazier D., Hennequin C. Use of mass spectrometry to identify clinical *Fusarium* isolates // *Clinical Microbiology and Infection*. 2009. № 7 (15). C. 634–642.
44. Meyer W., Irinyi L., Hoang M.T., Robert V., Garcia-Hermoso D., Desnos-Ollivier M., et al. Database establishment for the secondary fungal DNA barcodetranslational elongation factor 1 α (TEF1 α) // *Genome* / ed. Xu J. 2019. Vol. 62, № 3. P. 160–169. doi:10.1139/gen-2018-0083
45. Narayanasamy P. Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis: - Viral and Viroid Pathogens // *Springer*. 2011, Vol.3, 321 p. doi:10.1007/978-90-481-9754-5
46. O'Farrell B. Evolution in Lateral Flow-Based Immunoassay Systems // *Lateral Flow Immunoassay*. 2008. P. 1–33. doi: 10.1007/978-1-59745-240-3_1

47. Orke E.C., Dehne H.W., Schonbeck F., Weber A. Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Elsevier, Amsterdam. 930 p.
48. Pandey, P., Pandey, N. S., Shamim, Md., Srivastava, D., Dwivedi, D. K., Awasthi, L. P., & Singh, K. N. Pandey P. et al. Molecular Tools and Techniques for Detection and Diagnosis of Plant Pathogens // Recent Advances in the Diagnosis and Management of Plant Diseases. 2015. P. 253–271. doi:10.1007/978-81-322-2571-3_19
49. Parkinson N., Cowie C., Heeney J., Stead D. Phylogenetic structure of *Xanthomonas* determined by comparison of *gyrB* sequences // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2009, February, 59(Pt 2), P. 264–274.
50. Patel R. MALDI-TOF MS for the Diagnosis of infectious diseases. Clinical Chemistry. 2015, January, 61(1), P.100–111. doi: 10.1373/clinchem.2014.221770
51. Rasmussen O.F. Wulff B.S. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* using PCR // In: Proceedings of 4th International Working Group, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, and Nederland. 1991. P. 367–376.
52. Reich M., Bosshard P.P., Stark M., Beyser K., Borgmann S. Species Identification of bacteria and fungi from solid and liquid culture media by MALDI-TOF Mass spectrometry // Journal of Bacteriology and Parasitology. 2013, S5-002. doi: 10.4172/2155-9597.S5-005
53. Rychert J., Burnham C.A., Bythrow M., Garner O.B., Ginocchio C.C., Jennemann R., et al. Multicenter Evaluation of the Vitek MS Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry System for Identification of Gram-Positive Aerobic Bacteria // Journal of Clinical Microbiology. 2013. Vol. 51, № 7. P. 2225–2231.
54. Sandrin T.R., Goldstein J.E., Schumaker S. MALDI TOF MS profiling of bacteria at the strain level: A review // Mass Spectrometry Reviews. 2013, 32 (3), P. 188–217. doi:10.1002/mas.21359
55. Santos C., Ventura J.A., Lima N. new insights for diagnosis of pineapple Fusariosis by MALDI-TOF MS technique // Current Microbiology. 2016, 73(2), 206–213. doi:10.1007/s00284-016-1041-9
56. Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012, 109 (16), P. 6241–6246. doi:10.1073/pnas.1117018109
57. Schramm E.C., Staten N.R., Zhang Z., Bruce S.S., Kellner C., Atkinson J.P., et al. A quantitative lateral flow assay to detect complement activation in blood // Analytical Biochemistry. 2015. Vol. 477. P. 78–85. doi: 10.1016/j.ab.2015.01.024
58. Seng P., Drancourt M., Gourié F., La Scola B., Fournier P. E., Rolain J.M., Raoult D. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry // Clinical Infectious Diseases. 2009, 49 (4), P. 552–553. doi:10.1086/600885
59. Siricord C., O'Brien P.A. MALDI-TOF mass spectrometry can be used for detection of pathogenic microorganisms in soil // Australasian Plant Pathology. 2008. Vol. 37, № 6. P. 543. doi:10.1071/ap08052
60. Stielow J.B., Lévesque C.A., Seifert K.A., Meyer W., Iriny L., Smits D., et al. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes // Persoonia. 2015, 35, P. 242–263. doi:10.3767/003158515X689135
61. Tian Q., Zhao Z., Lu S., Zhu Sh., Li Sh. DNA Barcoding for Efficient Species- and Pathovar-Level Identification of the Quarantine Plant Pathogen *Xanthomonas* // PLOS ONE / ed. Chen S. 2016, Vol. 11, № 11. P. e0165995.
62. Van Vuurde J.W., Ruissen M.A., Vrugink H. Principles and Prospects of New Serological Techniques Including Immunosorbent Immunofluorescence, Immunoaffinity Isolation and Immunosorbent Enrichment for Sensitive Detection of Phytopathogenic Bacteria // In: Civerolo E.L., Collmer A., Davis R.E., Gillaspie A.G. (eds) Plant Pathogenic Bacteria. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture. Springer, Dordrecht. 1987. vol 4. P. 835–842. doi: 10.1007/978-94-009-3555-6_180
63. Venter J.C. et al. The Sequence of the Human Genome // Science. 2001. Vol. 291, № 5507. P. 1304–1351. doi: 10.1126/science.1058040
64. Woese C.R. Bacterial evolution // Microbiological Reviews. 1987. V. 51. P. 221–271.
65. Wurzbacher C., Larsson E., Bengtsson-Palme J., Van den Wyngaert S., Svantesson S., Kristiansson E., et al. Introducing ribosomal tandem repeat barcoding for fungi // Molecular Ecology Resources. 2019, 19 (1), P. 118–127. doi:10.1111/1755-0998.12944
66. Xu J. Fungal DNA barcoding // Genome. 2016, 59 (11), P. 913–932. doi:10.1139/gen-2016-0046
67. Xu Y., Liu Y., Wu Y., Xia X., Liao Y., Li Q. Fluorescent Probe-Based Lateral Flow Assay for Multiplex Nucleic Acid Detection // Analytical Chemistry. 2014. Vol. 86, № 12. P. 5611–5614. doi: 10.1021/ac5010458.
68. Yen C.W., de Puig H., Tam J.O., Gomez-Marquez J., Bosch I., Hamad-Schifferli K., et al. Multicolored silver nanoparticles for multiplexed disease diagnostics: distinguishing dengue, yellow fever, and Ebola viruses // Lab on a Chip. 2015. Vol. 15, № 7. P. 1638–1641. doi: 10.1039/C5LC00055F.
69. Zeigler D.R. Gene sequences useful for predicting relatedness of whole genomes in bacteria // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2003, November, 53(Pt 6), P. 1893–1900.
70. Ziegler D., Mariotti A., Pflüger V., Saad M., Vogel G., Tonolla M., et al. In Situ Identification of Plant-Invasive Bacteria with MALDI-TOF Mass Spectrometry. PLoS ONE. 2012, 7(5), e37189. doi: 10.1371/journal.pone.0037189

МЕВАЛИ БОҒЛАРДА УЧРАЙДИГАН ЗАРАКУНАНДАЛАРНИНГ ТУРЛАРИ ВА ТАРҚАЛИШИ

Аннотация: Ушбу мақолада мевали боғларда зарар етказётган асосий зараркунандаларнинг турлари келтирилган. Сўрувчи зараркунандалардан, каналар ва шираларга қарши Вертимек, Ниссоран, Энтолучо, Нуринол препаратлари, кемирувчи зараркунандалардан, олма мевахўри, олхўри мевахўри, шарқ мевахўри, тенгсиз ипак қурти, нок мевахўрига қарши Энтовант, Дватрин препаратларини қўллаш баён этилган.

Калит сўзлар: мевали боғлар, сўрувчи зараркунандалар, кемирувчи зараркунандалар, кимёвий препаратлар, кураш чоралари, биологик самарадорлик.

Мевали боғларда учрайдиган зараркунандаларнинг тур таркиби, тарқалиш ареали, ривожланиши, зарар келтириш хусусиятларини ўрганиш ва зарарлаш миқдор мезонини аниқлаш давр талабидир. Мевали боғларда зараркунандалар сонини бошқаришда уйғунлашган ҳимоя қилиш тизимини татбиқ этиш эса ҳосилдорликни ошириш, юқори сифатли мева етиштириш кафолатидир.

Кейинги йилларда республикада боғдорчиликни ривожлантириш мақсадида интенсив усулда етиштирилаётган боғлар яратишда хорижий мамлакатлардан турли хил мева кўчатлари келтирилиб, боғ майдонлари кенгайтирилмоқда.

Адабиётларда келтирилган маълумотларга кўра, мевали боғларда 300 дан ортиқ турдаги зарарли организмлар зарар келтириб яшайди [1,2,4].

Мевали боғларида учрайдиган зараркунандаларнинг тур таркибини ўрганиш учун 2019-2020 йиллар давомида Тошкент вилоятининг боғдорчиликка ихтисослашган туманларидаги фермер хўжаликларининг мевали боғларда кузатувлар олиб бордик.

Кузатувлар ва тўплаган материалларимиз натижа-сида Тошкент вилояти ҳудудларида мевали боғларда Acariformes туркумидаги 4 та тур: оддий ўргимчаккана (*Tetranychus urticae* Koch.), боғ ўргимчакканаси (*Schizotetranychus pruni* Oudemans), қизил дўлана канаси (*Amphytetranychus viennensis* Zacher.), нок шиш ҳосил қилувчи кана (*Eriophyes pyri* Pagst.) каби зараркунандалар учраши қайд этилди. Бундан ташқари кемирувчи зараркунандалардан, олма мевахўри- (*Carposcapa pomonella*), шарқ мевахўри – (*Grapholitha (Laspeyresia) molesta* Busck), ғилофли куя куртлари- (*Coleophora hemerobiola*) ва бошқа зараркунандалар учраб мевали боғларда ҳосилдорликни кескин камайиб кетишига сабаб бўлмоқда.

Зараркунандаларга қарши кураш чораларида юқори самара олиш учун уларни уйғунлашган ҳолда қўллаш яхши натижа беради. Уйғунлашган кураш тизими агро-техник, биологик ва кимёвий кураш чораларини ўз ичига олади.

Боғ зараркунандаларига қарши кураш асосан қуйидаги йўналишларда олиб борилади:

Агротехник тадбирлар. Бу тадбир ўсимликларни уйғунлашган ҳолда ҳимоя қилишнинг бир йўналиши ҳисобланади. Агротехник тадбирлар асосида зараркунандалар кўпайишининг олдини олиш, баъзан улар миқдорини камайтириш мумкин.

Агротехник тадбирларини тўғри амалга ошириш нати-жасида зараркунандалар учун ноқулай шароит яратиш,

маданий ўсимликларнинг яхши ўсиб- ривожланиши ҳамда энтомофагларнинг кўпайиши учун эса қулай шароит вужудга келтириш мумкин. Агротехника усулининг яна бир афзаллиги шундаки, етиштирилган маҳсулотлар пестицидлар қолдигидан холи бўлади, далаларда эса фойдали ҳашаротларнинг ривожланиши ва кўпайиши учун имконият яратилади.

Бундан ташқари агротехника усулини интеграллашган усул чора-тадбирлари билан биргаликда амалга ошириш ҳам унинг афзалликларидан биридир. Бу усул кўпинча қўшимча сарф-харажат талаб қилмайди.

Мевали боғларда агротехник тадбирлар қуйидагича:

- 1) зараркунандалар таъсирида ва касалланиш оқибатида қуриб қолган шох-шаббаларни кесиш;
- 2) дарахтларга доимо шакл бериб, бутаб бориш, ёшартириш тадбирларини ўтказиш, касалланиш ва зарарланиш оқибатида тўкилган меваларни териб олиш;
- 3) боғ қатор ораларини бегона ўтлардан тозалаш;
- 4) минерал ўғитлар билан озиклантиришни ўз вақтида амалга ошириш.

Юқорида келтирилган кураш тадбирларини амалга оширилганда тупроқдаги ҳашаротларнинг тухуми, личинкаси ва вояга етган зотларнинг миқдори камайишига сабаб бўлади.

Биологик усул. Биологик усул бу зараркунандаларга қарши табиий кушандаларни ва уларнинг ҳаётий маҳсулотларини қўллаш демакдир. Табиий кушандаларга йиртқич ва паразит ҳашаротлар, каналар, нематодалар, умуртқали ҳашаротхўр ҳайвонлар, қушлар, микроор-ганизмлардан: бактериялар, замбуруғлар ва вируслар ҳамда феромон, аттрактант, репелентлар киради.

Кимёвий усул. Ўсимликларни кимёвий ҳимоя қилиш усули зараркунандалар сони белгиланган миқдор мезонидан ошганда қўллаш талаб этилади. Кимёвий препаратларни техника хавфсизлиги қоидаларига риоя этилган ҳолда қўллаш мақсадга мувофиқдир. Бунда мевали боғларда каналарга қарши Вертимек, 1,8% э.к. (0,4-0,5 л/га), Ниссоран, 10% н.к. (0,3 л/га), шираларга қарши Энтолучо, 20% э.к. (0,15 л/га), Нуринол, 55% э.к. (1 л/га) препаратларини кўрсатилган сарф-меъёрларда қўллаш тавсия этилади. Бундан ташқари кемирувчи зараркунандалардан, олма мевахўри, олхўри мевахўри, шарқ мевахўри, тенгсиз ипак қурти, нок мевахўрига қарши Энтовант 15% эм.к. (0,35 л/га), Два-трин 10% эм.к. (0,6 л/га) пре-паратлари қўлланилганда 82,0-85,0 % гача биологик самарадорлига эришилади.