

SABZAVOT G'OVAKLOVCHI PASHSHASI - *LIRIOMYZA SATIVAE* BLANCHARD (AGROMYZIDAE, DIPTERA) TURINING MOLEKULYAR IDENTIFIKATSIYASI VA FILOGENETIK TAHLILI

Xusenova Nodira Nutfillaevna

O'simliklar karantini va himoyasi ITI katta ilmiy xodimi

ORCID ID: 0009-0009-9949-3944

Xakimov Albert Axmedovich

Toshkent davlat agrar universiteti dotsenti, PhD

ORCID ID: 0000-0002-6326-3575

Xo'jaev Shomil Tursunovich

O'simliklar karantini va himoyasi ITI yetakchi ilmiy xodimi, q/x f.d, professor

ORCID ID: 0000-0001-6368-0478

Annotatsiya. Ushbu maqolada, *Liriomyza sativae* Blanchard zararokunda hasharot turi mitoxondrial sitoxrom c oksidaza I (COI) geni asosida DNK-barkodlash yo'li bilan molekulyar-genetik identifikatsiya qilinganligi to'g'risida ma'lumotlar keltirilgan. Tahlil uchun namunalari O'zbekistonning Toshkent va Buxoro viloyatlaridagi keltirilib, namunalardan mitoxondrial DNK ekstraksiya qilingan. DNK namunalari asosida COI gen fragmenti esa HCO2198-L va LCO1490-L praymerlari yordamida amplifikatsiya qilingan. Olingan izchilliklar; NCBI ma'lumotlar bazasida 100% o'xshashlik bilan AQSh, Hindiston va Bangladeshdan kiritilgan etalon *L.sativae* sekvenslari bilan mosligi aniqlangan va ushbu COI gen izchilliklari uchun GenBank kirish raqamlari (PV123188, PV123187) olingan. Filogenetik tahlil natijasida har ikki mahalliy namuna jahon bo'yicha tarqalgan *L.sativae* sekvenslari bilan bir klasterda joylashib, *L.trifolii*, *L.bryoniae*, *L.strigata*, *L.huidobrensis* kabi yaqin turlardan aniq farq qilgan. Ushbu tadqiqot *L.sativae* turining O'zbekistonda molekulyar darajada ilk bor tasdiqlanishini va uning mintaqaviy fitosanitar monitoringi hamda zararokunandalarga qarshi kurash tizimi uchun muhim genetik ma'lumotlar taqdim etadi. Natijalar morfologik jihatdan o'xshash yoki kriptik turlarni aniqlashda COI geni asosidagi DNK-barkodlashning ishonchli va samarali ekanini tasdiqlaydi.

Kalit so'zlar: *Liriomyza sativae*, DNK-barkodlash, COI geni, molekulyar identifikatsiya, filogenetik tahlil.

Abstract. This article presents information on the molecular-genetic identification of the insect-pest species *Liriomyza sativae* Blanchard by DNA barcoding based on the mitochondrial cytochrome c oxidase I (COI) gene. For the analysis, samples were collected from Tashkent and Bukhara regions of Uzbekistan, and mitochondrial DNA was extracted from the samples. Based on the DNA samples, the COI gene fragment was amplified using the primers HCO2198-L and LCO1490-L. The obtained sequences were found, in the NCBI database, to have 100% similarity with reference *L.sativae* sequences submitted from the USA, India, and Bangladesh, and GenBank accession numbers (PV123188, PV123187) were obtained for these COI gene sequences. As a result of phylogenetic analysis, both local samples clustered together with *L. sativae* sequences distributed worldwide, and clearly differed from closely related species such as *L. trifolii*, *L. bryoniae*, *L. strigata* and *L. huidobrensis*. This study represents the first molecular-level confirmation of *L. sativae* in Uzbekistan and provides important genetic data for regional phytosanitary monitoring and pest control systems. The results confirm that DNA barcoding based on the COI gene is a reliable and effective method for identifying morphologically similar or cryptic species.

Keywords: *Liriomyza sativae*, DNA barcoding, COI gene, molecular identification, phylogenetic analysis.

Аннотация. В данной статье представлены результаты молекулярно-генетической идентификации насекомого вредителя *Liriomyza sativae* Blanchard методом ДНК-баркодирования на основе митохондриального гена цитохром с оксидазы I (COI). Для анализа образцы были отобраны в Ташкентской и Бухарской областях Узбекистана, из которых выделяли митохондриальную ДНК. Фрагмент гена COI амплифицировали с использованием праймеров HCO2198-L и LCO1490-L. Полученные нуклеотидные последовательности показали 100%-ное совпадение с эталонными секвенсами *L. sativae*, представленными в базе данных NCBI из США, Индии и Бангладеш; для данных последовательностей гена COI получены регистрационные номера GenBank (PV123188, PV123187). Филогенетический анализ показал, что оба локальных изолята формируют общий кластер с секвенсами *L. sativae*, распространёнными по всему миру, и отчётливо отличаются от близкородственных видов - *L. trifolii*, *L. bryoniae*, *L. strigata* и *L. huidobrensis*. Данное исследование представляет собой первое молекулярное подтверждение *L. sativae* в Узбекистане и предоставляет важные генетические данные для регионального фитосанитарного мониторинга и систем борьбы с вредителями. Результаты подтверждают, что ДНК-баркодирование на основе гена COI является надёжным и эффективным методом идентификации морфологически сходных или криптических видов.

Ключевые слова: *Liriomyza sativae*, ДНК-баркодирование, ген COI, молекулярная идентификация, филогенетический анализ.

Kirish. Bugungi kunda qishloq xo'jaligi ekinlarining hosildorligini oshirish va oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlash dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi. Dunyo miqyosida qishloq xo'jaligi mahsulotlari etishtirish hajmini oshirishda, zararli organizmlarni nazorat qilish katta muammolardan biridir. Shular qatorida, zararkunanda hasharotlar (Insecta, Animalia) bo'lgan g'ovaklovchi pashshalar oilasi (Agromyzidae, Diptera) vakillari xavfli fitofag hasharotlarga kiradi va dunyo bo'yicha 140 oilaga mansub bo'lgan 600 dan ortiq madaniy va yovvoyi o'simliklarga zarar etkazadi. Ayniqsa, sabzavot, poliz, dukkakli, texnik va manzarali ekinlarda ushbu hasharotlar tomonidan etkazilayotgan iqtisodiy zarar yil sayin ortib bormoqda [16, 17].

G'ovaklovchi pashshalar oilasi (Agromyzidae) turlarining dunyo faunasi 2006 yilda bu oila bo'yicha jahondagi etakchi sistematiklardan biri, rus olimi V.V. Zlobin tomonidan tuzib chiqildi. Bu ma'lumotda oilaning 3000 ga yaqin taksonlari kiritilgan. Oilaning *Phytomyza* Fallen avlodi eng katta avlodlardan biri bo'lib, 536 ta turni o'z ichiga oladi. *Liriomyza* Mik avlodida 385 tur, *Melanagromyza* Hendel da 357 tur, *Chromatomyia* Hardy da 113 ta tur kiritilgan [2].

Liriomyza Mik avlodining 23 turi iqtisodiy jihatdan ahamiyatga ega bo'lib, qishloq xo'jalik va dekorativ o'simliklarga katta zarar etkazadi. *Liriomyza* Mik avlodi vakillarining 5 turi *Liriomyza trifolii* Burgess, *Liriomyza sativae* Blanchard, *Liriomyza huidobrensis* Blanchard, *Liriomyza bryoniae* Kaltenbach, va *Liriomyza strigata* Miegen lar polifag turlar hisoblanadi. Yuqorida sanab o'tilgan turlar bu oilaning ko'pgina boshqa vakillari singari barg yuzasida ilonizi shaklida g'ovaklar yasaydi [14].

An'anaviy ravishda hasharotlar turlarini to'g'ri aniqlash tashqi morfologik belgilarga asoslanadi. Xuddi shunday Agromyzidae oilasi (Diptera) tarkibidagi *Liriomyza* turlarini identifikatsiya qilish ham an'anaviy ravishda morfologik taksonomiyaga tayanadi. Biroq bunday yondashuv ushbu hasharotlarning kriptik (morfologik o'xshash, lekin genetik jihatdan turli) xilma-xilligi sababli qator qiyinchiliklarni keltirib chiqaradi.

Morfologik identifikatsiyaning asosiy qiyinchiliklari quyidagilardan iborat:

Hasharotlar o'lchamining juda kichik bo'lishi va tuzilishini bir-biriga o'xshash bo'lgani tufayli ularni morfologik farqlash qiyinligi [4];

Ba'zi turlarning tashqi ko'rinishi deyarli bir xil bo'lib, ularni faqat erkak hasharotlarning genitaliysi tuzilishini (distifallus) mikroskop ostida tekshirish orqali aniqlash mumkinligi [9]. Bu esa soha yoki ma'lum bir turkum yoxud oila bo'yicha maxsus mutaxassisni talab etadi;

Hasharotlarning lichinka, g'umbak kabi bosqichlarida tur darajasida aniqlash imkonsizligi (faqat katta bo'lmagan morfologik farqlar mavjud). Natijada, bunday holatlarda an'anaviy identifikatsiya samarasi past bo'ladi;

"Kriptik" (yashirin) turlar mavjud bo'lib, ular morfologik jihatdan o'xshash, lekin genetik tahlil ularni alohida tur ekanligini ko'rsatadi. Masalan, *Liriomyza huidobrensis* turi doirasida DNK tahlili yordamida morfologik jihatdan farqlanmaydigan *L. huidobrensis* va *L. langei* alohida turlar ekanini aniqlangan [15].

So'nggi yillarda molekulyar usullarni joriy etilishi ushbu turlarni o'rganishda inqilobiy o'zgarishlarga olib keldi, chunki DNK tahlili orqali g'ovaklovchi pashshalar oilasining *Liriomyza* avlodi turlarini aniq ajratish imkoni paydo bo'ldi. Molekulyar yondashuvlarda ko'pincha DNK-barkodlash usuli qo'llaniladi. Unda mitoxondrial DNKning standartlashgan qismidan (masalan, sitoxrom c oksidaza I subbiriligi, *Cytochrome c oxidase I*, *COI*) olingan qisqa genetik ketma-ketligi turlarni aniqlashda ishlatiladi

[8]. Bu usul morfologik usullar farqlay olmaydigan kriptik turlarni ishonchli ajratib berish imkonini beradi. Masalan, A. Carapelli va boshqalar [5] tomonidan olib borilgan tadqiqotlar *Liriomyza* avlodidagi yashirin xilma-xillikni namoyon qilgan va ko'plab turlar faqat morfologik belgilar asosida noto'g'ri aniqlangan bo'lishi mumkinligini ko'rsatdi. Molekulyar usullarning qo'llanilishi nafaqat turlarni aniqlash, balki ularning filogenetik munosabatlarini o'rganishda ham muhim ahamiyat kasb etdi. Chunki morfologik jihatdan yaqin deb hisoblangan turlar genetik darajada sezilarli farqqa ega bo'lishi mumkin.

Sitoxrom c oksidaza I - eukariotlar mitoxondrial DNK sida joylashgan, *MT-CO1* geni tomonidan kodlanadigan protein hisoblanadi. Ushbu gen yana *COX1*, *CO1* va *COI* kabi nomlarga ega [10]. *CO1* hayvon turlarini aniqlash uchun DNK shtrix-kodi (DNK-barkodlash) sifatida muvaffaqiyatli qo'llanilayotgan gen hisoblanadi. *MT-CO1* geni ketma-ketligi bu vazifaga mos keladi, chunki uning mutatsiya tezligi, odatda, yaqin qarindosh turlarni farqlash uchun yetarlicha tez bo'lib, shu bilan birga, bir turga mansub individuumlarda orasida ketma-ketlikni saqlanib qoladi [7].

COI geni bo'yicha *Liriomyza* turlariga oid DNK barkodlarini qo'llaydigan hayvon DNK-barkodlash tadqiqotlari uchun taksonomik jihatdan yanada to'liqroq DNK izchilliklari resursini yaratish bo'yicha sa'yi-harakatlar davom etmoqda [12]. Hozirgi paytda Barcode of Life Data System (BOLD) loyihasi ma'lumotlar bazasida (<http://www.boldsystems.org>) *Liriomyza* avlodiga mansub 69 ta turning DNK-barkodlari mavjud. Bu ma'lumotlar bazada *Liriomyza sativae* turning 512 ta DNK barkodi kiritilgan, lekin bu DNK-barkodlar orasida O'zbekistondan jo'natilgan sekvenslar topilmadi [3]. Shuningdek, NCBI (National Center for Biotechnology Information) genbankida esa *Liriomyza sativae* ni jami 780 ta DNK sekvensi namunalarini bo'lib, shundan 5 ta to'liq genom sekvensi (16 192 392 - 25 088 002 bp), 3 ta halqasimon DNK (15 551 - 16 149 bp), 600 dan ortig'i *SOI*, *COII* genlari va qolganlari boshqa lokuslar izchilligi hisoblanadi. Bu keltirilgan DNK sekvensi namunalarida ham (Taxonomy ID: 127406) O'zbekistonda aniqlanib, ro'yxatdan o'tkazilgan turning DNK izchilligi mavjud emasligi ma'lum bo'ladi [13].

Dunyoda polifag invaziv tur sifatida ma'lum bo'lgan, Respublikamizda bundan 23 yil oldin [1] faqat morfologik identifikatsiyaga asoslangan holda aniqlangan *Liriomyza sativae* Blanchard, shu vaqtgacha zamonaviy molekulyar-genetik metodlardan foydalanib identifikatsiya qilinmagan.

Yuqoridagilarni inobatga olgan holda, ushbu tadqiqot doirasida O'zbekiston hududida aniqlangan *Liriomyza sativae* Blanchard turini molekulyar-genetik metodlar asosida identifikatsiya qilish maqsad qilindi.

Materiallar va uslublar. *L. sativae* ni DNK-barkodlash asosida molekulyar-genetik identifikatsiya qilish uchun namunalar respublikaning Toshkent va Buxoro viloyatlaridan keltirildi (1-jadval).

G'ovaklovchi pashshalarni pupariysidan mitoxondrial DNK AmpliSens® RIBO-prep-M reagent komplekti yordamida Lima Costa va boshqalar [11] keltirgan usul asosida ekstraksiya qilindi. Ikkiqanotlilar turkumi (Diptera) uchun maxsus praymer juftligi HCO2198-L (5'-TAACTTCWGGRTGWCCAAARAATCA-3') va LCO1490-L (5'-GGTCWACWAATCATAAAGATATTGG-3') orqali *COI* gen fragmenti amplifikatsiya qilindi. PZR mahsulotlari 1% li agarozali gelda UF-nur yordamida vizualizatsiya qilindi va geldan tozalandi [6].

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) steril sharoitda 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems) 96 ta chuqurchali termotsiklerda o'tkazildi.

DNK-barkodlash uchun keltirilgan namunalar tavsifi

№	Namuna olingan hudud	Koordinatalar	Ekin turi	Ekin yetishtirish tizimi	Namuna kodi
1.	Buxoro viloyati Buxoro tumani	39°47'50.21»N 64°22'5.22»E	Bodring	Issiqxona	LS01
2.	Toshkent viloyati Zangiota tumani	41°11'31.21»N 69°10'10.32»E	Pomidor	Ochiq dala	LS03

Sekvenirlash Rossiya Federatsiyasining "Sintol" (Moskva shahri) ilmiy-ishlab chiqarish korxonasida Senger metodi bo'yicha ABI 3500 avtomatik sekvenatorida (Applied Biosystems, AQSh) amalga oshirildi. Olingan DNK ketma-ketliklari SnapGene Viewer (Dotmatics), UGENE (UniPro, Rossiya) dasturlarida tahrirlangandan va tekislangandan so'ng, DNK ketma-ketliklari NCBI (National Center for Biotechnology Information, AQSh) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ma'lumotlar bazasining BLASTn qidiruv instrumenti yordamida solishtirildi, taqqoslandi hamda identifikatsiya qilindi.

Natijalar va munozara. DNK hasharotlarning pupariylarlaridan ajratib olindi. Quyida keltirilgan agarozali gel elektroforezi natijalari, namunalardan DNK muvaffaqiyatli ajratilganligini tasdiqlaydi. 1-qatorida DNK marker keltirilgan bo'lib, qolgan qatorlarda turli namuna kodiga ega bo'lgan ampikonlar berilgan. 8-10-qatorlardagi LS01-1, LS01-2 va LS03 namunalarida, ~600-650 bp COI genining maqsadli fragmenti muvaffaqiyatli amplifikatsiya qilinganini ko'rsatadi. Bu erdagi ampikonlarning aniq ko'rinishi va pozitsiyasi PZR jarayonining samarali bo'lganini hamda namunadagi DNK sifati identifikatsiya va keyingi sekvenirlash uchun etarli ekanini anglatadi (1-rasm).



1-rasm. Elektroforezda PZR amplifikatsiyasi mahsulotlari. (Bu yerda, 1-marker DNK; LS01 – 653bp COI *L.sativae* va LS03 – 628bp COI *L.sativae*.)

Tadqiqotda davomida *L.sativae* turiga mansub ikkita hasharot namunasi (LS01 va LS03) mitoxondrial COI geni bo'yicha sekvens qilindi. 2-jadvalda va 2-rasmda keltirilganidek, LS01 namunada 653 nukleotidlik COI lokusi, LS03 namunada esa 628 nukleotidlik COI lokusi nukleotidlar izchilligi aniqlandi. Har ikki sekvens,

NCBI genbanki ma'lumotlar bazasiga yuklandi va mos ravishda PV123188 hamda PV123187 kirish raqamlari olindi.

3-jadvalda LS01 va LS03 namunalar sekvenslari NCBI BLAST orqali etalon COI sekvenslari bilan taqqoslangan natijalar keltirilgan. LS01 uchun eng yuqori muvofiqlik, AQShdan bazaga kiritilgan NC_015926.1 kirish raqami izchilligi bilan kuzatildi (*Query Cover* – 100%, *Percent Identity* – 100%, *Max Score* – 1203). Shuningdek, Hindiston, Bangladesh, Tailand kabi davlatlardan kiritilgan izchilliklar bilan ham 98-100% gacha to'liq moslik aniqlandi.

Hasharotning LS03 namunasi ham xuddi shunday tarzda, Hindistondan kiritilgan etalon sekvenslar (MN525177.1, MN525176.1) bilan 100% moslikni namoyon qildi. Shu bilan birga, Papua Yangi Gvineya, Bangladesh va Turkiyadan olingan izchilliklar bilan ham yuqori darajadagi (97-100%) o'xshashlik qayd etildi.

Olingan natijalar, *Liriomyza sativae* hasharoti namunalarini molekulyar-genetik identifikatsiya qilish jarayonida COI geni bo'yicha o'xshashlik darajasi (*Percent Identity*) 100% etalon izchilliklar bilan mos kelganini ko'rsatadi. Bu esa namunalarni tur darajasida aniq va ishonchli identifikatsiya qilish imkonini berdi. Ushbu ma'lumotlar, ayniqsa, morfologik jihatdan farqlanishi qiyin bo'lgan turlar uchun, DNK-barkodlash usulining samaradorligini yana bir bor tasdiqlaydi.

Tadqiqotlarda, *L.sativae* COI geni bo'yicha filogenetik tahlil o'tkazish uchun olingan nukleotidlar izchilligi to'g'rilangan DNK ketma-ketligidan foydalanildi. Nazorat variant sifatida tekshirilayotgan tur yoki turkumga mansub bo'lgan hasharotning aynan shu gen bo'yicha DNK fragmenti izchilligi olindi.

Ushbu tadqiqotda olingan *Liriomyza sativae* LS01 va LS03 namunalarining COI genining nukleotid ketma-ketliklari asosida filogenetik tahlil amalga oshirildi. Tahlil uchun NCBI GenBank ma'lumotlar bazasidan olingan turli mamlakatlardagi *L. sativae* turiga oid etalon sekvenslar, shuningdek, bir-biriga yaqin bo'lgan *Liriomyza trifolii*, *L. bryoniae*, *L. strigata*, *L. huidobrensis* va *Phytomyza atricornis* (autgrupp) turlaridan foydalanildi (3-rasm).

Filogenetik daraxt natijalariga ko'ra, LS01 va LS03 namunalari etalon boshqa *L. sativae* sekvensiyalari (ON129834, Pokiston; MT438133, AQSh) bilan yaqin va bir ketma-ketlikda qayd etildi. Bu ikki namunani o'zaro genetik jihatdan mutlaq mos kelishi va ularning bir tur (*L. sativae*) ekanini molekulyar jihatdan tasdiqlaydi. *L. sativae* klasteri filogenetik jihatdan *L. trifolii* va boshqa *Liriomyza* turlaridan aniq ajralib, turlararo chegaralarning COI marker yordamida samarali aniqlanishi mumkinligini ko'rsatdi (3-rasm).

DNK-barkodlash natijasi va ularni NCBI bazasida ro'yxatdan o'tkazish bo'yicha ma'lumotlar

№	Namuna raqami	Sikvens qilingan geni, lokus	Sikvens qilingan nukleotidlar soni	Molekulyar -genetik identifikatsiya qilingan tur	NCBI genbanki kirish raqami
1.	LS01	COI	653bp	<i>Liriomyza sativae</i> Blanchard	PV123188
2.	LS03	COI	628bp	<i>Liriomyza sativae</i> Blanchard	PV123187

Liriomyza sativae Blanchard (Agromyzidae, Diptera) COI genining NCBI BLAST muvofiqlik natijalari va etalon sekvenslar bilan taqqoslanishi

LS01, <i>Liriomyza sativae</i> , COI, 653 bp - PV123188						
Scientific Name	Max Score	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Davlat	Accession number
<i>Liriomyza sativae</i>	1203	100%	100%	15551	AQSh	NC_015926.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1160	100%	100%	700	Hindiston	MN525177.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1142	100%	100%	658	Bangladesh	KF962577.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1186	98%	100%	667	Hindiston	PP594438.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1138	96%	100%	631	Thailand	OM327486.1
LS03, <i>Liriomyza sativae</i> , COI, 628 bp - PV123187						
<i>Liriomyza sativae</i>	1160	100%	100%	700	Hindiston	MN525177.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1160	100%	100%	700	Hindiston	MN525176.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1142	98%	100%	1438	Papua Yangi Gvineya	KR476573.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1142	98%	100%	658	Bangladesh	KF962577.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1142	97%	100%	612	Turkiya	MZ983369.1
<i>Liriomyza sativae</i>	1131	97%	100%	667	Hindiston	PP594438.1

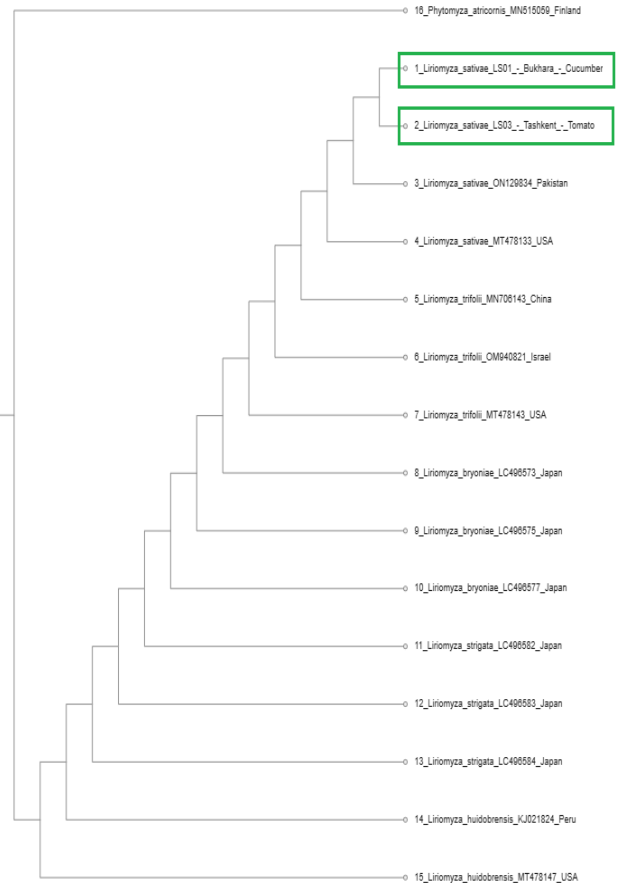
5' ATGAACTATTATTTTATTTGGAGCCTGAGCTGGAATAGTAGGAACCTCTCTTGAAT
 TCTTATTGAGCAGCAATTAAGACATCCGGGTGCTTTAATTGGTGTGATGCCAAATTTATAA
 TGTATTGTAACGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTATAGTTATAACCTATTATAAT
 TGGAGGATTTGGTAATTGATTAATTCCCTTAAATATTAGGAGCTCCAGACATAGCATTCC
 TCGAATAAATAATATAAGTTTTGATTATTAACCCCTGCTTTAACTCTTTTATTAATAAG
 CAGTATAGTAGAAAATGGGCTGGGACAGGATGAACGGTTTACCCTCCACTTCTTCAAT
 TATTGCACATGGTGGTCTTCAGTAGATTAGCTATTTTTCTCCATTTAGCTGGAAT
 TTCTTCAATTTTGGGGCAGTAATTTTATTACAACTATTATTAATACCGATCAACAGG
 AATTAATTTTATCGAATACCTTTAATTTGATGATCAGTTTAACTACTGCTGATTATT
 ACTTTTATCATTGCCGTGCTAGCTGGAGCAATTAATATTATTAAAGATCGAAATTT
 TAATACATCATTTTTGATCCAGCCGGTGGAGGAGACCCAAATTTATACCAAC 3'

Liriomyza sativae voucher LS01 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial GenBank: PV123188.1

5' AAGATATTGGAACTATTATTTTATTTGGAGCCTGAGCTGGAATAGTAGGAACCTCTC
 TTAGAACTCTTATTGAGCAGCAATTAAGACATCCGGGTGCTTTAATTGGTGTGATGCCAA
 TTTATAATGTTATTGTAACGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTATAGTTATAACCTA
 TTATAAATGGAGGATTTGGTAATTGATTAATTCCCTTAAATATTAGGAGCTCCAGACATAG
 CATTTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTGATTATTAACCCCTGCTTTAACTCTTTAT
 TAATAAGCAGTATAGTAGAAAATGGGCTGGGACAGGATGAACGGTTTACCCTCCACTT
 CTTCAATTTATGACATGGTGGTCTTCAGTAGATTAGCTATTTTTCTCCATTTAG
 CTGGAAATTTCTTATTTTGGGGCAGTAATTTTATTACAACTATTATTAATACCGAT
 CAACAGGAATTAATTTGATCGAATACCTTTATTGTTGATCAGTTTAACTACTGCTG
 TATTATTACTTTTATCATTGCCGTGCTAGCTGGAGCAATTAATATTATTAAAGATC
 GAAATTTTAAATACATCATTTTTGATCC 3'

Liriomyza sativae voucher LS03 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial GenBank: PV123187.1

2-rasm. *Liriomyza sativae* LS01 va LS03 namunalari COI geni nukleotidlar izchilligi



3-rasm. *Liriomyza sativae* LS01 va LS03 namunalari COI geni ketma-ketliklari asosida tuzilgan filogenetik shajara

Olingan natijalarga ko'ra, DNK-barkodlash usuli (COI) invaziv *Liriomyza* turlarini aniqlashda ishonchli va yuqori samaradorlikka ega ekanligini tasdiqlaydi. Shuningdek, turlararo morfologik o'xshashlikka qaramay, molekulyar markerlar yordamida ularni aniq tur darajasida aniqlash mumkinligi o'z isbotini topdi.

Xulosalar. Ushbu tadqiqot natijalari *Liriomyza sativae* Blanchard (Agromyzidae, Diptera) hasharoti namunalari molekulyar-genetik identifikatsiya qilishda mitoxondrial COI geni asosidagi DNK-barkodlash usulining yuqori samaradorligini ko'rsatdi. Buxoro (LS01) va Toshkent viloyati dan (LS03) keltirilgan namunalarda PZR orqali maqsadli COI gen fragmenti (653bp, 628bp) amplifikatsiya qilinib, Senger sekvenirlash natijasida yuqori sifatli nukleotid izchilliklari olindi. NCBI BLAST tahlilida har ikki namuna etalon izchilliklar bilan 100% moslik ko'rsatib,

tur darajasida ishonchli aniqlandi.

Filogenetik tahlil natijalariga ko'ra, LS01 va LS03 namunalari xalqaro GenBank ma'lumotlar bazasidagi boshqa *L. sativae* izchilliklari bilan bir klasterda joylashdi va genetik jihatdan mutlaq o'xshashligi qayd etildi. Bu esa COI marker yordamida turlararo chegaralarni samarali aniqlash mumkinligini va *L. sativae* ni morfologik jihatdan o'xshash bo'lgan *Liriomyza* turlaridan molekulyar darajada ajratish imkonini mavjudligini tasdiqlaydi.

Olingan natijalar invaziv *Liriomyza* turlarini aniqlashda COI geni asosidagi DNK-barkodlash usulini samarali monitoring va fitosanitar nazorat dasturlariga joriy etish mumkinligini ko'rsatadi. Ushbu usul hasharotlarning tarqalishini kuzatish, tur darajasida aniq identifikatsiya qilishda ishonchli molekulyar instrument hisoblanadi.

ADABIYOTLAR:

1. Злобин В.В., Другова Е.В. Минирующие мухи семейства Agromyzidae // Защита и карантин растений. – 2002. – №7. – С. 28-32.
2. Информационная система ZInsecta. Зоологический институт РАН. <https://www.zin.ru/projects/zinsecta/rus/zinsecta.asp> [Электрон манба]. (murojaat: 24.05.2025)
3. Barcode of Life Data System (BOLD). <http://www.boldsystems.org>. *Liriomyza sativae*. [Elektron manba]. (murojaat: 2025 yil, 25 iyul)
4. Boucher S., Savage J. DNA barcoding of the leaf-miner flies (Diptera, Agromyzidae) of Mitaraka, French Guiana // Zookeys. – 2022. – Vol. 1083. – P. 147–168. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1083.76651>
5. Carapelli A., Soltani A., Leo C., Vitale M., Amri M., Mediouni-Ben Jemaa J. Cryptic diversity hidden within the leafminer genus *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae) // Genes. – 2018. – Vol. 9(11). – P. 554. <https://doi.org/10.3390/genes9110554>
6. Ferreira E. C. B., Freitas M. T. de S., Sombra K. D. da S., Siqueira H. A. A. de, Araujo E. L. de, Balbino V. de Q. Molecular identification of *Liriomyza* sp. in the Northeast and Southeast regions of Brazil // Revista Caatinga. – 2017. – Vol. 30, no. 4. – Pp. 892–900. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n409rc>
7. Hebert P.D., Ratnasingham S., deWaard J.R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species // Proceedings. Biological Sciences. – 2003. – Vol. 270, suppl. 1. – P. S96–S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
8. Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 2003. – Vol. 270. – P. 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
9. IPPC. DP 16: Diagnostic Protocol for Genus *Liriomyza*. Annex 16 to ISPM 27: Diagnostic Protocols for Regulated Pests [Elektron manba]. – Rome: International Plant Protection Convention, 2017. – Rejim dostupa: https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2017/01/DP_16_2016_En_2017-01-30.pdf (murojaat: 2025.07.08).
10. Kosakyan A., Heger T.J., Leander B.S., Todorov M., Mitchell E.A., Lara E. COI barcoding of *Nebelid* testate amoebae (Amoebozoa: Arcellinida): extensive cryptic diversity and redefinition of the *Hyalospheniidae* Schultze // Protist. – 2012. – Vol. 163, No. 3. – P. 415–434. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2011.10.003>
11. Lima Costa C.R., Freitas M.T. de S., Santiago Figueirêdo C.A., et al. Genetic structuring and fixed polymorphisms in the gene period among natural populations of *Lutzomyia longipalpis* in Brazil // Parasites & Vectors. – 2015. – Vol. 8. – Article 193. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0785-6>
12. Maharjan R., Oh H.-W., Jung C. Morphological and genetic characteristics of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) infesting potato crops in Korea // Journal of Asia-Pacific Entomology. – 2014. – Vol. 17. – P. 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.01.013>
13. National Center for Biotechnology Information (NCBI Database). Taxonomy ID: 127406. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Elektron manba]. (murojaat: 2025 yil, 25 iyul).
14. Parrella, M.P. Biology of *Liriomyza* // Annual Review of Entomology. – 1987. – T. 32. – S. 201–224. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.32.010187.001221>
15. Scheffer S.J., Wijesekara A., Visser D., Hallett R.H. Polymerase chain reaction–restriction fragment-length polymorphism method to distinguish *Liriomyza huidobrensis* from *L. langei* // Journal of Economic Entomology. – 2001. – Vol. 94. – P. 1177–1182. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.5.1177>
16. Scheffer S.J., Winkler I.S., Wiegmann B.M. Phylogenetic relationships within the leaf-mining flies (Diptera: Agromyzidae) inferred from sequence data from multiple genes // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2007. – Vol. 42. – P. 756–775. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.12.018>
17. Spencer K.A. Host specialization in the world Agromyzidae (Diptera). – Dordrecht: Springer, 1990. – XII, 444 p. – (Series Entomologica; Vol. 45). <https://doi.org/10.1007/978-94-009-1874-0>