

O'SIMLIKLARNING MOZAIKA VIRUSLI KASALLIGINI ELEKTR IMPULSI YORDAMIDA DIAGNOSTIKA QILISH

Bozorov Elmurod Ostanovich

“Toshkent irrigatsiya va qishloq xo'jaligini mexanizatsiyalash muhandislari instituti” Milliy tadqiqot universiteti. Texnologik jarayonlarni avtomatlashtirish va boshqarish kafedrası dotsenti (PhD).

E-mail: bozorovelmurod@gmail.com

Boboyorov Azizjon Eshmuminovich

Buxoro davlat texnika universiteti. Texnologik jarayonlar va ishlab chiqarishni avtomatlashtirish kafedrası assistenti,

E-mail: boboyorovazizbek440@gmail.com

Annotatsiya. Ushbu maqolada o'simlik viruslari butun dunyo bo'ylab ekinlarni yo'qotish va yuqori iqtisodiy xarajatlarni keltirib chiqaradigan asosiy omillardir. O'simliklarning virusli kasalliklariga qarshi kurash strategiyalarini ishlab chiqish uchun ishonchli va erta aniqlash usullari talab qilinadi. Tamaki mozaikasi virusi (TMV) bugungi kunda eng ko'p o'rganilgan viruslardan biridir. U keng tarqalgan bo'lib, tamaki, pomidor, bolgar qalampiri va Solanaceae oilasining boshqa a'zolarini[1], shuningdek, 30 ga yaqin oilalardagi o'simliklarni yuqtiradi, sutemizuvchilar uchun esa zararsizdir.

Kalit so'zlar: pomidor o'simligi, mozaika virusli kasalligi, elektr impedans spektroskopiyasi, elektr impuls, sensorlar, elektrolitlar, ZP o'lchovi, zarracha analizatori.

Аннотация. В данной статье вирусы растений рассматриваются как основные факторы, вызывающие потери урожая и высокие экономические издержки во всем мире. Для разработки стратегий борьбы с вирусными заболеваниями растений необходимы надежные и ранние методы выявления. Вирус табачной мозаики (ВТМ) — один из наиболее изученных вирусов на сегодняшний день. Он широко распространен, поражая табак, томат, болгарский перец и другие растения семейства пасленовых[1], а также растения примерно 30 других семейств, и безвреден для млекопитающих.

Ключевые слова: томат, вирусная мозаика, электроимпедансная спектроскопия, электрический импульс, датчики, электролиты, измерение нулевой плотности заряда (ZP), анализатор частиц.

Abstract. In this article, plant viruses are the main factors causing crop losses and high economic costs worldwide. Reliable and early detection methods are required to develop strategies to control plant viral diseases. Tobacco mosaic virus (TMV) is one of the most widely studied viruses today. It is widespread, infecting tobacco, tomato,

bell pepper and other members of the Solanaceae family[1], as well as plants from about 30 other families, and is harmless to mammals.

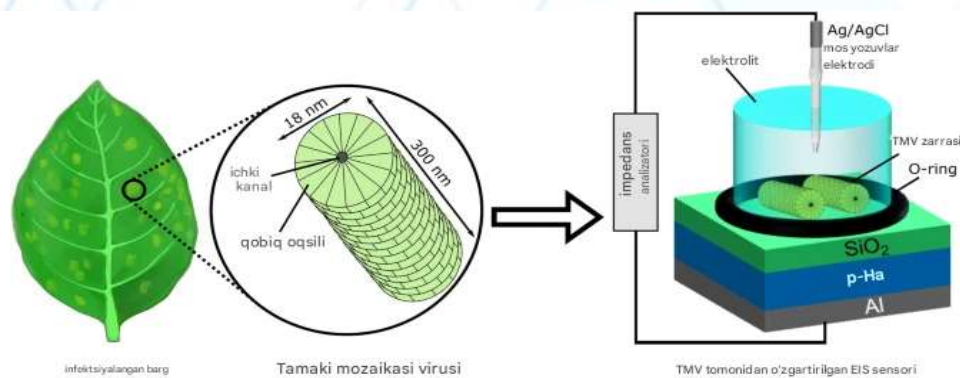
Keywords: *tomato plant, mosaic virus disease, electrical impedance spectroscopy, electrical impulse, sensors, electrolytes, ZP measurement, particle analyzer.*

Kirish. Hozirda bizning kundalik muhitimizda viruslarni sezadigan texnologiya mavjud emas. Mavjud virusni aniqlash usullari infektsiyalangan shaxslarga tashxis qo'yishga qaratilgan bo'lib, ularni uchta asosiy guruhga ajratish mumkin: (1) genomik ma'lumotlardan foydalanadigan va polimeraza zanjiri reaksiyasi va metagenomik tahlilga asoslangan; (2) antikorlar, shakar zanjirlari va peptid aptamerlari kabi birikmalarning molekulyar tanib olish yoki retseptorlarini bog'lash funktsiyalaridan foydalanadiganlar; (3) viruslarning elektr yoki optik xususiyatlariga asoslanganlar. Elektr impedans spektroskopiyasi (EIS) yoki boshqa elektr o'lchov usullari o'simlik to'qimalarining fiziologik o'zgarishlarini aniqlashda, shu jumladan virusli kasalliklarni erta aniqlashda qo'llaniladi[1, 2, 3, 4]. EIS o'simlik barglari yoki poyalaridagi elektr qarshiligini o'lchaydi. Virusli infektsiyalar hujayra membranalarining o'tkazuvchanligini o'zgartiradi, bu impedans qiymatlarida ifodalanadi. Masalan, pomidor barglarida hujayra devorlari va membranalarining zararlanishiga olib keladi, bu elektr o'tkazuvchanlikni oshiradi. Pomidor barglariga elektrodlar joylashtirilib, turli chastotalarda (masalan, 1 Hz dan 1 MHz gacha) elektr impulslari yuboriladi. Infektsiyalangan barglar sog'lom barglarga nisbatan boshqacha impedans ko'rsatadi. Pomidor barglariga kichik elektrodlar yoki sensorlar joylashtirilib, EIS uskunalari bilan o'lchovlar olinadi. Bu usul issiqxonalarda yoki laboratoriyalarda sinovdan o'tkaziladi. Masalan, portativ EIS qurilmalari yordamida real vaqtda diagnostika mumkin. O'simliklarning mozaika kasalligi (odatda, virusli, masalan, Tobacco Mosaic Virus - TMV yoki Tomato Mosaic Virus - ToMV sababli)ni elektr impulsi yordamida diagnostika qilish bo'yicha tadqiqotlar mavjud, ammo bu soha hali rivojlanmoqda va asosan laboratoriya bosqichida. TMV zarrachalari nanotubasimon tuzilishga ega (uzunligi: 300 nm, tashqi diametri: 18 nm, ichki kanali: 4 nm). Har bir TMV nanotubkasi 2130 spiral usulda joylashtirilgan bir xil qobiq oqsili bo'linmalari orasiga o'rnatilgan bir zanjirli DNKdan iborat. Elektr impulsi (masalan, elektr impedans spektroskopiyasi - EIS yoki mikrofluidik impedans sensorlari) o'simlik to'qimalaridagi elektr qarshiligini o'lchash orqali virusli infektsiyalami erta aniqlashga yordam beradi[5, 6]. Virus hujayra membranalarining o'tkazuvchanligini o'zgartiradi, bu impedans qiymatlarida aks etadi. Quyida ushbu usulning pomidor yoki tamaki mozaika virusini (TMV/ToMV) diagnostika qilishdagi qo'llanilishi ilmiy tadqiqotlardan olingan. TMVni aniqlashga misol sifatida sirt plazmon rezonansi (SPR) va kvarts-kristal mikrobans (QCM) ga asoslangan biosensorlar kiritildi. Ushbu sensorlar molekulyar bosilgan polimerlarga tayanadi, chunki retseptor qatlami aniqlanadigan nanozarrachalarning geometrik tuzilishiga

taqlid qiladi. Bunga bilan, dala effektli va bioelektronik qurilmalar zaryadga sezgir qurilmalar sifatida bunday zarrachalarni to'g'ridan-to'g'ri, yorliqsiz elektr monitoringini ta'minlaydi; birinchi navbatda, ular ko'plab kimyoviy sensorlar va biosensornlarni ishlab chiqish uchun keng qo'llanilgan[1, 2, 3, 4].

Materiallar va usullar. Model o'simlik virusi zarralari shaklida biz genetik jihatdan modifikatsiyalangan TMV variantidan har bir qatlam oqsilida sistein qoldig'i bilan foydalanamiz sensor yuzasida fermentlarni yuqori zichlikdagi immobilizatsiya qilish uchun nano-iskela vazifasini bajaradi. Ikki funktsiyali maleimid-polietilenglikol-biotin birikmalari ushbu sistemaning joylarining guruhlari bilan kovalent bog'langan. 10 nm natriy-kaliy-fosfat tamponidagi 125 nm (5 mg / ml) konsentratsiyali TMV eritmasi °C. o'lchovlari uchun TMV stok eritmasi 10 nm SPP (15 mm ion kuchi) bilan 0,1 mg / ml (2,5 nM) konsentratsiyasiga suyultiriladi titrlash orqali pH 7 va pH 3 orasidagi turli pH qiymatlariga o'rnatiladi. TMV yuklash eksperimentlari uchun TMV eritmasini pH 7 va 0,15nm ion kuchi bilan suyultirish orqali har xil konsentratsiyali TMV eritmalari tayyorlanadi[4, 5, 6].

EIS sensorlari eshik izolyatori/yechim interfeysida yuzaga keladigan har qanday potentsial o'zgarishlarga sezgir sanaldi. P-tipli yarimo'tkazgichda, ushbu tadqiqotda qo'llanilganidek, manfiy zaryadlangan zarrachalarning, masalan, TMV zarrachalarining adsorbsiyasi yarimo'tkazgichdagi kosmik zaryad hududining kengligini kamaytiradi, bunda sensor tuzilishining umumiy sig'imi ortadi. Kapasitans-kuchlanish (C-V) rejimida EIS sensorlarining xarakteristikasi bilan, bu o'lchov egri chizig'ining ko'proq ijobiy (yoki kamroq salbiy) kuchlanishlarga siljishiga olib keladi. Ushbu tadqiqotda qo'llaniladigan ConCap o'lchash rejimida C-V egri chizig'ining kamayish mintaqasidagi sig'im (odatda maksimal sig'imning ~ 60%) mos yozuvlar elektrodga ishorali teskari kuchlanishni qo'llash orqali doimiy ravishda o'rnatiladi va shu bilan TMV zarralarining adsorbsiyasi natijasida hosil bo'lgan eshik yuzasidagi potentsial o'zgarishlarni qoplaydi[9]. Shunday qilib, EIS sensori javobi (chiqish signali) vaqt o'tishi bilan dinamik tarzda qayd etiladi. Taqdim etilgan dala effekti sensori TMV zarralarini ichki zaryadiga ko'ra aniqlaganligi sababli, elektrolit eritmalarining ion kuchi muhim parametrdir[8]. Virus zarralarining zaryadi qisman teskari ionlar tomonidan tekshirilishi mumkin. Shunday qilib, eritmaning ion kuchi sensorning harakatiga ta'sir qiladi va TMV adsorbsiyasiga ham ta'sir qilishi mumkin. Shu bois, ushbu tadqiqotda ishlatiladigan barcha elektrolit eritmalari uchun konsentratsiya va ion kuchi ko'rsatilgan. SiO₂ EIS datchiklari bilan TMV zarralarini aniqlash uchun EIS chiplari 1- rasmda ko'rsatilganidek, uy qurilishi o'lchov kamerasiga o'rnatilgan va O-ring bilan muhrlangan. Shunday qilib, elektrokimyoviy o'lchovlar paytida TMV adsorbsiyasi va elektrolitlar eritmasi bilan aloqa qilish uchun SiO₂ eshik yuzasining 0,5sm² qismiga kirish mumkin edi. Yo'naltiruvchi elektrod o'lchov eritmasiga botirildi va impedans analizatoriga ulashdi. Al-orqa tomon aloqasini impedans analizatoriga ulash orqali, elektr zanjiri yopildi[4, 10].

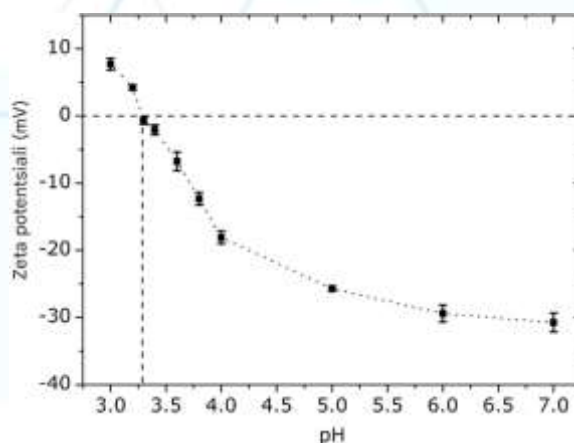


1-rasm. Mozaikaga o'xshash naqshli TMV bilan zararlangan barg sxemasi.

Chapda muntazam ravishda buyurtma qilingan qobiq oqsillari bilan TMV nanotubkasining eskizi markazda joylashgan. TMV bilan o'zgartirilgan EIS datchigi p-dopinglangan kremniy, SiO_2 eshik izolyatori va alyuminiy orqa tomon kontakti o'ngda bilan sxematik o'lchov sozlamalari mavjud[6].

Tadqiqot natijalari va muhokamasi. pH qiymatiga qarab EIS sensori zarracha zaryadining belgisini taqdim etadi. Shu tariqa, zaryadlangan TMV zarralarining eshik yuzasiga adsorbsiyasi tufayli yuzaga keladigan signal o'zgarishining bashorat qilingan yo'nalishini aniqlash mumkin. Mahalliy TMV ning pI (shtamm o'lchami) taxminan pH 3,5 deb belgilangan: TMV zarralari 3,5 dan yuqori pH qiymatlarida manfiy zaryadlanadi va 3,5 dan past pH qiymatlarida musbat zaryadlanadi. Bizning mavjud bilimlarimizga ko'ra, adabiyotda biotinlangan TMV zarralarining pI haqida hech qanday ma'lumot mavjud emas. Shuning uchun ushbu tadqiqot davomida tahlil qilindi. PI ni aniqlash uchun tanlangan aniq usul sifatida ZP o'lchovi qabul qilindi. ZP harakatsiz va mobil qatlamlar orasidagi sirpanish tekisligidagi elektr potensialini ko'rsatadi, bu elektr ikki qatlam nazariyasi bilan belgilanadi. Ushbu ishda ZP tahlili Litesizer 500TM zarracha analizatori dinamik yorug'lik tarqalishi usuli (DLS) bilan bajarildi. ZP pH 3 va pH 7 orasidagi turli pH qiymatlari uchun 660 nm lazer to'lqin uzunligida tekshirildi. Har bir pH qiymati uchun 25 °C da uchta individual o'lchov o'tkazildi[8].

ZP o'lchovlari uchun biotinlangan TMV zarralari 2,5 nM TMV konsentratsiyasi bilan 10 mM SPP buferida eritildi. ZP pH 3 va pH 7 o'rtasidagi turli pH qiymatlarida o'lchandi. 2- rasmda o'zgaruvchan pH qiymatlari bilan uchta individual o'lchovning o'rtacha ZP qiymatlari keltirilgan. PH 3 da eng past qiymat uchun ZP 7,7 mV edi, pH 7 uchun esa -30,7 mV ga yetdi. E'tibor bering, pI o'lchangan ZP ning 0 mV o'qi bilan kesishish nuqtasi bilan belgilanadi[7].



2- rasm. O'zgaruvchan pH qiymatlari

PH 3 va pH 7 orasida turli pH qiymatlarida biotinlangan TMV ZP. O'lchovlar 25 °C da 2,5 nM TMV bilan amalga oshirildi.

Xulosa

O'simlik to'qimalarining elektr o'tkazuvchanligi ularning sog'lig'i va fiziologik holatiga bog'liq. Nazariy jihatdan, virus bilan zararlangan o'simlik hujayralari sog'lom hujayralardan farqli ravishda elektr impulsiga boshqacha reaksiyaga kirishadi. Bu farqni o'lchash orqali kasallikni aniqlash mumkinligi taxmin qilinadi. Shu jihatdan TMV bilan o'zgartirilgan EIS sensori laboratoriyalarda juda aniqlik bilan qo'llaniladi. EIS sensori biologik yoki kimyoviy jarayonlarni elektr impedansining o'zgarishi orqali o'lchaydigan kuchli vositadir.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Н.Т.Тошпулатов., Э.О.Бозоров., А.Х.Вахобов. изучение воздействия высоковольтных электрических импульсных разрядов на вирус табачной мозаики (ВТМ). Узбекский журнал проблемы информатики и энергетики. №1, 2001 г
2. E. O. Bozorov, Nematodaga qarshi elektro impulsli ishlov berish. Texnika fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi, Toshkent (2019).
3. Н.Т. Тошпулатов, Э.О. Бозоров, Способ электроимпульсной обработки растений, Патент IAP 0429 02.04.2003.
4. Jablonski M, Poghossian A, Severins R, Keusgen M, Wege C, Schöning MJ. Capacitive field-effect biosensor studying adsorption of tobacco mosaic virus particles. *Micromachines*. 2021;12:57. <https://doi.org/10.3390/mi12010057>. <https://journals.researchparks.org/index.php/IJIE>
5. Melanie Jablonski., Arshak Poghossian., Michael Keusgen., Christina Wege., Michael J. Schöning. Detection of plant virus particles with a capacitive field-effect sensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2021) 413:5669–5678. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03448-8> / Published online: 9 July 2021.

6. Islom W, Qosim M, Ali N, Tayyab M, Chen S, Vang L. Tabiiy metabolitlar orqali tamaki mozaikasi virusini boshqarish. Tavsiya. Nat. Prod. 2018;12:403–415. <https://doi.org/10.25135/rnp.49.17.10.178>.
7. Fan XZ, Naves L, Siwak NP, Brown A, Culver J, Ghodssi R. Integration of genetically modified virus-like-particles with an optical resonator for selective bio-detection. Nanotechnology 2015;26:205501. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/26/20/205501>.
8. Alonso JM, Gorzniy ML, Bittner AM. Tamaki mozaikasi virusi va biotexnologiyada virusga asoslangan qurilmalar fizikasi. Trends Biotexnol. 2013;31:530–538. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.05.013>
9. Greben K, Li P, Mayer D, Offenhäusser A, Wördenweber R. Immobilization and surface functionalization of gold nanoparticles monitored via streaming current/potential measurements. J. Phys. Chem. B. 2015;119:5988–5994. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02615>.
10. Lowe BM, Sun K, Zeimpekis I, Skylaris C-K, Green NG. Field-effect sensors - from pH sensing to biosensing: sensitivity enhancement using streptavidin-biotin as a model system. Analyst 2017;142:4173–4200. <https://doi.org/10.1039/C7AN00455A>.