

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
BOTANİKA İNSTİTUTU**

Əlyazması hüququnda

SƏMRA TAHİR qızı MİRZƏYEVA

**AZƏRBAYCANDA TOMAT (*Solanum lycopersicum* L.)
BİTKİSİNİ YOLUXDURAN VİRUSLARIN DİAQNOSTİKASI,
İDENTİFİKASİYASI VƏ PATOGENEVLƏ İNDUKSİYA
OLUNAN DƏYİŞİKLİKLƏRİN TƏDQIQI**

2415.01– “Molekulyar biologiya”

**Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın**

A V T O R E F E R A T I

Bakı – 2018

Dissertasiya işi Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutunun Bioadaptasiya laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

- Elmi rəhbər:** Akademik **İradə Məmməd qızı Hüseynova**
- Rəsmi opponentlər:** Professor **Filiz Ertunç (Ankara Universiteti, Türkiyə)**
Biologiya üzrə elmlər doktoru, AMEA-nın professoru **Dilzərə Nadir qızı Ağayeva**
- Aparıcı təşkilat:** **AMEA Mikrobiologiya İnstitutunun Mikrobioloji biotexnologiya laboratoriyası**

Dissertasiya işinin müdafiəsi 29 iyun 2018-ci il tarixində saat 13⁰⁰-da AMEA Botanika İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən D.01.061 Birləşdirilmiş Dissertasiya Şurasının yığıncağında keçiriləcəkdir.

Ünvan: Bakı şəhəri, AZ1073, Mətbuat pros., 2A

Dissertasiya ilə AMEA Botanika İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq olar.

Avtoreferat 29 may 2018-ci il tarixində göndərilmişdir.

D.01.061 Birləşdirilmiş Dissertasiya Şurasının elmi katibi, biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent

X.C.Xəlilova

İŞİN ÜMUMİ XARAKTERİSTİKASI

Mövzunun aktuallığı. Müasir dövrdə virus və bakteriya xəstəliklərinin sürətlə artması ərzaq təhlükəsizliyinin təmin olunmasına ciddi problem yaradır [Bai et al., 2018]. Bitkilərdə, xüsusilə də kənd təsərrüfatı əhəmiyyətli bitkilərdə xəstəlik törədən viruslar çox təhlükəli olub, ciddi iqtisadi itkilərə səbəb olurlar [Yuan et al., 2016]. Virus xəstəliklərinin vaxtında qarşısının alınması üçün patogenlərin diaqnostikası, identifikasiyası, əkin materiallarının sertifikatlaşdırılması mühüm əhəmiyyət kəsb edir. Bu səbəbdən, bitkilərin patogenlərdən müdafiəsi iqtisadi cəhətdən əhəmiyyətli problem olmaqla yanaşı, həm də müasir elmi tədqiqatların prioritet istiqamətlərindən biridir. Respublikamızda əhalinin ərzaq məhsullarına olan tələbatının ödənilməsində tomat bitkisinin xüsusi əhəmiyyəti vardır. Əhalini ekoloji cəhətdən təmiz kənd təsərrüfatı məhsulları ilə təmin etmək məsələsi daim dövlətimizin diqqət mərkəzində olmuş və dövlət proqramlarında öz əksini tapmışdır.

Son illərdə əkin materiallarının beynəlxalq mübadiləsi virus xəstəliklərinin geniş regionlara yayılmasına səbəb olmuşdur. Virus xəstəliklərinə həssas olan tomat bitkisi üçün bu getdikcə daha da təhlükəli olmağa başlayır [Hanssen et al., 2012]. Belə ki, müxtəlif DNT və RNT genomlu virusların tomat bitkisinə vurduğu iqtisadi ziyan hər il daha da artır və milyon manatlarla hesablanır. Hazırda dünyada becərilən bitkilərin əksəriyyəti virus xəstəliklərinə yoluxur və məhsuldarlıq 25-30%-ə qədər azalır. Güclü yoluxma zamanı isə məhsul itkisinin daha yüksək olduğu hallar məlumdur. Bu baxımdan, tomat bitkisinin virus xəstəliklərinin öyrənilməsi və onlara qarşı profilaktik tədbirlərin görülməsi çox əhəmiyyətlidir. Viruslar tərəfindən törədilən xəstəliklərə qarşı integrativ mübarizə üsullarının seçilməsi bu patogenlərin ilkin diaqnostikasını, taksonomik səciyyələndirilməsini, patogen-sahib bitki spektrinin və həşərat vektorlarının identifikasiyasını tələb edir [Xu et al., 2017].

Tomat bitkisi qida sənayesində istifadə olunan əsas tərəvəz kulturası hesab edilir [Hanssen et al., 2010]. Bütün dünyada tomat bitkisinin məhsuldarlığına mənfi təsir göstərən xəstəliklər arasında viruslar (~60 qədər) tərəfindən törədilən virozlar iqtisadi cəhətdən olduqca təhlükəli problem hesab edilir [Blancad, 2012]. Viruslar obliqat parazitlər olaraq bitkinin metabolizminə mənfi təsir göstərməklə bir sıra əsas fizioloji proseslərin pozulmasına səbəb olur. Nəticədə

bitkinin məhsuldarlığı ilə yanaşı, həm də məhsulun keyfiyyəti də aşağı düşür [Bradley et al., 2012].

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri. Tədqiqat işinin əsas məqsədi - Azərbaycanın müxtəlif bölgələrində sahə şəraitində və istixanalarda becərilən tomat (*Solanum lycopersicum* L.) bitkisini yoluxduran virus xəstəliklərinin seroloji və molekulyar metodlarla diaqnostikası, patogenlərin növ səviyyəsində taksonomik identifikasiyası və patogenez zamanı bitkilərdə baş verən dəyişikliklərin araşdırılmasından ibarət olmuşdur.

Bu məqsədlə qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

- Azərbaycanın müxtəlif bölgələrində virus xəstəliklərinin aşkar edilməsi məqsədilə mütəmadi monitorinqlərin aparılması və simptomatik əlamətlərə görə xəstə bitkilərin seçilərək toplanması;
- Toplanmış bitki nümunələrindən total DNT və RNT-nin ayrılması, onların miqdarının və təmizlik dərəcəsinin spektrofotometrik metodla təyin edilməsi;
- Bitki nümunələrində virus xəstəliklərini qısa müddət ərzində analiz etməyə imkan verən spesifik immunostriplərdən (test-zolaqlardan) istifadə etməklə ilkin diaqnostikanın aparılması;
- Spesifik anticisimlərdən istifadə etməklə immunoferment - İFA test sistemi (ELİSA) vasitəsilə virusların seroloji diaqnostikasının həyata keçirilməsi;
- Tomat bitkisini yoluxduran RNT-genomlu virusların RT-PZR və PZR metodlarla identifikasiya edilməsi;
- Tomat bitkisini yoluxduran DNT-genomlu virusların PZR və sekvens analiz metodları ilə identifikasiyası;
- Azərbaycanda tərəvəzçiliyin inkişaf etdiyi əsas regionlarda tomat bitkisinin virus xəstəliklərinin fitopatoloji və statistik təhlilinin aparılması;
- Patogenez zamanı stresin əsas indikatoru olan H_2O_2 və qlisinbetainin təyini;
- Virusla yoluxmuş tomat yarpaqlarında fotosintetik piqmentlərin, xloroplastların fotokimyəvi fəallığının və tilakoid membranı zülallarının analizi;
- Virus infeksiyasına məruz qalmış tomat yarpaqlarında peroksidaza fermentlərinin aktivliyinin və izoenzim tərkibinin təyini.

İşin elmi yeniliyi. Dissertasiya işi Azərbaycanda tomat bitkisi viruslarının öyrənilməsinə həsr edilmiş ilk kompleks tədqiqat işidir. İlk dəfə olaraq, Azərbaycanın tərəvəz becərilən əsas bölgələrində həm açıq,

həm də örtülü-istixana şəraitində becərilən tomat bitkisi nümunələrində immunoferment analiz-İFA (immunostrip, DAS-ELİSA, TAS-ELİSA) test sistemlərinin və molekulyar metodların (RT-PZR, PZR) köməyi ilə RNT (*ToMV*, *TMV*, *PMMoV*, *ToCV*, *TRSV*, *CMV*, *TEV*, *TSWV*, *PepMV*, *TBSV*), DNT (*TYLCV*) genomlu viruslar və *Tobamovirus* infeksiyalarının qarışıq formaları aşkar edilmişdir. Tomat bitkisinde virus xəstəliklərinin müqayisəli fitopatoloji və statistik təhlili həyata keçirilmişdir.

İlk dəfə olaraq, *Reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PZR) metodundan istifadə etməklə, Azərbaycanda tomat bitkisini yoluxduran RNT genomlu virusların molekulyar identifikasiyası həyata keçirilmişdir. A- DNT genomu üçün spesifik praymerlər ilə aparılan PZR məhsullarının sekvens analizi nəticəsində ilk dəfə olaraq, Abşerondan götürülən tomat nümunələrinin *Tomato yellow leaf curl virus* (*TYLCV*) növü ilə yoluxduğu müəyyən olunmuşdur. Azərbaycanda aşkar olunmuş *TYLCV* izolyatının 2783 n.c. uzunluğunda genomu sekvens edilərək, *KY412552* qeydiyyat nömrəsi altında GenBank-a yerləşdirilmişdir.

İlk dəfə olaraq, tobamoviruslarla yoluxmuş tomat bitkisinde antioksidant müdafiə sistemi və fotosintetik aparatda baş verən dəyişikliklər tədqiq edilmişdir. Patogenezin biokimyəvi markeri sayılan peroksidaza fermentlərinin fəallığının artması və *PMMoV* virusu ilə yoluxma zamanı bu artımın daha yüksək olması müəyyən edilmişdir. Virusla yoluxmuş tomat nümunələrində askorbatperoksidaza fermentinin 1, benzidinperoksidaza və qvayakol-peroksidaza fermentlərinin isə 2 yeni izoformasının induksiya olunması aşkar edilmişdir. Virus infeksiyası zamanı tomat yarpaqlarında 2-ci fotosistemin (FS II) fotokimyəvi effektivliyinin və onun tərkibinə daxil olan 47, 33, 29-24 və 17-15 kDa zülalların sintezinin əhəmiyyətli dərəcədə azalması müəyyən edilmişdir.

İşin praktiki əhəmiyyəti. Dissertasiyada ilk dəfə olaraq, Azərbaycanın bütün bölgələrində tomat bitkisinde virus xəstəliklərinin monitorinqi aparılmış, onların ilkin diaqnostika və identifikasiya metodları işlənilib hazırlanmışdır. Məlumdur ki, tomat bitkisi ölkəmizdə kənd təsərrüfatı bitkiləri arasında istehsal və istehlak səviyyəsinə görə ilkin yerlərdən birini tutur. Buna görə də tomat bitkisi viruslarının vaxtında aşkarlanması və müvafiq tədbirlərin görülməsi olduqca önəmlidir. Ən son statistik məlumatlara görə, virus epidemiyası yayılmış tomat bitkisi plantasiyalarında məhsul itkisi ~90%-ə çata bilər.

Tədqiqat zamanı əldə olunan məlumatlar müxtəlif tomat sortlarının

virus xəstəliklərinə qarşı genetik potensialının qiymətləndirilməsində, eyni zamanda, biotexnologiya və seleksiya sahələrində xəstəliyə davamlı bitki sortlarının yaradılmasında mühüm praktiki əhəmiyyətə malikdir. Alınan nəticələr bitki xəstəliklərinin tədqiqi istiqamətində mövcud elektron məlumat bazasının zənginləşməsinə də imkan yaradacaqdır. Aparılan tədqiqatların nəticələri əsasında kənd təsərrüfatı işçiləri və fermerlər üçün tövsiyələr işlənib hazırlanmışdır ki, bu da xəstəliklərin vaxtında qarşısının alınmasına kömək edəcəkdir.

İşin aprobasiyası. Dissertasiya işinin əsas nəticələri Ulu öndər Heydər Əliyevin anadan olmasının 92-ci ildönümünə həsr olunmuş Gənc alimlərin və tədqiqatçıların "Müasir Biologiyanın İnnovasiya Problemləri" mövzusunda V Beynəlxalq elmi konfransında (Bakı, 2015), II International Plant Breeding Congress and Eucarpia-Oil and Protein Crops Section Conference (Antalya, 2015), IV International Scientific Conference of Young Researchers dedicated to the 93rd Anniversary of the National Leader of Azerbaijan (Baku, 2016), 13 th International Plant Virus Epidemiology Symposium (Avignon 2016), International Conference "Innovative Approaches to Conservation of Biodiversity" (Baku 2016), II Azərbaycan Elm Festivalında (Bakı, 2016), həmçinin AMEA Botanika və Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar institutlarının laboratoriya və elmi seminarlarında təqdim edilərək müzakirə olunmuşdur. Tədqiqat işi üzrə təqdim edilən layihə Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun Gənc alim və mütəxəssislərin 3-cü qrant müsabiqəsinin (EIF/GAM-3-2014-6(21)-24/15/3-M-16) qalibi olmuşdur.

İşin nəşri. Dissertasiya materialları üzrə yerli və xarici nəşrlərdə 12 elmi əsər çap olunmuşdur.

Dissertasiyanın quruluşu və həcmi. Dissertasiya işi giriş, 5 fəsil, ümumi yekun, nəticələr və 275 sayda ədəbiyyat siyahısından ibarətdir. Dissertasiya işi 42 şəkil və 26 cədvəl daxil olmaqla, 165 səhifədən ibarətdir.

I FƏSİL. ƏDƏBİYYAT İCMALI

Girişdə işin ümumi xarakteristikası verilmişdir: mövzu əsaslandırılmış, işin aktuallığı müzakirə edilmiş, tədqiqatın məqsəd və vəzifələri, alınan nəticələrin elmi yeniliyi və elmi-praktiki əhəmiyyəti göstərilmişdir.

Ədəbiyyat xülasəsi özündə bitki virusları haqqında geniş məlumatları əhatə edir. Bu fəsildə fitopatogen virus infeksiyalarının

simptomatik əlamətləri, yayılma arealları, sahib-patogen münasibətləri və həşərat vektorları müasir ədəbiyyat məlumatları ilə əlaqəli şəkildə geniş analiz edilmiş, patogeneza zamanı bitkilərdə baş verən morfofizioloji, biofiziki və biokimyəvi dəyişikliklər, viruslara qarşı mübarizə üsulları ətrafı araşdırılmışdır.

II FƏSİL. TƏDQIQATIN MATERIAL VƏ METODLARI

Tədqiqat işində Azərbaycanda açıq sahələrdə və istixana şəraitində becərilən tomat bitkisinin (*Solanum lycopersicum* L.) geniş əkildiyi rayonlarda yerli tomat sortlarından, hibrid və yabanı bitkilərdən, həmçinin introduksiya olunmuş tomat sortlarından istifadə olunmuşdur. Tədqiqat obyektini kimi, 2015-2017-ci illərdə müxtəlif bölgələrdən toplanmış *Panda OR74*, *Berberena*, *Arlette*, *Melodiya*, *Noviçok*, *Titan*, *Danes*, *Sultan*, *Zəfər*, *İlkin*, *Leyla*, *Bolqar*, *Hollandiya*, *Lajen*, *22-74*, *Ralli F1*, *Vətən*, *Zərrabi* tomat sortlarının virusla yoluxduğu güman edilən nümunələri və nəzarət variantı kimi identik şəraitdə becərilən sağlam bitkilər götürülmüşdür.

Vizual diaqnostika virus xəstəliyinin müşahidə edilən əsas potensial-patoloji əlamətlərinə görə həyata keçirilmişdir. Toplanmış müxtəlif tomat nümunələri spesifik test-zolaqlardan - *ToMV*, *TMV*, *PMMoV*, *CMV*, *TSWV*, *PepMV* (*Agristrip*, *Bioreba Inc.*, *France*) istifadə etməklə müasir seroloji metod olan immunoxromatoqrafik diaqnostik test-sistemin köməyi ilə yoxlanılmışdır. Virusların ilkin diaqnostikası məqsədilə immunoferment analiz (*İFA*) metodu hazır reaktiv dəstlərindən istifadə etməklə: *DAS-ELISA-TMV*, *ToMV*, *CMV*, *ToCV*, *TBSV* və *TAS-ELISA-TSWV*, *TYLCV*, *ToRSV* (*DSMZ*, *Germany*) həyata keçirilmişdir. RNT-nin ekstraksiyası *TRİ-Reagent* metodundan istifadə etməklə aparılmışdır. Tomat bitkisinin *DNT* genomlu virus xəstəliklərini identifikasiya etmək məqsədilə, müvafiq simptomlu xəstə tomat bitkisi nümunələrindən *CTAB* metodu ilə total *DNT* ekstraksiya edilmişdir. Nuklein turşularının təmizlik dərəcəsi və qatılığı 260 və 280 nm-də optik sıxlıqlar arasındakı nisbətə (*OS 260/OS 280*) əsasən təyin edilmişdir (*EpochBioTek*, *USA*).

RNT genomlu virusları identifikasiya etməyə imkan verən, müxtəlif universal (*Tobamo-1\Tobamo-2*, *S1 UNIVF\S2 UNIVR*) və spesifik (*CMV1\CMV2*, *TMV2\TMV1*, *ToMV-6\ToMV-5*, *L1 TSWV R\L2 TSWV F*, *TEV-Poly2_F\TEV-Poly2_R*, *MA380\MA381*, *P3\M4*, *AMV1-F\AMV1-R*, *TRSV F\TRSV R*) praymer cütlərindən (*Eurobio*, *ABCys*, *France*) istifadə etməklə *RT-PZR* həyata keçirilmişdir. Daha sonra isə *kDNT* nümunələri *PZR* reaksiyası ilə dəfələrlə amplifikasiya edilərək,

virus genomu çoxaldılmışdır. PZR məhsulları 1,5%-li agarozda gelində ayrılmış və etidium bromiddən (EB) istifadə etməklə Gel Documentation (*Uvitec, England*) aparatının vasitəsilə vizualizasiya edilmiş və sənədləşdirilmişdir. Eyni zamanda, DNT genomlu virusları identifikasiya etmək məqsədilə spesifik (*MA17F\MA27R, BCTV-C1 2097F\BCTV-C1 2387R, MA 13F\MA 26R, OTYA3F\OTYA6R, TY-1\TY-2*) praymer cütlərindən (*Eurobio, ABCys, France*) istifadə etməklə PZR həyata keçirilmişdir. PZR reaksiyasının nəticəsi 1%-li agarozda gelində etidium bromiddən istifadə etməklə vizualizasiya edilmiş və sənədləşdirilmişdir. Marker kimi *2-Log DNA Ladder* (New England, Biolabs, Inc.) istifadə edilmişdir. Aşkarlanmış geminiviruslar sekvens analizi vasitəsilə növ səviyyəsində identifikasiya edilmişdir.

Tomat yarpaqlarında quru biokütlənin miqdarı yarpaq nümunələri sabit çəkiyə gələnə qədər termostatda $103 \pm 2^\circ\text{C}$ temperaturda saxlamaqla təyin edilmişdir. Yarpaqların nisbi su tutumu (NST) Koçevaya [2013] əsasən hesablanmışdır.

Peroksidaza fermentlərinin aktivliyinin kəmiyyət dəyişmələri spektrofotometrik metodla [Mahalingam et al., 2005; Gechev et al., 2002; Nakano and Asada, 1981], keyfiyyət dəyişmələri isə nativ poliakrilamid gelində (PAAG) Devis metodu ilə (Davis, 1964) elektroforetik yolla öyrənilmişdir. Elektroforez 4°C temperaturda 3 saat ərzində 30 mA sabit cərəyanda aparılmışdır.

Xloroplastların tilakoid membranlarının zülal tərkibi 0.1% SDS iştirakı ilə yüksək ayırıcılıq qabiliyyətinə malik qradient (10-25%) elektroforez üsulu ilə poliakrilamid gelində Lemmlı metodu (1970) ilə öyrənilmişdir. Zülalların miqdarı Sedmak [Sedmak et al., 1977], molekül kütlələri isə UVITEC Gel Documentation Analysis System (Cambridge, UK) kompüter programının köməyi ilə təyin edilmişdir. Analizlərdə "Sigma" firmasından alınmış zülal-marker dəstindən istifadə edilmişdir.

Fotosintetik pıqmentlərin miqdarı Sims və Gammon [2002], hidrogen-peroksidin miqdarı Bellincampi [Bellincampi et al., 2000] metodlarına əsasən spektrofotometrik üsulla təyin edilmişdir. Xlorofilin stabillik indeksini müəyyənləşdirmək üçün Sairam və həmmüəlliflərinin təklif etdiyi üsuldən istifadə olunmuş və aşağıdakı kimi hesablanmışdır: $XSI = (\text{Stressə məruz qalmış xlorofillərin cəmi} / \text{sağlam bitkinin xlorofillərinin cəmi}) \times 100$ [Sairam et al., 1997]. Qlisin-betainin miqdarı spektrofotometrik yolla 360 nm dalğa uzunluğunda betainin aşağı temperaturda turş mühitdə yod ilə betain-yod kompleksi əmələ

gətirməsinə əsasən müəyyən edilmişdir (Grieve and Grattan, 1983). Bitki yarpaqlarında xloroplastların fotokimyəvi fəallığı və flüoressensiya çıxımı flüorimetr Mini-PAM (VALZ, Germany) cihazı ilə ölçülmüşdür.

Statistik analizlər, nəzarət və təcrübə variantları arasındakı fərqlər *Anova* proqramı ilə müəyyən edilmişdir.

EKSPERİMAENTAL HİSSƏ

III FƏSİL. AZƏRBAYCANDA BECƏRİLƏN TOMAT BİTKİSİNİ YOLUXDURAN VIRUSLARIN DIAQNOSTİKASI VƏ IDENTİFİKASIYASI

1. Simptomatik tomat bitkilərinin vizual diaqnostikası.

Statistik məlumatlara görə, bütün dünyada hər il müxtəlif fitopatogenlərin, xüsusilə də virus infeksiyalarının təsirindən 80%-ə qədər məhsul itkisi baş verir. İqtisadi itkiləri azaltmaq üçün müxtəlif tədbirlər planının hazırlanması günümüzün aktual problemlərindən biri hesab olunur. Xəstəliyin vaxtında aşkar olunması üçün infeksiyaya məruz qalmış bitkilərdə patogenlərin diaqnostikasının aparılması olduqca əhəmiyyətlidir. Əksər hallarda, sahə və ya istixana şəraitində ilkin olaraq vizual diaqnostika tətbiq edilir. Vizual diaqnostika patogenin təsirindən bitkinin müxtəlif inkişaf mərhələlərində formalaşan xarakterik xəstəlik əlamətlərinə əsaslanır. Patoloji proseslərin göstəricisi kimi, ilkin olaraq bitkilərdə müəyyən əlamət və ya əlmətlər toplusu formalaşır ki, belə əlamətlər virus infeksiyalarının simptomları adlanır. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, simptomların bitkilərdə təzahür etməsində müxtəlif abiotik və biotik faktorların təsiri qaçılmazdır.

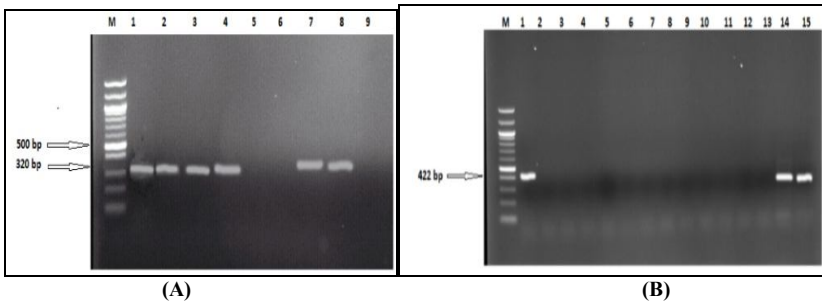
Azərbaycanın müxtəlif bölgələrində həyata keçirilən çoxsaylı monitorinqlər zamanı virus xəstəliklərinin xarakterik simptomlarına (yarpaqların burulması, saralması, müxtəlif dərəcəli mozaikalar, nekrotik ləkələr, qəhvəyi rəngli həlqəvi ləkələr, yarpaq ayası səthinin sahəsinin kiçilməsi, deformasiyası, bitkinin inkişafdan qalması, cırtanboyluluq, kollanmaya meyillilik, meyvələrin saralması, göyərməsi, yumşalaraq

istifadəyə yararsız hala düşməsi və s.) malik tomat nümunələri toplanmışdır.

2. Virusların immunostrip-test zolaqlarla diaqnostikası. Toplanmış bitki nümunələrinin AgriStrip-*TMV*, *ToMV*, *CMV*, *PMMoV*, *TSWV*, *PepMV* (*Bioreba AG*, *İsveç* və *Agdia44 Inc.*, *ABŞ*) immunostrip-test zolaqlarla seroloji diaqnostika həyata keçirilmişdir. Nəticədə *Tobacco mosaic virus* (*TMV*), *Tomato mosaic virus* (*ToMV*), *Cucumber mosaic virus* (*CMV*), *Pepper mild mottle virus* (*PMMoV*), *Tomato spotted wilt virus* (*TSWV*), *Pepino mosaic virus* (*PepMV*)-dan ibarət ikili və üçlü qarışıq (mix) infeksiyalar aşkar edilmişdir.

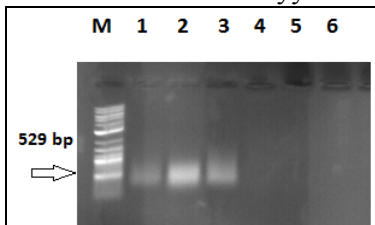
3. Virusların immunoferment (İFA test sistemi) analiz metodu ilə diaqnostikası. İFA test sisteminin yüksək dərəcədə həssaslığa (90%) və spesifikliyə malik olması, substrat komponentlərinin stabilliyi, habelə çoxlu miqdarda nümunələri analiz etmək imkanı və nəticələrin vizual olaraq qiymətləndirilməsinin mümkünlüyü kimi xüsusiyyətlər bu metodu daha çox üstünlüyə malik etmişdir. ELİSA test sistemi təzə yarpaq materialından əldə edilmiş ekstraktlarda 1 nq/ml qatılıqda olan virus infeksiyasını aşkar etməyə imkan verir. *TMV*, *ToMV*, *CMV*, *ToCV*, *TBSV* viruslarının diaqnostikası üçün DAS-ELISA kitləri, *TSWV*, *TYLCV* və *ToRSV* viruslarının aşkarlanması üçün isə TAS-ELISA kitləri tətbiq edilmişdir. Nəticədə, tomat bitkisini yoluxduran RNT genomlu viruslardan *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Tospovirus*, *Crinivirus*, *Curtovirus*, *Nepovirus*, *Potyvirus*, *Potexvirus*, eləcə də DNT genomlu *Geminivirus* və eyni zamanda, *Tobamovirus* infeksiyalarının qarışıq formaları aşkar edilmişdir.

4. Aşkar olunmuş RNT genomlu virusların molekulyar metodlarla identifikasiyası. Azərbaycanın müxtəlif bölgələrindən toplanan xəstə tomat bitkisi nümunələri *Tobamovirusları* molekulyar identifikasiya etmək məqsədilə universal (*Tobamo-1*\(*Tobamo-2*) və spesifik (*TMV2*\(*TMV1*) praymer cütlərindən istifadə etməklə, RT-PZR və PZR metodları ilə analiz edilmiş və nəticədə ~320- və ~422 bp ölçüdə gözlənilən fraqmentlər sintez olunmuşdur (Şəkil 1).



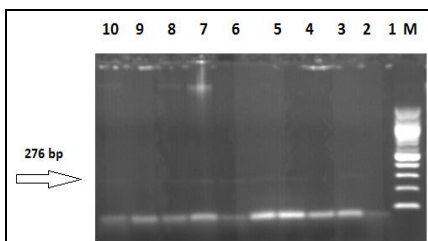
Şəkil 1. Tobamovirusların *Tob RT up 1/TobRT do2* universal (A) və spesifik *TMV 1/TMV 2* (B) praymerləri ilə RT-PZR analizi: M-100 bp DNT ladder. 1-15 - tomat nümunələri.

RT-PZR və PZR metodlarından istifadə etməklə aparılan tədqiqatlar nəticəsində Quba və Xaçmaz rayonlarından toplanmış xəstə tomat bitkisi nümunələrindən ayrılmış DNT ekstraktları *Tomato Etech Virus (TEV)* virusunu identifikasiya etmək məqsədilə spesifik *TEV-Poly2_F\TEV-Poly2_R* praymer cütlərindən istifadə etməklə ilə amplifikasiya edilmiş, nəticədə ~529 bp ölçülü gözlənilən PZR məhsulların sintezi müəyyən edilmişdir (Şəkil 2).



Şəkil 2. Quba və Xaçmaz rayonlarında sahə və istixanalardan toplanmış tomat bitkilərində virusların *TEV-Poly2_F\TEV-Poly2_R* spesifik praymerləri ilə identifikasiyası: M - 2-log DNA ladder, 1-5 - müxtəlif xəstə tomat nümunələri, 6 - neqativ nəzarət variantı.

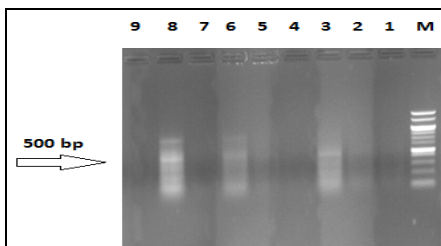
Masallı rayonundan toplanmış xəstə tomat bitkisi nümunələrində *Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV)* virusunu identifikasiya etmək məqsədilə spesifik *L1 TSWVR\L2 TSWVF* praymer cütlərindən istifadə etməklə RT-PZR və PZR metodlarının köməyiylə amplifikasiya həyata keçirilmiş və nəticədə ~276 bp ölçüdə gözlənilən fraqment sintez olunmuşdur (Şəkil 3).



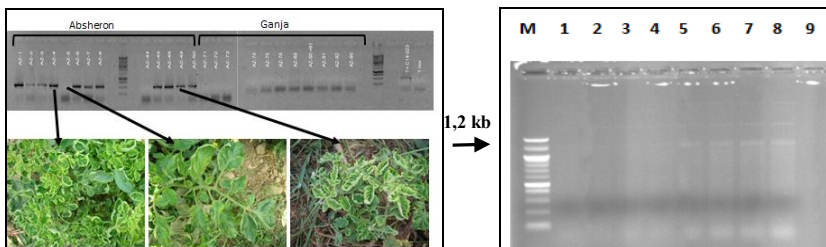
Şəkil 3. Masallı rayonunda yerləşən sahə və istixanalardan toplanan tomat bitkisinin viruslarının *LI TSWVR/L2 TSWVF* spesifik praymerlə identifikasiyası: M -100 bp DNT ladder, 1-10 - müxtəlif xəstə tomat nümunələri.

Masallı rayonundan toplanmış xəstə tomat bitkisi nümunələrində *Tomato Cucumber Mosaic Virus (CMV)* virusunu identifikasiya etmək məqsədilə spesifik *CMV1/CMV2* praymer cütlərindən istifadə etməklə RT-PZR və PZR aparılmış və nəticədə ~500 bp ölçüdə gözlənilən fraqment sintez olunmuşdur (Şəkil 4).

Şəkil 4. Masallı rayonunda yerləşən sahə və istixanalardan toplanmış tomat nümunələrində virusların spesifik *CMV1/CMV2* praymerlərlə identifikasiyası: M - 100 bp DNT ladder, 1-8 - müxtəlif xəstə tomat nümunələri, 9 - neqativ nəzarət variantı.



5. Aşkar olunmuş DNT genomlu virusların molekulyar metodlarla identifikasiyası. Abşeron yarımadasında yerləşən Əkinçilik və Tərəvəzçilik Elmi-Tədqiqat institutlarının (ETİ) təcrübə bazalarına təşkil edilmiş fitopatoloji monitorinqlər zamanı toplanmış xəstə bitkilərdən *Tomato yellow leaf curl virusu (TYLCV)* aşkar etmək üçün spesifik *MA 13F/MA 26R* praymer cütlərindən istifadə etməklə PZR metodu vasitəsilə amplifikasiya həyata keçirilmiş və nəticədə ~1,2 kb ölçüdə gözlənilən ampikonun sintezi müşahidə edilmişdir (Şəkil 5).



Şəkil 5. Abşeron rayonunda yerləşən Əkinçilik və Tərəvəzçilik ET institutlarının təcrübə

sahəsində aparılmış fitopatoloji monitorinqlər nəticəsində toplanmış xəstə tomat nümunələrində virusların *MA 13F\MA 26R* spesifik praymerlərlə identifikasiyası: M -100 bp DNT ladder, 1-8 - müxtəlif xəstə tomat nümunələri; 9 - sağlam bitki (neqativ nəzarət variantı).

IV FƏSİL. VİRUSLA YOLUXMUŞ TOMAT BİTKİSİNDƏ ANTIOKSIDANT MÜDAFİƏ SİSTEMİNİN TƏDQIQI

Məlumdur ki, bitki materialının quru biokütləsi onun əsas keyfiyyət göstəricilərindən biri hesab olunur. Apardığımız təcrübələr göstərmişdir ki, virusla yoluxma zamanı tomat bitkisinin yarpaqlarında quru biokütlənin miqdarı (yaş kütlənin %-lə çəkisinə görə) artır. Bu artım yarpaq hüceyrələrinin zədələnməsi nəticəsində transpirasiyanın güclənməsi ilə izah oluna bilər. Digər tərəfdən, virusla yoluxmuş yarpaq nümunələrində nisbi su tutumu (NST) sağlam yarpaqlarla müqayisədə xeyli aşağı olmuşdur.

Bitkilərin ətraf mühitə adaptasiyasının əsas yollarından biri stress zamanı osmolitlərin – osmoprotektorların sintezinin güclənməsidir. Məlumdur ki, bitkilərin ətraf mühitin əlverişsiz amillərindən müdafiəsində iştirak edən əsas osmoprotektorlardan biri qlisin-betaindir. Apardığımız tədqiqatlar zamanı aşkar olunmuşdur ki, sağlam bitki yarpaqlarında qlisin-betainin miqdarı 29,3 µq/ml təşkil edir. Tobamovirus infeksiyaları və onların qarışıq formalarının təsirindən yarpaqlarda qlisin-betainin miqdarı uyğun olaraq 69,7; 60,1 və 72,5 µq/ml-ə qədər yüksəlmişdir ki, bu da sağlam yarpaq hüceyrələrində olan qlisinbetainin miqdarı ilə müqayisədə ~ 2,0÷2,5 dəfədən çoxdur. Güman olunur ki, stress zamanı hüceyrədə ion homeostazının tənzimlənməsində və oksigenin fəal formalarının (OFF) detoksifikasiyasında iştirak edən qlisinbetainin sintezinin güclənməsi tomat bitkisinin patogeneza qarşı davamlılığını təmin edən mexanizmlərdən biridir. H₂O₂-in təyini zamanı müəyyən edilmişdir ki, sağlam hüceyrələrdə H₂O₂-in konstitutiv miqdarı 1,5 µmol/mq olduğu halda, patogeneza zamanı bu göstərici 1-ci və 4-cü nümunələrin yarpaqlarında 2,8 µmol/mq, 2-ci nümunədə 2,9 µmol/mq, 3-cü nümunədə 3,4 µmol/mq, 5-ci nümunədə isə 3,2 µmol/mq olmuşdur. Başqa sözlə, *PMMoV* virusu ilə yoluxmuş yarpaq hüceyrələrində H₂O₂-nin miqdarı daha yüksək olmuşdur. Belə hesab edilir ki, tobamovirus infeksiyaları və onların qarışıq formalarının təsirindən yarpaqlarda stresin indikatoru sayılan H₂O₂-in miqdarının kəskin artması antioksidant müdafiə sisteminin işə düşməsi üçün messenger ola bilər. Hidrogen peroksid digər OFF-dən öz stabilliyi və yüksək reaksiya qabiliyyəti ilə fərqlənir. Bu baxımdan, patogeneza zamanı hüceyrədə H₂O₂-

in miqdarının tənzim-lənməsinə nəzarət edən fermentlərin fəallıqlarının və çoxsaylı molekulyar formalarının dəyişməsinin tədqiq edilməsi xüsusi əhəmiyyətə malikdir.

Tədqiqatlarımızda peroksidazanın substratı kimi askorbat, qvayakol və benzydindən istifadə edilmişdir. Təcrübələr göstərmişdir ki, stresin təsirinə məruz qalmış bütün variantlarda hər üç fermentin fəallığı sağlam yarpaqlarla müqayisədə daha yüksək olmuşdur. Belə ki, sağlam yarpaq hüceyrələrində askorbatperoksidazanın (APO) fəallığı 0,2 $\mu\text{mol}/(\text{mq zülal}\cdot\text{d}\ddot{\text{e}}\text{q})$ olduğu halda, bu göstərici xəstə yarpaqlarda (xüsusən də 1-ci və 3-cü nümunələrdə) təqribən 8 dəfə yüksək olmuşdur (Cədvəl 1).

Cədvəl 1. Sağlam və tobamovirusla yoluxmuş tomat bitkisinin yarpaqlarında askorbat peroksidaza, benzydinin peroksidaza və qvayakol peroksidaza fermentlərinin fəallığı, $\mu\text{mol}/(\text{mq zülal}\cdot\text{d}\ddot{\text{e}}\text{q})$

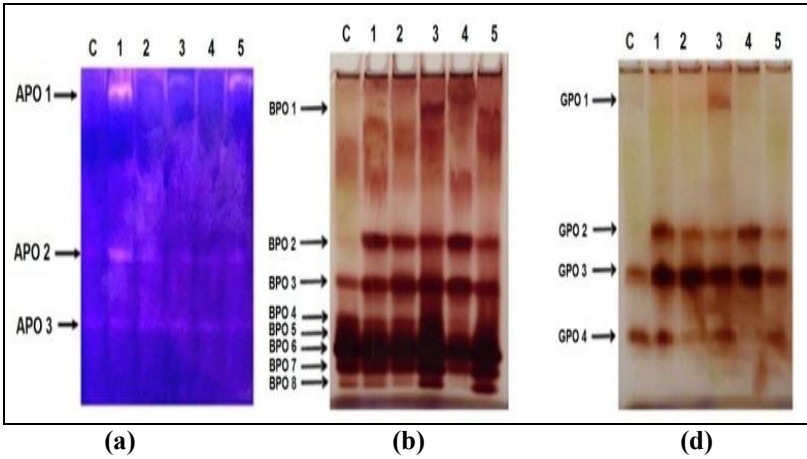
Bitki nümunələri	APO	BPO	QPO
Nəzarət variantı (sağlam bitki)	0,200±0,009	0,864±0,043	0,056±0,002
1. TMV	1,600±0,149	2,317±0,115	2,266±0,113
2. TMV+ToMV	0,628±0,031	2,494±0,124	2,471±0,123
3. PMMoV	1,712±0,133	2,956±0,147	2,490±0,124
4. TMV+PMMoV	0,200±0,009	1,860±0,093	1,582±0,079
5. ToMV+ PMMoV	1,143±0,057	2,961±0,148	1,129±0,056

Sağlam bitkinin yarpaqlarında qvayakol peroksidazanın (QPO) konstitutiv fəallığı 0,06 $\mu\text{mol}/(\text{mq zülal}\cdot\text{d}\ddot{\text{e}}\text{q})$ təşkil etdiyi halda, patogenezs zamanı bu göstərici artmış və artım 1-ci, 2-ci və 3-cü nümunələrdə daha nəzərəçarpan olmuşdur. Sağlam yarpaq hüceyrələrində benzydinin peroksidazanın (BPO) fəallığı 0,9 $\mu\text{mol}/(\text{mq zülal}\cdot\text{d}\ddot{\text{e}}\text{q})$ zülal olmuşdur. Virusla yoluxma nəticəsində isə bu göstərici kəskin artmış (təqribən 2-3 dəfə), 3-cü və 5-ci nümunələrdə BPO-nun fəallığı daha yüksək olmuşdur.

Patogenlə yoluxma nəinki fermentlərin fəallığının, həm də onların elektroforetik spektrlərinin dəyişməsi ilə müşayiət olunmuşdur. Sağlam yarpaqlarda askorbatperoksidazanın 2 izoformasını (APO2 və APO3), xəstə yarpaqlarda isə (1-ci, 3-cü və 5-ci nümunələrdə) bu izoformalarla yanaşı, yeni yüksək molekulyar kütləli APO1 izoforma müşahidə olunmuşdur (Şəkil 6a).

Peroksidazaların izoferment tərkibinin elektroforetik yolla tədqiq zamanı tomat bitkisinin yarpaqlarında qvayakol peroksidazanın nəzarət variantında 2 (QPO3, QPO4), stress variantlarında isə 3-cü nümunədə 4 (QPO1, QPO2, QPO3, QPO4), 4-cü nümunədə 2 (QPO2, QPO3), 1-ci və 5-ci nümunələrdə isə 3 izoformasının (QPO2, QPO3, QPO4) olduğu

müəyyən edilmişdir (Şəkil 6d). Konstitutiv izoforma QPO3 və QPO4 (4-cü variant istisna olmaqla) bütün variantlarda müşahidə olunmuşdur. Virusla yoluxmanın dərəcəsinə asılı olaraq QPO3 və QPO4 izoformalarının intensivliyi əhəmiyyətli dərəcədə dəyişmişdir. Belə ki, nəzarətlə müqayisədə stress variantlarda QPO3-ün intensivliyi artmış, QPO4-ün intensivliyi isə azalmışdır. Virusla yoluxma yarpaq hüceyrələrində yeni QPO1 və QPO2 izoformalarının əmələ gəlməsinə səbəb olmuşdur.



Şəkil 6. Sağlam (C) və tobamovirusla yoluxmuş (1, 2, 3, 4, 5) tomat bitkisinin yarpaqlarında askorbat peroksidaza (a), benzidin peroksidaza (b) və qvayakol peroksidaza (d) fermentlərinin elektroforetik spektrləri.

Sağlam yarpaqlarda benzidin proksidazanın kiçik molekullu 6 izoformasını (BPO3, BPO4, BPO5, BPO6, BPO7, BPO8) müşahidə olunmuşdur (Şəkil 6b). Virusla yoluxma nəticəsində bütün variantlarda orta molekullu bir izoforma (BPO2), 3-cü varianda isə yüksək molekullu bir izoforma (BPO1) əmələ gəlmişdir, 4-cü nümunədə isə kiçik molekullu BPO8 izoformasını aradan çıxmışdır. Peroksidaza fermentlərinin fəallıqlarının spektrofotometrik və elektroforetik analizlərinin müqayisəli təhlili göstərmişdir ki, peroksidazaların fəallığının dəyişməsi polipeptid xətlərin sayının və intensivliyinin dəyişməsi ilə müşayiət olunur. Bu fakt peroksidazaların müəyyən genlər tərəfindən kodlaşdırılan izofermentlərinin funksiyalarının öyrənilməsinə aydınlıq gətirə bilər. Tədqiqatlar zamanı əldə olunmuş nəticələr əsasında belə qənaətə gəlinmişdir ki, bitkinin patogenlə yoluxması peroksidazaların fəallığının

və onun çoxsaylı molekulyar formalarının kəmiyyət və keyfiyyət dəyişmələri ilə müşayiət olunur.

V FƏSİL. PATOGENEZ ZAMANI TOMAT BİTKİSİNİN FOTOSİNTETİK APARATINDA BAŞ VERƏN DƏYİŞİKLİKLƏR

Patogenezi zamanı tomat bitkisinə fotosintetik aparatda struktur-funksional səviyyədə baş verən dəyişikliklərin öyrənilməsi mühüm əhəmiyyət kəsb edir. Tədqiqatlar zamanı tobamoviruslarla və onların qarışıq infeksiyaları ilə yoluxmuş tomat bitkisi nümunələrində fotosintetik pigmentlərin miqdarı təyin edilmiş və müəyyən edilmişdir ki, virus infeksiyasının təsirindən bitkilərdə xlorofil *a* və *b*-nin ümumi miqdarı əhəmiyyətli dərəcədə azalır. Virusla yoluxmuş bitkilərdə xlorofilin miqdarının azalması, yoluxma səviyyələrinin müddəti və kəskinliyindən asılı olaraq fərqli olmuşdur. Karotinoidlərin miqdarında nəzərəçarpan dəyişikliklər baş vermir. Fərz olunur ki, pigmentlərin miqdarının azalması xlorofillaza fermentinin aktivliyinin artması və ya xlorofilin sintezinin inqihirləşməsi nəticəsində ola bilər.

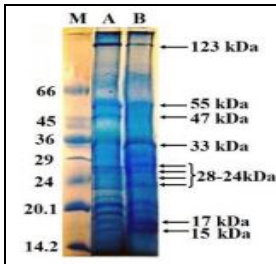
Tomat bitkisi yarpaqlarında II FS-in fotokimyəvi reaksiyalarının potensial kvant çıxımının (F_v/F_m) tədqiqi zamanı sağlam və virusla yoluxmuş bitkilər arasında əhəmiyyətli fərqlər aşkar olunmuşdur. Infeksiyaya məruz qalmış bütün nümunələrdə F_v/F_m nisbəti yoluxmamış bitkilərlə müqayisədə aşağı olmuşdur. Bu nisbətə ən kiçik qiyməti PMMoV patogeni ilə yoluxmuş yarpaqlarda müşahidə edilmişdir (Cədvəl 2).

Cədvəl 2. Virus infeksiyalarının təsirinə məruz qalmış tomat bitkisinə FS II-nin fotokimyəvi aktivliyində baş verən dəyişikliklər

Bitki nümunələri	F_o	F_m	F_v/F_m
Nəzarət variantı (sağlam bitki)	0,21±0,01	0,76±0,08	0,72
1. TMV	0,27±0,01	0,62±0,05	0,56
2. ToMV	0,29±0,02	0,60±0,07	0,51
3. PMMoV	0,38±0,02	0,64±0,06	0,41
4. TMV+PMMoV	0,24±0,01	0,53±0,04	0,55
5. ToMV+ PMMoV	0,31±0,02	0,53±0,04	0,42

Fotosintezin elektron daşınma sistemində baş verən dəyişikliklər, ilkin olaraq tilakoid membranı komponentlərinin dəyişməsi və ya yenidən təşkil edilməsi ilə nəticələnə bilər. Bu məqsədlə, sağlam və virus

infeksiyası ilə yoluxmuş tomat bitkisindən ayrılmış tilakoid membranının zülal tərkibi 10-25%-li Ds-Na poliakriklamid gelində elektroforetik analiz edilmişdir (Şəkil 7). Tilakoid membranının polipeptid tərkibinin analizi nəticəsində 25 zolağın sintezi aşkar olunmuşdur. Yoluxmuş bitkilərin tilakoid membran profillərində dəyişikliklər 60-15 kDa oblastında müşahidə edilmişdir. Nümunələrin müqayisəli analizi göstərmişdir ki, 123 kDa molekulyar kütləsinə malik CP I zülalının miqdarı xəstə bitkilərdə nəzarət variantı ilə müqayisədə əhəmiyyətli dərəcədə azalır. Bununla yanaşı, CF₁ ATF-sintaza kompleksinin 55 və 54 kDa molekulyar kütləsinə malik α - və β -subvahid-lərinin (*atpA* və *atpB*) miqdarında cüzi azalma qeydə alınmışdır. Yoluxmuş bitkilərdə 47 kDa polipeptidin sintezi tormozlanır. 20-17 kDa oblastında olan zülalların intensivliyi də azalır ki, bu da 33-17 kDa oblastında olan polipeptidlərin miqdarının kəskin azalması ilə bağlı ola bilər. işıqtoplayan kompleks II-nin 28-24 kDa mol. kütləli polipeptidlərinin sintezinin əhəmiyyətli dərəcədə azalması faktı isə virus infeksiyasına məruz qalmış bitki yarpaqlarında FS II-nin aktivliyinin itməsi və xlorofilin miqdarının azalması ilə izah oluna bilər.



Şəkil 7. Sağlam (A) və TMV virusu ilə yoluxmuş (B) tomat yarpaqlarından ayrılmış tilakoid membranı zülallarının 10-25%-li Ds-Na-PAAG-da elektroforetik analizi. M – standart zülal-markerlər (kDa).

Beləliklə, virus infeksiyalarının təsirinə məruz qalmış tomat bitkisi fotosintetik aparatda və antioksidant müdafiə sistemində baş verən ciddi dəyişiklərlə xarakterizə olunur. Patogenez zamanı peroksidaza fermentlərinin aktivliyinin artması və bəzi yeni izoformaların ekspressiya olunması onların fitopatogenlərə qarşı mübarizədə mühüm rolunu göstərir.

NƏTİCƏLƏR

1. Azərbaycanın müxtəlif bölgələrində həyata keçirilən çoxsaylı monitorinqlər zamanı virus xəstəliklərinin xarakterik simptomları,

- immunoxtromatoqrafik test və immunoferment analizinin (İFA) nəticələri əsasında, tomat (*Solanum lycopersicum* L.) bitkisini yoluxdurən RNT genomlu viruslardan *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Tospovirus*, *Crinivirus*, *Curtovirus*, *Nepovirus*, *Potyvirus*, *Potexvirus*, DNT genomlu *Geminivirus* və eyni zamanda, *Tobamovirus* infeksiyalarının qarışıq formaları aşkar edilmişdir.
2. Universal və spesifik praymerlərdən istifadə etməklə aparılan RT-PZR analizi nəticəsində Abşeron yarımadası və Salyan rayonu ərazisində götürülmüş tomat nümunələrində *Tobacco mosaic virus (TMV)*, *Tomato mosaic virus (ToMV)*, *Pepper mild mottle virus (PMMoV)*, Quba və Xaçmazdan olan nümunələrdə *Tobacco etech virus (TEV)*, Masallı rayonundan toplanan nümunələrdə isə *Tomato spotted wilt virus (TSWV)* molekulyar səviyyədə identifikasiya olunmuşdur.
 3. Azərbaycanda ilk dəfə olaraq, *TY1(+)* və *TY2(-)* praymerləri ilə aparılan PZR və amplifikasiya məhsullarının sekvens analizi nəticəsində *Geminiviruslar* növ səviyyəsində identifikasiya edilmişdir. Nəticədə Abşerondan götürülən tomat nümunələrinin *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)* növü ilə yoluxması müəyyən edilmiş və izolyatın genomunun nukleotid ardıcılıqları KY412552 qeydiyyat nömrəsi altında GenBank-a yerləşdirilmişdir.
 4. Müəyyən edilmişdir ki, *Tobamovirus* infeksiyaları və onların qarışıq formalarının təsirindən tomat bitkisi yarpaqlarda stresin indikatoru sayılan H_2O_2 -nin miqdarının kəskin artması fonunda fotosintetik pıqmentlərin sintezi inhibirləşir.
 5. Virusla yoluxmuş tomat yarpaqlarında xloroplastların funksional fəallığının öyrənilməsi zamanı FS II-nin fotokimyəvi effektivliyinin və onun tərkibinə daxil olan 47, 33, 29-24 və 17-15 kDa zülalların sintezinin əhəmiyyətli dərəcədə azalması müəyyən edilmişdir. Bu hal FSII-nin molekulyar strukturunda və FSI və FS II-nin elektron nəqliyyat sistemində elektronların daşınmasında baş verən dəyişikliklərlə izah oluna bilər.
 6. *Tobamovirus* infeksiyaları və onların qarışıq formalarının təsirindən yarpaqlarda qlisin-betainin miqdarı nəzarətlə (29,3 $\mu\text{q/ml}$) müqayisədə $\sim 2,0\div 2,5$ dəfədən çox artır (uyğun olaraq 69,7; 60,1 və 72,5 $\mu\text{q/ml}$ təşkil edir) ki, bu da tomat bitkisinin patogeneza qarşı davamlılığını təmin edən faktorlardan biri sayıla bilər.
 7. Virus infeksiyalarının təsirinə məruz qalmış tomat bitkisinin yarpaqlarında peroksidaza fermentlərinin fəallığı və izoferment tərkibi tədqiq edilmişdir. Patogenezin biokimyəvi markeri sayılan peroksidaza

fermentlərinin fəallığı nəzarətlə müqayisədə kəskin artmış və bu artım *PMMoV* virusu ilə yoluxmuş bitkilərdə daha yüksək olmuşdur. Bu isə həmin virusun bitki hüceyrələri üçün daha təhlükəli effekte malik olduğunu göstərir. Patogenez zamanı yarpaqlarda askorbatperoksidaza fermentinin 1, benzidinperoksidaza və qvayakol-peroksidaza fermentlərinin isə 2 yeni izoformasını induksiya olunmuşdur.

8. Aparılan fitopatoloji və statistik analizlər əsasında bu qənaətə gəlinmişdir ki, Azərbaycanın tərəvəzçilik inkişaf etmiş digər rayonları ilə müqayisədə Salyan rayonunda tomat bitkisinə virus xəstəliklərinin yayılma dərəcəsi və təsir şiddəti daha kəskindir.

TƏSƏRRÜFATA TÖVSIYƏLƏR

- Tomat bitkisinin sağlam energetik inkişafını təmin etmək üçün bitkini optimal aqrotexniki şəraitdə yetişdirmək lazımdır. Belə ki, sıx əkilmə şəraiti, alaq otlarının olması, səthi və hissə-hissə suvarılma virus xəstəliklərinin, xüsusən də ölkəmizdə geniş yayılan tütünün mozaika virusunun (TMV) inkişafına şərait yaradır.
- Aparılan tədqiqatlar nəticəsində məlum olmuşdur ki, yerli tomat sortları introduksiya olunmuş bitkilərlə müqayisədə viral xəstəliklərə qarşı daha davamlıdır. Ona görə də təsərrüfat sahibləri daha çox yerli sortların yetişdirilməsinə üstünlük verməlidirlər.
- Tomat bitkisi viruslarının vaxtında aşkarlanması və müvafiq tədbirlərin görülməsi olduqca önəmlidir. Bu məqsədlə, sahə şəraitində qısa zaman ərzində çoxlu sayda nümunəni analiz etməyə imkan verən, spesifik immunostrip test-zolaqlarından istifadə etməklə, 5-7 dəqiqə ərzində bitkinin hansı virusla yoluxduğunu müəyyən etmək olar.
- Virus xəstəliklərinin xarakterik simptomları olan bitkilər, cari ilin əkin materiallarının qalıqları, ilk növbədə, badımcançiçəklilər (*Solanaceae*) fəsiləsinin nümayəndələri daha çox xəstəlik mənbəyi olduğu üçün, əkin sahəsindən tamamilə kənarlaşdırılmalıdırlar.
- Virus xəstəliklərinin müalicəsi hələlik mümkün olmadığından, yalnız müəyyən profilaktik tədbirlər həyata keçirməklə, virozlara epidemiya xarakterli olmasının qarşısını almaq olar. Virus xəstəliklərinin ilkin əlamətlərinin müşahidə edilməsindən dərhal sonra bitkilər yığılaraq yandırılmalı və torpaq dərin şumlanmalıdır. Əkindən öncə, toxumlar mütləq xüsusi virisidal preparatlarla dezinfeksiya edilməlidir.

Dissertasiya mövzusu üzrə dərc olunan elmi əsərlərin siyahısı

1. Hüseynova İ.M., Mirzəyeva S.T., Məmmədov Ə.Ç., Əliyev C.Ə. Azərbaycanda tərəvəz bitkilərini yoluxdurən qarışıq virus infeksiyaları haqqında ilk məlumat: onların yayılması və diaqnostikası // AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 70, №1, 2015, s. 5-10.
2. Sultanova N.F., Mirzəyeva S.T., Hüseynova İ.M. Azərbaycanda pomidor bitkisini yoluxdurən virus xəstəliklərinin seroloji metodlarla diaqnostikası / “Müasir biologiyanın innovasiya problemləri” mövzusunda V Beynəlxalq elmi konfrans, Bakı: BDU, 2015, s. 107-108.
3. Əliyeva D.R., Mirzəyeva S.T., Sultanova N.F., Hüseynova İ.M. Tobamoviruslarla yoluxmuş tomat bitkisdə malondihidin miqdarı, peroksidaza fermentlərinin fəallığı və izoferment tərkibi // AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 70, № 2, 2015, s. 19-24.
4. Hüseynova İ.M., Sultanova N.F., Mirzəyeva S.T., Aliyev J.A. Serological and molecular detection of virus infections of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants in Azerbaijan // Reports of ANAS, 2015, No 3, p.73-77.
5. Sultanova N.F., Mirzəyeva S.T., Aliyeva O.F., Hüseynova İ.M. Serological and molecular diagnostics of major viral infections of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants in Azerbaijan / 2nd International Plant Breeding Congress. Turkey: Antalya, 2015, p. 307.
6. Mirzəyeva S.T., Sultanova N.F., Hüseynova İ.M. Serological detection of *Cucumber mosaic virus* infecting tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) / Abstracts of International Conference “Innovative Approaches to Conservation of Biodiversity” dedicated to 80th anniversary of the Institute of Botany of ANAS, Baku, Azerbaijan, 2016, p.158.
7. Desbiez C., Verdin E., Moury B., Kheyr-Pour A., Sultanova N., Mirzəyeva S., Mammadov A., Hüseynova İ., Aliyev J., Gronenborn B. Molecular analysis of virus diseases in vegetable crops and legumes in Azerbaijan / Abstracts of International Conference “Innovative Approaches to Conservation of Biodiversity” dedicated to 80th anniversary of the Institute of Botany of ANAS, Baku, Azerbaijan, 2016, s. 19.
8. Sultanova N.F., Mirzəyeva S.T., Gurbanova M.F. Virus diseases of tomato and pepper crops in Azerbaijan / IV International Conference

- of Young Researchers, Baku: Gafqaz University, 2016, p. 277.
9. Huseynova I.M., Sultanova N.F., Mirzayeva S.M., Aliyeva D.R., Balakishiyeva G.Sh., Aliyev J.A. Virus-induced changes in photosynthetic apparatus and antioxidant enzyme activities in tomato leaves / 13th International Plant Virus Epidemiology Symposium. Avignon, France, 2016, p. 65.
 10. Bayramova N.K., Mirzayeva S.T., Sultanova N.F., Khanishova M.A., Tagiyeva K.R., Huseynova I.M. Some anatomical changes in grapevine and tomato leaf tissues infected with GLRaV-3 and CMV viruses // Transactions of the Institute of Molecular Biology & Biotechnologies of ANAS, 2017, v. I, p. 50-55.
 11. Huseynova I.M., Mirzayeva S.M., Sultanova N.F., Aliyeva D.R., Mustafayev N.Sh., Aliyev J.A. Virus-induced changes in photosynthetic parameters and peroxidase isoenzyme contents in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants // Photosynthetica, Springer, 2018, v. 56, No 3, p. 841-850 (**IF - 1,507**).
 12. Verdin E., Desbiez C., Wipf-Scheibel C., Gognalons P., Kheyr-Pour A., Gronenborn B., Mirzayeva S., Sultanova N., Mammadov A., Huseynova I. First report of tomato yellow leaf curl virus infecting tomato in Azerbaijan // Journal of Plant Pathology, Springer, 2018. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs42161-018-0050-x> (**IF - 0.85**).

**ДИАГНОСТИКА, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ,
ИНФИЦИРУЮЩИХ РАСТЕНИЯ ТОМАТА (*Solanum
lycopersicum* L.) В АЗЕРБАЙДЖАНЕ, И ИЗУЧЕНИЕ
ИНДУЦИРОВАННЫХ ПАТОГЕНЕЗОМ ИЗМЕНЕНИЙ**

РЕЗЮМЕ

Представленная диссертационная работа посвящена диагностике и идентификации на молекулярном уровне распространенных в Азербайджане вирусов томата (*Solanum lycopersicum* L.), а также изучению структурно-функциональных изменений, индуцированных в растениях вирусными инфекциями. На основании данных о характерных симптомах вирусных заболеваний, результатах иммунохроматографических тестов и иммуноферментного анализа (ИФА), проводимых во время многочисленных мониторингов в различных районах Азербайджана, у растений томата были выявлены из РНК-геномных вирусов *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Tospovirus*, *Crinivirus*, *Curtovirus*, *Nepovirus*, *Potyvirus*, *Potexvirus*, из ДНК-геномных инфекций *Geminivirus*, а также смешанные формы *Tobamovirus*. В результате РТ-ПЦР анализа, проводимого с применением универсальных и специфических праймеров, в образцах томата, собранных на Абшеронском полуострове и Сальянском районе были идентифицированы на молекулярном уровне *Tobacco mosaic virus (TMV)*, *Tomato mosaic virus (ToMV)*, *Pepper mild mottle virus (PMMoV)*, в образцах из Губы и Хачмаза - *Tobacco etech virus (TEV)*, в образцах же, собранных в Масаллинском районе идентифицирован *Tomato spotted wilt virus (TSWV)*.

Впервые в Азербайджане в результате ПЦР, проводимого с праймерами *TY1(+)* и *TY2(-)*, а также на основании секвенс-анализа продуктов амплификации была осуществлена молекулярная идентификация на уровне геминивирусов. Вследствие этого было установлено заражение собранных на Абшероне образцов видом *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)*, и нуклеотидная последовательность изолята помещена в GenBank под регистрационным номером KY412552.

В то же время нами были изучены изменения в антиоксидантной защитной системе и фотосинтетическом аппарате инфицированных вирусами образцов томата. В результате проведенных экспериментов было установлено, что вирусные инфекции приводят к существенным изменениям активности и электрофоретических спектров различных пероксидаз (АПО, БПО, ГПО). Вследствие патогенеза в листьях индуцировались одна новая изоформа аскорбатпероксидазы и две новые изоформы бензидинпероксидазы и гваякол-пероксидазы. Под воздействием тобамовирусных инфекций и их смешанных форм в листьях томата на фоне резкого повышения содержания такого индикатора стресса, как H_2O_2 и глицинбетаина, наблюдалось ингибирование синтеза фотосинтетических пигментов. Так, резкое уменьшение фотохимической активности ФС II и синтеза входящих в ее состав белков с молекулярными массами 47, 33, 29-24 и 17-15 кДа можно объяснить изменениями, происходящими в молекулярной структуре ФС II и в переносе электронов по электрон-транспортной системе ФС I и ФС II. На основании проведенных фитопатологических и статистических анализов мы пришли к такому заключению, что по сравнению с другими районами Азербайджана с развитым овощеводством, степень распространения и воздействия вирусных заболеваний томата в Сальянском районе носит более выраженный характер.

SAMRA TAHIR MIRZAYEVA

**DIAGNOSIS AND IDENTIFICATION OF VIRUSES INFECTING
TOMATO PLANTS IN AZERBAIJAN AND THE STUDY OF
PATHOGEN INDUCED ALTERATIONS**

SUMMARY

The dissertation deals with diagnostics and identification of viruses at the molecular level in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) widespread in Azerbaijan, and the results of the study of structural and functional alterations in plants induced by viral infections. During numerous monitorings conducted in various regions of Azerbaijan, characteristic symptoms of viral diseases were detected. Based on the results of immunochromatographic test and immunoenzymatic analysis (IEA), RNA viruses, such as *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Tospovirus*, *Crinivirus*, *Curtovirus*, *Nepovirus*, *Potyvirus*, *Potexvirus*, DNA viruses *Geminivirus*, and mixed infections of *Tobamovirus* were detected in tomato plants.

As a result of RT-PCR analysis carried out by using universal and specific primers, *Tobacco mosaic virus (TMV)*, *Tomato mosaic virus (ToMV)*, *Pepper mild mottle virus (PMMoV)* were identified at molecular level in samples taken from Absheron peninsula and Salyan region, *Tobacco etech virus (TEV)* in the samples taken from Guba and Khachmaz regions and *Tomato spotted wilt virus (TSWV)* in samples collected in the Masalli region. As a result of PCR and sequence analysis of amplification products conducted with *TY1(+)* and *TY2(-)* primers, molecular diagnostics of Germiniviruses was performed at the species level for the first time in Azerbaijan. As a result, tomato samples collected in the Absheron peninsula were found infected with *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)* and genomic nucleotide sequences of the isolate were placed in GenBank with accession number KY412552.

Moreover, the changes occurring in the antioxidant defense system and photosynthetic apparatus were studied in virus-infected tomato plants. The studies revealed that viral infections lead to significant differences in activities and electrophoretic spectra of antioxidant enzymes (APO, BPO, GPO). A new isoform of ascorbate peroxidase

enzyme and two new isoforms of benzidine-peroxidase and guaiacol peroxidase were induced in leaves during pathogenesis. In leaves of tomato plants sharp increases in the amounts of glycine betaine and H_2O_2 which is considered to be a stress indicator was accompanied by the inhibition of the synthesis of photosynthetic pigments under the effect of *Tobamovirus* infections and their mixed forms. Photochemical efficiency of PSII and synthesis of its 47; 33; 29-24 and 17-15 kDa proteins decreased significantly, which is attributed to the changes in the molecular structure of PSI and in the electron transport systems of PSI and PSII. Based on the phytopathological and statistical analyses, it was concluded that the rate of spread and severity of viral diseases in tomato plants in the Salyan region was more acute compared to other vegetable growing regions of Azerbaijan.

Format 60x84 ^{1/16}
AMEA-nın mətbəəsində çap olunub.
Sayı: 100 nüsxə.

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ БОТАНИКИ**

На правах рукописи

САМРА ТАХИР ГЫЗЫ МИРЗОЕВА

**ДИАГНОСТИКА, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ,
ИНФИЦИРУЮЩИХ РАСТЕНИЯ ТОМАТА (*Solanum
lycopersicum* L.) В АЗЕРБАЙДЖАНЕ, И ИЗУЧЕНИЕ
ИНДУЦИРОВАННЫХ ПАТОГЕНЕЗОМ ИЗМЕНЕНИЙ**

2415.01 - “Молекулярная биология”

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по биологии**

БАКУ - 2018