QO‘QON DAVLAT PEDAGOGIKA INSTITUTI ILMIY XABARLARI
(2026-yil 2-son)

TABIIY FANLAR

NATURAL SCIENCES

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПШЕНИЦЫ В ТАШКЕНТСКОЙ ОБЛАСТИ

https://doi.org/10.70728/a.series.v08.i02.066

М.Х. Шанасирова[1], З.Ш, Собирова[1],
Т.Х.Махмудов[2,3], Х.Х.Мирзакаримова[4]
[1]Чирчикский государственный педагогический университет,
Ташкентская область, г. Чирчик, Узбекистан
[2]Институт генетических ресурсов растений,
Ташкентская область, Кибрай, Узбекистан
[3]Научно-производственный центр по выращиванию и переработке лекарственных растений, г.Ташкент, Узбекистан
[4]Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека,
г.Ташкент, Узбекистан
e-mail: Djalalovamd@mail.com
+9989011451161

Аннотация.Данное исследование направлено на изучение наличия и распространения вирусов поражающий пшеницу в разрезе районов Ташкентской области. Научно исследовательская работа направленна на изучение вирусов семейства потиовирусы на пшеничных полях Ташкентской области.

Ключевые слова: Triticum aestivum. L Potyviridae, WSMV, вирусы пшеницы, мониторинг, молекулярная диагностика

Abstract:. This study is aimed at investigating the presence and distribution of viruses infecting wheat across the districts of the Tashkent region. The research specifically focuses on the detection and characterization of viruses belonging to the family Potyviridae in wheat fields of the Tashkent region.

Keywords: Triticum aestivum. L, Potyviridae, WSMV (Wheat streak mosaic virus), wheat viruses, monitoring, molecular diagnostics.

ВВЕДЕНИЕ.Пшеница является одной из важнейших зерновых культур в мире и основным источником продовольственного зерна. Так же она является стратегически важной сельскохозяйственной культурой, широко возделываемой в Республике Узбекистан.Пшеница (*Triticum aestivum.* L), род однолетних травянистых растений семейства злаковых. Относится к культивируемым формам и

дикорастущим видам. Одна из основных продовольственных культур в мире. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), большая часть производства пшеницы приходится на более 10 ведущих стран-производителей пшеницы, и еще меньше стран являются крупными экспортерами. Китай 17%, Индия 12.5%, Россия 8.4%, США 8.4%, Франция 5.4%, Канада 4%, Германия 3.2%, Пакистан 3.4%, Австралия 3.2%, Украина 3.1%. [17]. Этот злак имеет решающее значение для продовольственной безопасности, особенно в развивающихся странах, спрос на который, по прогнозам, увеличится на 60% к 2050 году [1]. Пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.) с гексаплоидным геномом (AABBDD) является одной из основных сельскохозяйственных культур, выращиваемых во всем мире, и отличается замечательной адаптацией к различным климатическим [4]. В связи с быстрым ростом населения мира в ближайшие несколько десятилетий урожайность пшеницы необходимо увеличить на 50 %, чтобы удовлетворить растущий спрос на продовольствие [12]. Этот злак имеет решающее значение для продовольственной безопасности, особенно в развивающихся странах, спрос на который, по прогнозам, увеличится на 60% к 2050 году [1]. Вредители и патогены считаются ключевыми факторами, ограничивающими урожайность во всем мире, а среди патогенов вирусы представляют собой растущую угрозу для производства пшеницы и продовольственной безопасности[11]. Однако вспышки различных почвенных болезней серьезно влияют на здоровье растений, приводя к потере урожайности до 30% широкого спектра товарных культур, овощей и фруктов [9]. Вирусы растений представляют значительную угрозу, поскольку контролировать их распространение сложно и дорого, а надежного лечения, кроме полного уничтожения предполагаемых переносчиков и инфицированных растений, не существует [13]. Вирусы, имеющие особое значение для пшеницы, включают вирус полосатой мозаики ячменя (ВПМЯ), вирус полосатой мозаики пшеницы (ВПМП), вирус тритикумной мозаики (ВТМ) и **эмаравирус мозаики пшеницы Высоких равнин**[10]. Вирус полосатой мозаики пшеницы (ВПМП), один из основных патогенов, влияющих на мировое производство пшеницы, вызывает серьезные потери урожая. Несмотря на то, что о его глобальной диверсификации сообщалось ранее, эволюционная динамика и филогеографические закономерности ВПМП остаются малоизученными [8]. Вирус WSMV представляет собой одноцепочечный РНК-вирус с положительной активностью и является типичным представителем рода *Tritimovirus* семейства *Potyviridae.* Вирус ВПМП передается клещом-скручивальщиком пшеницы. (*Aceria tosichella)* [13]. С точки зрения эволюционного развития, ВПМП имеет довольно простую конструкцию. Молекула одноцепочечной позитивно-смысловой РНК заключена в белковый капсид без оболочки [5].Тип вириона Нитевидный, палочковтдный, флексибильный (гибкий). В целом длина

всего вириона составляет менее 700 нм [6], диаметр ~12–15 нм, а весь генетический код вируса имеет длину всего 9384 нуклеотида [2], Молекулярная масса вируса полосатой мозаики пшеницы составляет около 3×10^7 дальтон. Однако такая упрощенная конструкция позволяет вирусу иметь довольно широкий спектр хозяев, охватывающий многие растения семейства злаковых [3]. Патогенность и вирулентность ВПМП, в отличие от восприимчивости пшеницы, изучена достаточно хорошо [2,5,12,13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования в мае 2025 года бы проведен мониторинг в районах Ташкентской области. Был оценен уровень заболевания пшеницы вирусными заболеваниями по методу Ю.И.Власова. методу Ю.И. Власова. Через каждые 15-20 м по диагонали поля проверяли растения длиной 1 м. Регистрировали больные растения в 10-20 местах по краю поля. Затем подсчитывают количество больных и здоровых растений. Степень заражения растений, поврежденных вирусом, рассчитывают по следующей формуле.

$$P = \frac{n \times 100}{N}$$

В формуле:

P-уровень заболеваемости (%); п-количество растений;

N-общее количество обследованных растений.

РНК выделяли по методу Kit termofisher. Небольшое количество листьев мы гомогенизировали с помощью жидкого азота. Затем с гомогенной массы мы 200мг гомогената поместили в 1,5 мл пробирку и добавили в нее 1 мл лизиз буффера (1мл лизис буфера и 10мкл меркаптоэтанола). Далее с помощью рук или вортекса перемешиваем массу до однородного состояния. Зачем инкубируем при комнатной температуре в течении 3 минут. Затем помещеаем в центрифугу при скорости и времени 2600 xg: 5 мин., супернат переливаем в новую пробирку. В соотношении 1:1.5 наливаем 96-100% этанол. Перемешиваем до однородной массы с помощью вортекса. Переливаем супернат в 700 мкл в пробирку с фильтром. Центрифугируем при скорости 12000 xg: 15 секунд. В колонке образуется осадок. Оставшаяся масса помещается в пробирку с фильтром и снова центрифугируется при скорости 12000 xg: 15 секунд. Осадок в колонке выбрасывается и добавляется 700 мкл washing buffer I. Центрифугируем при скорости 12000xg: 15 секунд. Нижняя часть колонки выбрасывается, и надевается новая пробирка. Добавляем 500 мкл washing buffer II. Центрифугируем при скорости12000хг: 15 секунд. Выливаем жидкостью и оставляем пробирку. Центрифугируем пустую пробирку при скорости 12000xg: 15 секунд. Фильтрованную часть оставляем. Нижнюю часть снимаем и вставляем новую стерильную пробирку, на фильтр медленно в центр наливаем вставляется 100 mkl RNA free water и центрифугируем при скорости 12000 xg: 2 мин.

Фильтровальная часть пробирки удаляется. На дне остается РНК. Храним его при минусовой температуре в холодильнике! Далее из РНК мы делали кДНК что позволяет нам переводить РНК в более стабильную форму в виде ДНК. Используется общая РНК или мРНК. Количество РНК: 0,1-5 µl. Качество РНК: A260/A280=1,8-2,0. (Nanodrop) РНК должна быть свободна от ДНК.

Метод обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

Метод обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) проводили с использованием обратной транскриптазы MMLV RT (SuperScript™ II Reverse Transcriptase, США); реакционную смесь (master mix) готовили в соответствии с рекомендациями производителя.

1-я смесь (денатурация РНК): РНК - 5 µl, 5x dNTP Mix - 2 µl, ddH2O – 5 µl, Rev.WSMV -1 µl. Реакционная смесь (7 мкл)

2-я смесь: Реакционную смесь (master mix) готовили в следующем составе ddH2O -5 µl, 5x buffer – 4 µl, 0,1DTT – 1 µl, SuperScript – 0.5 µl.

Программа термоциклирования для стадии обратной транскрипции была следующей: один цикл при 40 °C в течение 115 минут, затем при 70 °C в течение 10 минут с последующим охлаждением и выдержкой при 4 °C на неограниченное время. Для проведения реакции использовали праймер WSMV-R1.

Метод ПЦР

ПЦР проводили с использованием набора реагентов Platinum™ Hot Start PCR Master Mix (2X), представляющего собой готовую к применению смесь, содержащую ДНК-полимеразу, соли, магний и dNTP. Для проведения ПЦР готовили реакционную смесь (master mix) для одного образца с использованием набора Platinum™ HS PCR 2× Master Mix (Invitrogen, США). Что мы можем наблюдать ниже в таблице 2.

Таблица 2

Компонент	**Количество**	**Для чего применяется**
ddH2O	6,6µl	доводят объём реакции до определённого значения
PLATINUM master mix	12,5µ1	предназначен для амплификации ДНК непосредственно из образцов различного происхождения без необходимости предварительного выделения ДНК
MgCL	0,9µ1	-Усиливает ферментативную активность -Способствует связыванию праймеров -Стабилизирует одноцепочечную ДНК-матрицу
praymer-F	0,5µl	праймеры используются для амплификации целевых участков ДНК
praymer-R	0,5µl	праймеры используются для амплификации

		целевых участков ДНК
cDNK	4 µl	для амплификации протяжённых последовательностей с целью изучения их структуры, клонирования и в других задачах

Диагностика ВПМП с помощью полимеразной цепной реакции (PZR) проводится при 25 µl. Начальная денатурация: 94 °C - 2 мин 35 циклов, денатурация, 94 °C-30 сек, отжиг праймеров: 57°C-30 сек, элонгация: 72 °C 1мин, Финальная элонгация: 72 °C -5 мин, Охлаждение: 4°C-∞

Метод гель-электрофореза

Метод гель-электрофореза применяется для детекции ДНК, выделенной из образцов, а также для определения длины продуктов ПЦР. Основной принцип метода гель-электрофореза заключается в том, что отрицательно заряженные молекулы ДНК под действием электрического поля перемещаются от отрицательного электрода (катода) к положительному электроду (аноду). Агарозный гель представляет собой плотную среду, которая препятствует движению молекул ДНК. Короткие фрагменты ДНК перемещаются в сторону анода быстрее, чем более длинные фрагменты. Поскольку отношение заряда ДНК к её массе практически одинаково, электрофорез в агарозном геле позволяет определять размеры различных фрагментов ДНК. Для определения длины продуктов ПЦР использовали 2% агарозный гель. Определение числа нуклеотидов в продуктах ПЦР проводили при напряжении 110 В в течение 1 часа 30 минут. Использованные реактивы включали: агарозу, буфер 10×TBE, бромид этидия, бромфеноловый синий, а также молекулярный маркер массы ДНК — 100 п.н. DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, США) для определения размеров продуктов ПЦР. Приготовление 2% агарозного геля (100 мл): использовали 2 г агарозы и 98 мл буфера 10×TBE. Смесь агарозы и буфера растворяли в микроволновой печи до прозрачного состояния, затем охлаждали до температуры 50–60 °C, после чего добавляли 3 мкл бромида этидия. Раствор тщательно перемешивали и заливали в форму. Гель оставляли при температуре 18–25 °C на 30 минут до полного затвердевания.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период на 2025 год был проведен Вирусологический мониторинг растений пшеницы с целью изучения распространения случаев ВПМП, поражающий растения злаковых в разрезе районов. Исходя из этого, мае 2025 года были организованы экспедиции в Ташкентскую область. Заболеваемость на пшеничных полях районов Ташкентской области различалась. Симптомы заболевания на зерновых полях в Кибрайском и Бостанлыкском районах наблюдались пожелтение листьев растения пшеницы, начиная с трех частей, отставание в росте и снижение заболеваемости на 15-20 см по сравнению со здоровыми растениями, пожелтение листьев на полях на

15-20%. На полях района Искандар и Газалкент наблюдалась высокая заболеваемость, на полях выявлено до 50-70% поражений на пшенице. Поскольку симптомы заболевания были похожи на симптомы, вызванные ВПМП, был проведен визуальный осмотр, а также были собраны образцы для иммунологического анализа и анализа ПЦР. На рисунке номер 1 наблюдения и проведения мониторинга полей Искандарского, Газалкентского и Кибрайского районов.



Рис.1. Пшеничные поля Бостанлыкского (A-B) и Кибрайского районов C-D





Рис.2. Признаки наличия вирус полосатой мозаики пшеницы на листьях пшеницы

В зависимости от симптомов заболевания биологические образцы хранили в холодильнике "Alpicool" при температуре -18°C и доставили в лабораторию [17]. Координаты обследованных территорий и места отбора определялись в системе глобального позиционирования (GPS) с помощью мобильного устройства. Координаты полей на который был проведен мониторинг в районах Бостанлыкского и Кибрайского районов 41.555284, 69.693957; 41.555975, 69.695778; 41.572465, 69.807008; 41.570935, 69.808767; 41.568006, 69.812277; 41.572490, 69.812598.

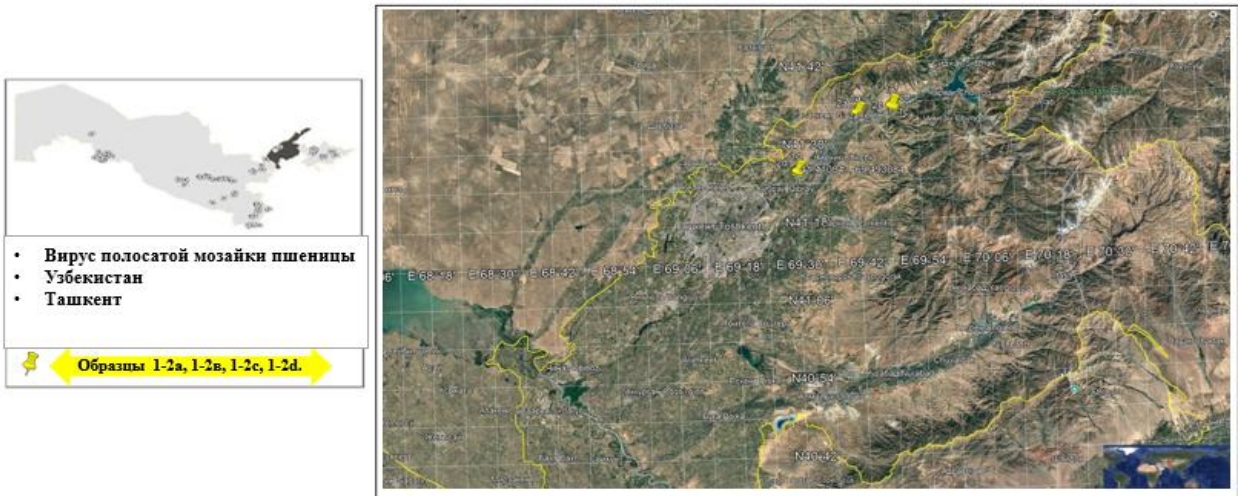


Рис.3. Распространение ви-ус полосатой мозаики пшеницы в разрезе районов Ташкентской области

В ходе мониторинга было выяснено что поражение вирусом на пшеничных полях по координатам *41.555284, 69.693957; 41.555975, 69.695778; 41.572465, 69.807008; 41.570935, 69.808767* составило около 15-20%. У зараженных растений наблюдалось пожелтение листьев, укороченный стебель, недоразвитый колос и другие симптомы характерные для вирусных заболеваний злаковых. А по координатам 41.568006, 69.812277; 41.572490, 69.812598 Кибрайского района было обнаружено заражение около 10-20%. Что мы и можем наблюдать в таблице 1.

Таблица-1

№	Районы	Площадь посева	Заражение в %

1	Бостанлыкский район(искандар)	3	15%
2	Бостанлыкский район (Газалкент) 1	10	20%
3	Бостанлыкский район (Газалкент) 2	5	10-15%
4	Кибрайский район	5	10%

При мониторинге полей на растениях пшеницы была обнаружена обыкновенная злаковая тля которая является переносчиком некоторых видов вирусов пшеницы, а также вируса полосатой мозаики пшеницы.



Рис. 4. Колония обыкновенной злаковый тли

Собранные образцы были исследованы в лабораторных условиях, а также был проведен ПЦР анализ данных образцов и выявлено наличие вируса полосатой мозаики на этих образцах. После поставки в лаборатории ПЦР анализа было обнаружено наличие WSMV у собранных образцов с мониторинга, визуализацию провели в системе гель-документации при УФ. Что можем наблюдать на снимке ниже.

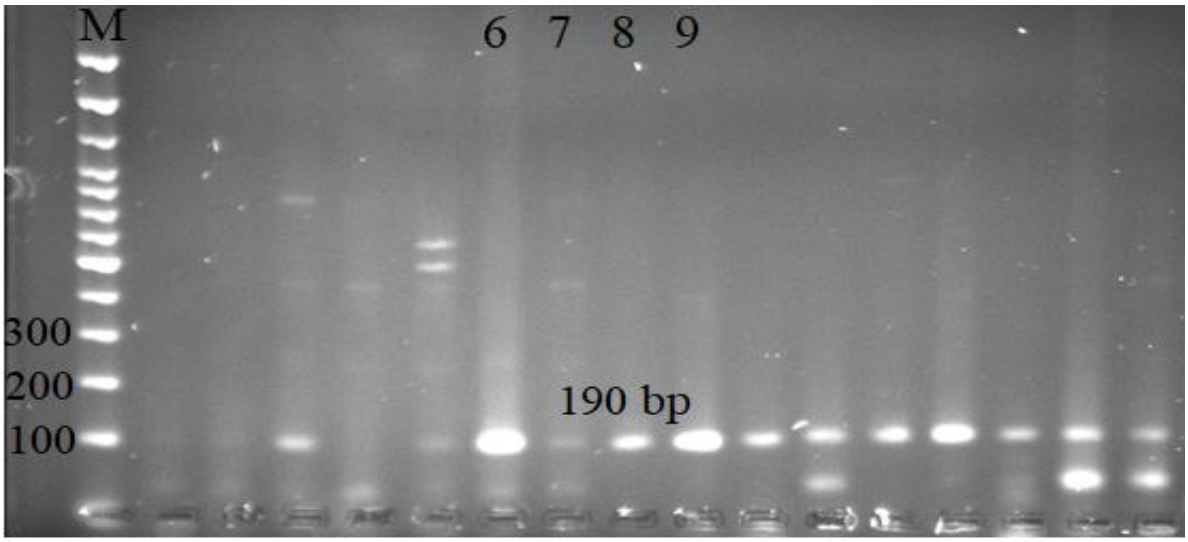


Рис.5. Результаты диагностики вирусов на сортообразцах озимой пшеницы с мониторинга с праймерами на вирус полосатой мозаики пшеницы

Как мы можем наблюдать на участках под номерами 6 и 9 проявление вируса ярко выражено что говорит нам о точном присутсвии вируса растениях пшеницы. Под номера 6 и 9 были расположены образцы собраные с полей Бостанлыкского района(Искандар) и Бостанлыксокого района(Газалкент 1)

ВЫВОД

В ходе проведённого мониторинга посевов пшеницы на территории Ташкентской области были обследованы поля на наличие визуальных симптомов вирусных заболеваний. На части растений отмечались характерные признаки, соответствующие симптомам вируса полосатой мозаики пшеницы (Wheat streak mosaic virus, WSMV), включая хлороз, мозаичность и полосчатость листьев. По результатам последующей молекулярной идентификации с использованием метода ПЦР наличие вируса полосатой мозаики пшеницы было подтверждено, что свидетельствует о циркуляции данного патогена в обследованных агроценозах региона. Полученные данные указывают на необходимость дальнейшего фитосанитарного мониторинга и разработки мер по ограничению распространения вируса.

Использованная литература

1.Atwa A. A., Ahmed Sh. S., Abd El-Aziz G. H., Abou-Zeid M. A., Omara R. I., Atwa N. A., Fahmy A. H. Leaf rust resistance in wheat and interpretation of the antifungal activity of silver and copper nanoparticles. - 2025.

2.Chenault K. D. — 1996. French R., Stenger D. C. GenBank. Accession No. AF057533. — 2003.

3.French, R., & Stenger, D. C. (2005). Plant Health Instructor Wheat streak mosaic virus 10.1094/PHI-I-2005-0317-01

4. Dubcovsky, J., & Dvorak, J. (2007). “Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication DOI 10.1126/science.1143986.

5.Hull R. Plant virology. -5th ed. -Academic Press, 2014.- 822 стр.

6.International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). -2006.

7.Kapytina A., Kolchenko M., Kerimbek N., Pozharskiy A. S., Nizamdinova G., Taskuzhina A., Adilbayeva K., Khusnitdinova M., Amidullayeva M., Moisseyev R., Kachiyeva Z., Gritsenko D. Distribution of wheat-infecting viruses and genetic variability of Wheat streak mosaic virus and Barley stripe mosaic virus in Kazakhstan, The study was published in Viruses, volume 16, issue 1, in January 2024 (DOI: 10.3390/v16010096)

8.Li D., Song X., Yang F. Global distribution, evolutionary dynamics, and origins of wheat streak mosaic virus // Frontiers in Plant Science. 2025. Vol. 16

9.Madden L. V., Wheelis M. The threat of plant pathogens as weapons against U.S. crops // Annual Review of Phytopathology. 2003. Vol. 41(1). P. 155–176.

10.McNeil M. (1996). “Wheat streak mosaic virus.” *Compendium of Wheat Diseases* (2nd ed.) 33–34.

11.Prakash V., Adhikari L., Poland J., Nouri S. Comprehensive phenotyping and genotyping of a large diverse panel of the wheat wild relative Aegilops tauschii for wheat streak mosaic virus tolerance // Frontiers in Microbiology. Front. Microbiol. , 16 января 2026 г.Раздел «Взаимодействие микробов и вирусов с растениями" Том 16 - 2025 |https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1723671

12.Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C., & Foley, J. A. (2013). “Yield Trends Are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050."10.1371/journal.pone.0066428

13.Tatineni S., Graybosch R. A., Hein G. L., Wegulo S. N., French R. Wheat cultivar-specific disease synergism and alteration of virus accumulation during co-infection with Wheat streak mosaic virus and Triticum mosaic virus // Phytopathology. 2010. 10.1094/PHYTO-100-3-0230

14.Tatineni S., Hein G. L. Plant viruses of agricultural importance: current and future perspectives of virus disease management strategies // Phytopathology. — 2023. Vol. 113. — P. 117–141.

15.Zhang W. Global pesticide use: profile, trend, cost/benefit and more // Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences. 2018. — Vol. 8. — P. 1–27.

16.Изучение распространения вируса полосатой мозаики пшеницы в Самаркандской области Махмудов Т.Х. INTERNATIONAL SCIENTIFIC JOURNAL "MODERN BIOLOGY AND GENETICS" 2024 №1 (7) ISSN: 2181-3396

17.https://agbz.ru/news/top-10-vedushchikh-stran-proizvoditeley-pshenitsy-v-21-veke/