

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI
NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI
TABIIY FANLAR FAKULTETI
BIOLOGIYA KAFEDRASI

**«MOLEKULAR MARKERLAR YORDAMIDA G'O'ZA
O'SIMLIGINING XO'JALIK QIMMATLI BELGILARINI
KARTALASHTIRISH» MAVZUIDAGI**

BITIRUV MALAKAVIY ISH

Biologiya kafedrasida «Biologiya» ta'lim yo'nalishi bitiruvchi
4-kurs talabasi Abdumannobova Y.

Rahbar o'qituvchi. Komilov D.



Bitiruv malakaviy ishi kafedradan dastlabki himoyadan o'tdi.
Kafedraning 10 sonli bayonnomasi. « 17 » may 2019 yil.

MUNDARIJA.

KIRISH.....	3
1-BOB. ADABIYOTLAR SHARHI.....	7
1.1. DNK markerlarining turlari.....	7
1.2. DNK markerlari yordamida g‘o‘zaning qimmatli xo‘jalik belgilarini molekulyar-genetik kartalashtirish.....	10
1.3. Markerlarga asoslangan seleksiya (MAS) usulining O‘zbekiston g‘o‘za seleksiyasidagi tadbiqu.....	17
2-BOB.TADQIQOT OB‘EKT LARI VA USLUBLARI.....	24
2.1. Reaktivlar.....	24
2.2. Uskunalar.....	24
2.3. O‘simlik materiallari.....	25
2.4. O‘simlik to‘qimasidan genom DNKsi ajratish.....	25
2.5.Elektroforez usuli yordamida DNK va PZR mahsulotlarini tekshirish.....	30
2.6. Polimeraza zanjir reaksiyasi.....	37
2.7. Genotiplash va kompyuter tahlillari.....	39
3-BOB.OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI.....	40
3.1. Tola uzunligi belgisi bo‘yicha yaratilgan F2 avlod duragaylarida fenotipik kuzatuvlar hamda texnik tahlillar natijalari.....	40
3.2. F2 avlod duragaylarida genotiplash natijalari.....	51
3.3. Molekulyar markerlar yordamida g‘o‘zada tola uzunligi belgisini QTL kartalashtirish.....	55
XULOSA.....	61
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO‘YXATI.....	63

KIRISH

Mavzuning dolzarbligi: Seleksiya yoki kartalashtirish loyihalari uchun DNK markerlar sinfining afzalliklariga e'tibor qaratgan holda mos keluvchi DNK markerini tanlab olish zarur. Miqdoriy va sifat belgilarini kartalashtirish, belgilarni bir individdan ikkinchi individga integratsiya qilish, germoplazmani tahlil qilish kabi tadqiqotlar turli xil uslubiy yondashuvni (turli markerlar tizimi qo'llanilishini) talab etadi. Tadqiqot uchun bir nechta markerlar turlarining qo'llanilishi va ularning samara berishi ularning ikki hil xususiyati bilan baholanadi: birinchisi, markerning populyasiyadagi individlar o'rtasidagi tafovutni namoyon qila olishi; ikkinchisi, genomdagi marker chastotasi (ya'ni bitta reaksiyada marker tomonidan bir nechta lokus tahlil qilinishi mumkin).

Bugungi kunda molekulyar markerlar texnologiyasi genomi murakkab hisoblanuvchi g'o'za va shunga o'xshash boshqa o'simliklar genetik haritalarini tuzishda asosiy usullardan hisoblanadi. Genetik haritalar tayyor sikvenslar bilan fizik haritalar tuzishda hamda genlarni pozitsion klonlashda muhim o'rin tutadi va natijada esa butun genom sikvens qilinadi. G'o'za tetraploid (AADD) $2n = 4x = 52$ xromosoma naboriga ega bo'lib, gaploid genomining o'lchami tahminan 2200-3000 Mb (megabayt) va umumiy hisobda 5200 sM (santimorgan), o'rtacha bir santimorganga esa 400kb teng keluvchi 26 xromosomlarda joylashgan [55]. Bunday ulkan genom uchun qidirilayotgan genga yaqin turuvchi markerlardan iborat bo'lgan harita yaratishda ko'p miqdorda DNK markerlari talab etiladi. Bu esa har 1 sM ni qoplash uchun qariyb 3000 marker talab etadi [55].

RFLP markerlari g'o'za genom DNK-markerlarini identifikatsiyalashda va polimorfizmni harakterlashda "boshlang'ich nuqta" bo'lgan. Reinisch 1994-yili 705 RFLP markerlaridan foydalanib *G.hirsutum* "palmeri" hamda *G.barbadense* K101 liniyasi bilan turichi chatishtirish natijasida olingan 57 ta F2 avlod duragaylarida 41ta birikkanlik guruhini tashkil etuvchi harita yaratdi.

Shuningdek boshqa olimlar tomonidan ham RFLP markerlari yordamida bir nechta genetik haritalar yaratilgan.

Bundan tashqari olimlar tomonidan g'ozada Miqdoriy belgilar lokuslarini (MBL, ingl. QTL – Quantitative trait loci) kartalashtirish bo'yicha bir qator ilmiy tadqiqot ishlari olib borilgan. Bunday ishlarga tola chiqimi, sifati kabi muhim agronomik belgilar ustida olib borilgan ilmiy izlanishlar yaqqol misol bo'la oladi. AQSHlik olim Ulloa g'ozaning NM2401 va TM1 liniyalarini chatishtirishdan olingan F2 avod duragaylari ustida olib borgan tadqiqotlari natijasida g'ozada genomining 1058sM masofasini qamrab oluvchi 28ta birikkanlik guruhini o'zida mujassam etgan genetik harita yaratdi. Mazkur haritada F3 avlod individlaridan olingan ma'lumotlardan ham foydalanilgan va shu asosda haritada 7ta QTL topilgan. Shundan ikkitasi 7 va 25 birikkanlik guruhlarida joylashgan bo'lib tola uzunligiga javob beruvchi QTLlar va ular ushbu belgining 19% variatsiyasini namoyon etgan. Ikkita QTL tola ingichkaligiga tegishli bo'lib 22% variatsiyani tashkil etgan bo'lsa bor yo'g'i bittagina QTL tolamustahkamligiga birikkan qariyib 6% variatsiyani tashkil qilganligi aniqlangan [66].

Xitoylik tadqiqotchilar tomonidan ham tola sifati va pishiqligi belgilariga birikkan QTL topish maqsadida ilmiy izlanishlar olib borilgan [30]. Genetik tahlillar va molekulyar kartalashtirishga asoslanib tola sifati ancha yuqori bo'lgan 7235 Upland (*Gossypium hirsutum* L.) germoplazma liniyasida asosiy tola pishiqligiga birikkan QTL aniqlangan. Ushbu tadqiqot ishlarida olib borilgan ilmiy izlanishlar natijalariga ko'ra QTL lokuslari bilan birikkan ikkita SSR va oltita RAPD markerlari topilgan.

Bitiruv malakaviy ishinig maqsadi va vazifalari: Ushbu bitiruv malakaviy ishidan ko'zda tutilgan asosiy maqsad, g'ozada tola uzunligi belgisini boshqaruvchi gen/lokuslarni haritalash bilan bog'liq barcha usullarini o'rganish va

o'zlashtirishdan iborat. Ilmiy ish maqsadidan kelib chiqqan holda quyidagi vazifalarni o'z ichiga oladi:

1. Mazkur tadqiqotning boshlang'ich materiallari sifatida olingan g'o'za namunalari va ularni o'zaro chatishtirishdan olingan ikkinchi avlod duragaylarini ekish va ularda morfo-biologik kuzatuv ishlarini olib borish;
2. STAV usulidan foydalanib tajriba boshlang'ich materiallari va ikkinchi avlod duragaylaridan genom DNKlar ajratish;
3. G'o'za genomiga asoslanib yaratilgan bir nechta DNK markerlar oilalari bilan tajribaning ota-ona o'simliklarini PZR (polimeraza zanjir reaksiya) usuli bilan tekshirish va polimorf markerlarni aniqlash;
4. Aniqlangan polimorf markerlar bilan tajribaning ikkinchiavlod duragaylarining genom DNKlarini PZR skrining qilish va olingan natijalarni genotipik tahlil qilish;
5. Tadqiqot namunalarida tola uzunligi ko'rsatkichlarini aniqlash;
6. To'plangan morfo-biologik ma'lumotlar (o'simlik bo'yi, monopodial va simpodial shoxlar, shoxlanish tipi, ko'sak shakli, chanoqlar soni, birinchi hosil shoxining balandligi (hs), tola uzunligi, tola chiqimi va mingta chigit og'irligi) bilan PZR skrining natijasida olingan genotipik ma'lumotlarni o'rtasidagi genetik munosabatlarni aniqlash uchun MapQTL (Miqdoriy belgilar lokuslarini haritalash) dasturida tahlil qilish;
7. Tola uzunligiga aloqador bo'lgan QTL lokuslarini xromosomalardagi o'rnini tasvirlash.

Bitiruv malakaviy ishinig ob'ekti va predmeti: Tadqiqot ob'ekti – g'o'za ekini bo'lib, tadqiqotda quyidagi namunalardan foydalanildi: a) g'o'zaning *G.barbadense* L. va *G.hirsutum* L. turlarini o'zaro chatishtirib olingan, F1 avlod duragay o'simligi b) ota-ona shakllari v) F2 avlod duragay o'simliklari. Tadqiqot predmeti – JESPR, TMB, GH, BNL, CIR, NAU mikrosatellit markerlar to'plami.

Bitiruv malakaviy ishinig asosiy masalalari va strukturasi:
Tadqiqotning

asosiy masalasi g'o'za o'simligining tola uzunligi belgisiga javob beruvchi

gen/lokuslarni aniqlashdir. Gen/lokuslari aniqlangan tizmalar kelajakda markerlarga asoslangan seleksiya usuli yordamida tolasiz uzun bo'lgan yangi navlarni yaratishda qo'llaniladi.

1 BOB. ADABIYOTLAR SHARHI.

1.1. DNK markerlarining turlari

DNK markerlari o'zining yuqori informativligi, spetsifikligi, polimorfikligi va foydalanish qulayligi sababli molekulyar-genetik tadqiqotlarda mustahkam o'rin egallab kelmoqda. Quyida ularning ba'zilar haqida misollar keltirilgan.

RFLP – Restricted Fragment Length Polymorphism (Bo'laklangan Fragmentlar Uzunliklari Polimorfizmi - BFUP). RFLP tahlili ilk bor Jeffris tomonidan 1985 yil olib borilgan [34].

Bu usulda restriktazalar DNKni mahsus uchastkalarda, odatda palindrom ketma-ketliklarda parchalaydi. Mutatsiya natijasida shunday ketma-ketliklarning asoslaridan biri o'zgarib qolgan bo'lsa bu uchastkalar restriktazalar yordamida parchalanmaydi. Aksincha mutatsiya natijasida restriktazalarga chidamli bo'lgan boshqa yangi uchastkalar paydo bo'lishi mumkin. Xolbuki gipervariabel uchastkalar genomning transpozitsiya, noteng rekombinatsiyalar va DNK-polimeraza kompleksining "sirg'alishi" kabi anchayin murakkab tarkib topishidan kelib chiqqan. Natijada esa ikki genetik noo'xshash individlardan kelib chiqqan bir-biriga mos keluvchi DNK fragmentlari tez-tez har xil uzunlikda restriksion fragmentlarni yuzaga keltiradi. Bu marker tizimining bir qancha kamchiliklari mavjud, jumladan yuqori mehnat, qimmatligi shuningdek irsiylanishning dominant ko'rinishi (geterozigota genotipini aniqlash imkoniyati yo'q).

RAPD markerlari (Random Amplified Polymorphic DNA - Tasodifiy Amplifikatsiyalangan DNKlar Polimorfizmi) PZRga (Polimeraza Zanjir Reaksiyasi) asoslangan bo'lib, usulning asosiy mohiyati DNK regionlarining qisqa (10 nukleotidgacha) erkin oligonukleotidlar tomonidan tasodifiy amlifikatsiyalanishi bilan belgilanadi.

Praymerlarning kerakli uchastkalarga borib (gibridizatsiya) juda yumshoqsh roitda amalga oshiriladi. RAPD praymerlari DNKning o'ziga komplementar bo'lgan uchastkasi bilan bog'lanadi va amplifikatsiya ikkala zanjirda ikki yo'nalish bo'ylab amalga oshadi. Praymerlanish o'rtacha holda har bir million juft asosga bir marta to'g'ri keladi [36]. Bitta praymer tegishli tur yoki individum DNK o'xshash uchastkasiga bog'liq holda bir necha PZR mahsulotlari berishi mumkin. RAPD markerlar odatda populyasiyaning genetik strukturasi o'rganishda yoki genetik kartalashtirishda foydalanilishi mumkin.

RAPD-markerlari boshqa tip markerlariga nisbatan ancha arzon, sodda va qulayligi bilan ajralib turadi. Bu usulda radioaktiv moddalar ishlatilmaydi, probalarni tayyorlash uchun mahsus tayorgarlik talab qilinmaydi va hattoki DNK ketma-ketligini ham oldindan bilish shart emas. Biroq bu markerlardagi kamchilik ularning dominatligida va bu geterozigotani gomozigotadan farqlashda va buning natijasida esa allellar chastotasini aniqlashda ancha qiyinchiliklar keltirib chiqaradi.

AFLP–Amplified Fragment Length Polymorphism (Amplifikatsiyalangan Fragment Uzunligi Polimorfizmi). Bu usulamprifikatsiya va restriksiya etaplaridan tashkil topgan bo'lib eng avvalogenom DNKsi restriktazalar nabori (odatda, 2, 4 va 6 nukleotidlar ketma-ketligini taniydigan restriktazalar juftligi) bilan ishlanadi. Hosil bo'lgan fragmentlarga adapterlar ulanadi. So'ngra adapter praymerlari yordamida amplifikatsiyalanadi va undan keyin esa 3' ichida restriksiyasiga tegishli bo'lgan uch erkin nukleotid tutuvchi adapter ketma-ketligiga mos praymerlar yordamida selektiv amplifikatsiya o'tkaziladi. Tripletlar amplifikatsiyani restriksion fragmentlarning ba'zi qismlari bilan ta'minlaydi. Bu usul yordamida nukleotid ketma-ketligini bilmasdan turib ham katta miqdordagi SNPlarni tahlil qilish mumkin [70]. AFLP markerlarini qo'llab Genetika va O'EB institutida [19] bir necha o'zbek navlarining molekulyar-genetik pasporti yaratilgan.

Mikrosatellitlar yoki SSR (SSR – Simple Sequence Repeat - Oddiy takrorlanuvchi ketma-ketliklar). SSR markerlari o‘zining yuqori polimorflligi bilan boshqa markerlardan ajralib turadi. Mikrosatellitlar hattoki yaqin qarindosh bo‘lgan individumlar lokusarida ham yuqori polimorfizm namoyon etadi. [20]. Mikrosatellit ketma-ketliklari odatda dinukleotid (AC)_n, (AG)_n, (AT)_n; trinukleotid (CGG)_n (GCC)_n, (TCT)_n, (TTG)_n; tetranukleotid (TATG)_n va h-o bo‘lib, “n”–mikrosatellit lokuslar ichidagi ketma-ketlikliklari takrorlarining miqdorini bildiradi. O‘simliklarda eng ko‘p uchraydigan mikrosatellit takrorlar (AT)_n, hayvonlarda esa (AC)_n ekanligi olimlar tomonidan qayd etilgan [21,22] i (GT)_n [60]. Mikrosatellitlar genlar ekspressiyasi regulyasiyasida, rekombinsiyasida, gen konversiyasida va jinsning aniqlanishida ishtirok etishi tahmin qilinadi.

Ba’zi olimlarning ta’kidlashicha mikrosatellitlarning yuqori stabiligi sabab ularni genetik markerlashda, populyasion tadqiqotlarda va hattoki genom daktiloskopiyasi usulidan foydalanib shaxsning identifikatsiyasida ishlatilishi mumkin [24, 31]. Mikrosatellit markerlardan foydalanib tadqiqotchi va olimlar tomonidan bir qancha ilmiy tadqiqotlar olib borilgan. Xususan genomni kartalashtirish, o‘simliklarda qimmatli xo‘jalik belgilarga javob beruvchi QTL lokuslarini aniqlash, turlarning bir-birlari bilan filogenetik qardoshligini aniqlash kabi ishlar bunga misol bo‘la oladi. Mamlaktimiz olimlari tomonidan ham ushbu markerlar tizimidan foydalanib bir qancha halqaro darajadagi tadqiqotlar amalga oshirilgan. Jumladan g‘o‘zaning tabiiy holdagi barg to‘kishi, tola chiqimi, sifat ko‘rsatkichlari, fotoperiodik gullash kabi belgilari SSR markerlari tomonidan tadqiq qilingan [6].

CAPs - (Cleaved Amplified Polymorphism - Parchalangan Amplikonlar Polimorfizmi) va dCAP (ishlab chiqilgan CAP). Polimorfik restriksiya saytini RFLP usuli bilan aniqlash kerakli fragmentni va parchalash

uchun unga mos keladigan ferment tomonidan PSR-amplifikatsiyasida amalga oshiriladi. CAP markerlari gen-spetsifik markerlar hisoblanib kerakli gen amplifikatsiya mahsulotida mavjud bitta nukleotid polimorfizmiga asoslangan. Eng avval o'rganilayotgan belgi uchun javob beruvchi gen klonlanadi va sikvens qilinadi. Undan so'ng ketma-ketligi aniqlangan uchastka internet ma'lumotlar bazasida mavjud SNPga va ushbu SNP restriksiya sayti aniqlash uchun tekshirib ko'riladi. Nazariy tomondan yovvoyi tip yoki mutant ketma-ketligi SNP tufayli endonukleazalarga ta'sirchanligi bilan farqlanishi va shu sababli spetsifik endonukleazalar (restriktazalar) tomonidan parchalanishi (kesilishi) mumkin. Agarda SNP mavjud restriktazalar bilan kesiladigan bo'lsa marker yaratish mumkin [35]. Aksincha restriksiya sayti mahsulotda mavjud bo'lmasa u holda SNP yoniga sun'iy ravishda restriksiya sayti kiritiladi va bu dCAP deb ataladi[53]. Garchi biroz kamchiliklari bo'lsada, o'zining oddiyligi va ishonchliligi bilan bu metod ancha keng tarqalgan va ommabopdir.

STS – (Sequence Tagged Site – sikvens qilingan saytlar). STS – bu DNKning kalta (200-500 j.a.), noyob ketma-ketliklaridir. STS ketma-ketliklari genetik polimorfizmni topish yo'lida ishlatiladigan fragmentlar restriksiyasi, DNK fragmentlarining, zondlarning klonlanishi kabi analizlarda foydalaniladi. [31].

1.2. DNK markerlari yordamida g'o'zaning qimmatli xo'jalik belgilarini molekulyar-genetik kartalashtirish,

Xromosomalarning genetik haritasi deb muayyan xromosomada birikish guruhidagi birikkan genlarning ma'lum tartibda va bir biridan muayyan masofada joylashganligini hamda genlarning nomlarini ifodalovchi simvollar aks ettirgan sxemaga aytiladi. Genlar xromosomada ma'lum tartibda chiziq bo'ylab joylashganligi sababli krosingover chastotasi bu genlar orasidagi masofani ko'rsatadi. SHuning uchun olingan dalillarga asoslanib, genning xromosomada joylashgan o'rnini aniqlash mumkin. Birinchi bo'lib genetik birikkanlik haritani 1913-yilda

Sturtevent tomonidan tuzilgan bo'lib, bu genetik olimlarda genlarni aniqlash va ularni genetik haritalarga joylashtirish qiziqishni uyg'otdi. Boshlang'ich davr davomida olimlar e'tibori irsiylanishni alohida shaklini ko'rsatuvchi morfologik belgilarda edi. Biroq tibbiyot, qishloq-xo'jalik va hayvonlarni tadqiq qiluvchi olimlarga qiziqarli bo'lgan belgilarning ko'pchiligi doim o'zgarib turishini ko'rsatadi. Bunday belgilar miqdoriy belgilar deb nomlanadi. Ko'p omilli yoki poligen xususiyatli murakkab belgilarning irsiylanishini tushunish bilan biolog olimlar bunday belgilarni o'rganish qiyinchiligini anglab etdi. Birinchi bo'lib 1923-yili Karl Saks morfologik markerlar bilan miqdoriy belgilarni birlashtirdi. 1975-yili Gelderman miqdoriy belgilar lokusi atamasini o'ylab topdi va bu "miqdoriy belgilar ta'siri bilan birikkan genomning bir bo'lagi" degan ma'noni anglatadi. Morfologik belgilarni o'zidan foydalanib, yuqori darajada genotip, atrof-muhit va epistatik o'zaro ta'sirlarni namoyon qiladigan bunday lokuslarni aniqlash juda qiyin, morfologik belgilar to'liq genomning atigi 5% ni tashkil qiladi, bundan tashqari ekspressiya bosqichiga bog'liq hisoblanadi. 1953 yilda Uotson va Krik tomonidan DNK strukturasi kashf qilingandan so'ng molekulyar biologiya sohasida qator kashfiyotlar, jumladan, genlar va genetik haritalar tuzilishiga olib keldi. Yangi DNKga asoslangan markerlar: RFLP, RAPD, AFLP, SSR va SNP kabi markerlar genetik birikkanlik analizlarini va ko'pincha QTL tadqiqotlarini olib borishda foydalanildi. Dastlab miqdoriy belgilar lokuslarini (MBL/QTL) o'rganishda F2 avlod va bekkross (BC) populyasiyalardan keng foydalanilgan. Biroq, bunday populyasiyalarning genetik qurilishi o'ziga xos geterozigotalik tabiatiga ega bo'lganligi uchun QTL kartalashtirishda noqulaylik qiladi. Bu QTL analizlarda ulardan keng foydalanishga to'siqlik qiladi. Bu to'siqlarni bartaraf etish uchun bugungi kunda biologlar rekombinant inbred liniyalar (RILs), bekkross inbred liniyalar

(BILs) qo'sh gaploidli liniyalardan (DH) keng foydalanib kelmoqdalar [64]. Bu manbaalar orasidan bir-biridan farq qiluvchi ikki xil gomozigotali o'simliklarni duragaylashuvidan olingan F2 avlod individlarining yagona urug'ini takroriy ko'paytirishdan olingan rekombinant inbred liniyalar (RILs/ *RIL*) QTL analizlarda eng ko'p foydalaniladi [39, 41].

Genlarning xromosomada joylashgan o'rnini ya'ni lokuslarini aniqlashdan oldin mazkur gen qaysi xromosomada joylashganligini aniqlash lozim. Bitta xromosomada joylashgan va birikkan holda irsiylanadigan genlar birikish guruxlarini hosil qiladi. Birikish guruxlarining soni har bir turning gaploid sondagi xromosomalar to'plamining soniga teng bo'lishi kerak. Hamma gaploid sondagi xromosomalar birikish guruxlarining tartib raqamlari bilan belgilanadi. Genetik harita tuzish uchun dastavval har qaysi xromosoma eng kamida bitta gen bilan markerlangan bo'lishi kerak. Genetik harita tuzish uchun ko'p sondagi genlarning irsiylanish qonuniyatlarini tadqiq qilish kerak.

Seleksiya yoki kartalashtirish loyihalari uchun markerlar tizimining afzalliklariga e'tibor qaratgan holda mos keluvchi tizimni tanlab olish zarur. Miqdoriy va sifat belgilarini kartalashtirish belgilarni bir individdan ikkinchi individga introgressiya qilish, germoplazmani tahlil qilish kabi tadqiqotlar turli xil uslubiy yondashuvni (turli markerlar tizimi qo'llanilishini) talab etadi. Tadqiqot uchun markerlar tizimining qo'llanilishi va uning samara berishi ularning ikki xil xususiyati bilan baholanadi: birinchisi, markerning populyasiyadagi individumlar o'rtasidagi tafovutni namoyon qila olishi; ikkinchisi, genomdagi marker chastotasi (ya'ni bitta reaksiyada marker tomonidan birvarakayiga nechta lokus tahlil qilinishi mumkin). SSR markerlari qolgan markerlarga nisbatan yuqori geterozigotaligi sababli bu tizim individumlar o'rtasidagi tafovutni aniqlash kabi maqsadlar uchun keng qo'llaniladi va birmuncha samarador marker tizimi hisoblanadi [4].

Bugungi kunda molekulyar markerlar texnologiyasi genomi murakkab hisoblanuvchi g'oz va shunga o'xshash boshqa o'simliklar genetik haritalarini tuzishda asosiy usullardan hisoblanadi.

Genetik haritalar tayyor sekvenslar bilan fizik haritalar tuzishda hamda genlarni pozitsion klonlashda muhim o'rin tutadi va natijada esa butun genom sikvens qilinadi. G'ozning tetraploid (AADD) $2n = 4x = 52$ xromosoma naboriga ega bo'lib genomining o'lchami taxminan 2200-3000 Mb (million juft asos) va u umumiy hisobda 5200 sM, o'rtacha esa 400kb santimorganga teng keluvchi 26 xromosomlarda joylashgan.

Bunday ulkan genom uchun qidirilayotgan genga yaqin turuvchi markerlardan iborat bo'lgan harita yaratishda ko'p miqdorda DNK markerlari talab etiladi. Bu esa har 1 sM ni qoplash uchun qariyb 3000 marker talab etiladi [55].

Biroq g'ozda boshqa o'simlik turilari jumladan; sholi [65], pomidor [26], javdar va bug'doy [62] kabilarga nisbatan belgilar bilan birikkan markerlar juda ham kamchilikni tashkil etadi. RFLP markerlari g'oz genom DNK-markerlarini identifikatsiyalashda va polimorfizmi har akterizatsiyalashda "boshlang'ich nuqta" bo'lgan. 705 RFLP markerlaridan foydalanib *G.hirsutum* "palmeri" hamda *G.barbadense* K101 liniyasi bilan turichi chatishtirish natijasida olingan 57 ta F2 avlod duragaylarida 41ta birikkanlik guruhini tashkil etuvchi har ita yaratdi. SHuningdek boshqa olimlar tomonidan ham RFLP markerlari yordamida bir nechta genetik har italar yaratilgan [67].

Hozirgi kunda tadqiqotchilar tomonidan qishloq xo'jalik ekinlarining qimmatli xo'jalik belgilarini kartalashtirish uchun turli xil DNK markerlaridan foydalanilmoqda. Zhang va boshq. Genetik birikkanlik haritasi yaratishda soyaning (*Glycine max* L. Merr.) 184ta rekombinant inbred liniyalarini tahlil qilishdi [37]. Bu tadqiqotchilar guruhi 452ta RFLP, SSR va EST SSR markerlari yordamida soya genomidagi 3595.9 sM qamrab oluvchi 21ta birikkanlik guruhini yaratishdi. Protein va moylilik darajasi, pishish davri va o'simlik bo'yi kabi 9ta qimmatli

xo‘jalik belgilarining 63ta miqdoriy belgilar lokuslari – QTLni (LOD>3) bo‘lganda aniqlashgan.

Ma‘lum bo‘lishichi bu lokuslarning har biri kamida 5ta fenotipik belgiga ta‘sir qilib ushbu QTLlarning pleyotrop effektini namoyon etgan. Brondani va boshq. 157ta mikrosatellit markerlarga asoslangan molekulyar harita yordamida sholining (*Oryza sativa*) 11ta agronomik belgilarini o‘rganib chiqishgan. Belgilarning 14.5 – 72.9% fenotipik variatsiyasiga javob beruvchi marker regionlar sholining 12ta xromosomasidan 9tasida joylashganligi aniqlangan. Mokrani va boshqlar kungaboqarning (*Helianthus annuus* L.) ikki inbred liniyasini chatishtirib yaratilgan F3 avlod duragaylarida QTL lokuslarini o‘rganish bo‘yicha tadqiqotlar olib bordi. Tadqiqot ishlarida olimlar ota-ona hamda F3 avlod o‘simliklarini 276 AFLP va mikrosatellit markerlari bilan tahlil qilishib 170 ta markerdan iborat birikkanlik guruhlarini yaratishdi. Umumiy urug‘ soni, yog‘lilik darajasi, gullash vaqti kabi belkilari tahlili qilinib, har bir QTLning fenotipik o‘zgaruvchanlik foizi 2.6% dan 70.9%gachani tashkil qilganligi qayd etilgan [51].

G‘o‘za o‘simligida ham olimlar tomonidan QTL kartalashtirish bo‘yicha bir qator ilmiy tadqiqot ishlari olib borilgan. Bunday ishlarga tola chiqimi, sifati kabi muhim agronomik belgilar ustida olib borilgan ilmiy izlanishlar yaqqol misol bo‘la oladi.

AQSHlik olim Ulloa NM2401 va TM1 liniyalarini chatishtirib olingan F2 avlod duragaylari ustida olib borgan tadqiqotlari natijasida g‘o‘za genomining 1058 sM masofasini amrab oluvchi 28 ta birikkanlik guruhini o‘zida mujassam etgan genetik harita yaratgan. Mazkur haritada F3 avlod individlaridan olingan ma‘lumotlardan ham foydalanilgan va shu asosda haritada 7 ta QTL topilgan. Shundan ikkitasi 7 va 25 birikkanlik guruhlarida joylashgan bo‘lib tola uzunligiga javob beruvchi QTLlar va ular ushbu belgining 19% variatsiyasini namoyon etgan. Ikkita QTL tola ingichkaligiga tegishli bo‘lib 22% variatsiyani tashkil etgan bo‘lsa bor yo‘g‘i bittagina QTL tola

mustahkamligiga birikkan qariyib 6% variatsiyani tashkil qilganligi aniqlangan [66].

Xitoylik tadqiqotchilar tomonidan ham tola sifati va pishiqligi belgilariga birikkan QTL topish maqsadida ilmiy izlanishlar olib borishgan [30].

Genetik tahlillar va molekulyar kartalashtirishga asoslanib tola sifat ancha yuqori bo'lgan 7235 Upland (*Gossypium hirsutum* L.) germoplazma liniyasida asosiy tola pishiqligi QTL aniqlangan. Ushbu tadqiqot ishlarida olib borilgan ilmiy izlanishlar natijalariga ko'ra ikkita SSR va oltita RAPD markerlari QTL bilan birikkan. Tolasi juda kaltaligi bilan ajralib turuvchi *Ligon lintless* (*Lil*) monosomik dominant g'o'za mutanti TM-1 navi bilan SSR markerlari yordamida taqqoslandi. Mutant fenotipli *Lil* bilan birikkan markerlar (LOD \geq 3.0 ga teng bo'lganda) va ularning qaysi xromosoma joylashganligi aniqlangan [40].

Shuningdek, olimlar TM-1 (*G.hirsutum*) liniyani 3-79 (*G.barbadense*) qo'sh--gaploidli liniya bilan turlararo chatishtirish natijasida yaratilgan populyasiya ustida olib borgan tadqiqotlarida tola ingichkaligiga birikkan 13 RFLP va RAPD markerlarini aniqlashgan [41].

Ilmiy manbalarda faqat fotoperiodizmning molekulyar asosini o'rganishda qilingan urinishlar haqida ba'zi ma'lumotlar keltirilgan. Jumladan, *G.hirsutum* L. turining ikkita fotoperiodik-o'zgartirilgan liniyalari va to'qqizta madaniy navlar ular o'rtasidagi genetik masofani aniqlash maqsadida o'rganilgan. Gutiérrez va boshq., ma'lumotlariga ko'ra SSRs markerlardan foydalanib aniqlangan bu navlar va fotoperiodik- o'zgartirilgan liniyalar o'rtasidagi genetik masofa 0.26 dan 0.34 gacha ekanligi ko'rsatilgan [28].

Genetik masofaning eng yuqori ko'rsatkichi (GD=0.34) AQSHning ST474 g'o'za navi va *G.hirsutum* L. primitiv turining fotoperiodik-o'zgartirilgan liniyalari o'rtasida aniqlangan bo'lsa, eng kichik genetik masofa esa (GD=0.06) Avstraliyaning ikki g'o'za navi o'rtasida kuzatilgan. *G.hirsutum* L. primitiv turining fotoperiodik-o'zgartirilgan liniyalari genetik xilma-xilligini SSRs

markerlari yordamida o'rgangan holda fotoperiodik-o'zgartirilgan material va standart g'o'za navi TM1 o'rtasida yuqori genetik o'xshashlikni (>0.75) topishgan. [46]

Bu borada mamlakatimiz olimlari tomonidan ham bir qancha muvaffaqiyatlarga erishilgan. Genetika va O'EB instituti Genom Texnologiyalari Markazi olimlari tomonidan tola chiqimi, sifati (uzunligi, pishiqligi) kabi g'o'zaning qimmatli xo'jalik belgilarini tadqiq qilib mamlakat iqtisodiyotini yaxshilashda qolaversa dunyo miqyosda yuksak natijalarga erishib kelinmoqda. I.YU.Abduraxmonov va boshq. tomonidan fitoxrom A (PHYA) geniga spetsifik bo'lgan CAP markerlaridan foydalanib g'o'zada tola uzunligi QTLini ($LOD>4.0$) aniqlashgan. Boshqa tadqiqotlarda indutsirlangan mutagenez oqibatida fotoperiodik gullash xususiyati o'zgartirilgan mutant liniyalarning boshlang'ich manbadan genomi qanchalik darajada o'zgarganligi (genetik masofasi) hamda filogenetik divergensiyasini baholashda 40 ta polimorfik SSRdan foydalanilgan [7]. O'rtacha hisobda yuqoridagi 40 SSR 141ta lokusni amplifikatsiyalagan. G'o'zaning barcha o'rganilgan genotiplari o'rtasida 141 informativ allellar asosida aniqlangan genetik masofa 0.09 dan 0.60 gachani tashkil etgan. Fotoperiodizmi o'zgartirilgan mutantlar va ularning boshlang'ich namunalari o'rtasidagi genetik masofa 0.29 dan 0.50 gachani tashkil qilgan. *G.barbadense* ssp.darwinii va uning fotoperiodizm o'zgartirilgan mutantlari o'rtasida genetik masofa 0.50 ni tashkil etib, radioaktiv mutatsiya natijasida yuz bergan genetik divergensiyaning birmuncha yuqoriligini ko'rsatgan. SHuningdek, genomning genotiplangan regionlari bo'ylab 29 % o'zgarish yuz berganligidan dalolat beruvchi *G.hirsutum* ssp.purpurascens var.el-salvador va uning mutanti o'rtasidagi genetik masofa ham sezilarli darajada ($GM=0.29$) ekanligi ma'lum bo'lgan. SHuningdek EST-SSR markerlaridan foydalanib tola rivojlanishi initsiatsiyasi bilan bog'liq QTL regionlari aniqlangan [18,25] Bundan tashqari SSR markerlaridan foydalanib

tabiiy barg to'kilishi kabi g'ozaning noyob xususiyati bilan assotsiatsiyalangan QTL aniqlangan [42].

Ilk bor dunyoda birinchi marta I.YU.Abduraxmonov boshchiligida g'ozga germoplazmasining mingga yaqin nav va nav namunalaridan fodalaniib g'ozada "noteng birikkanlik"ni kartalashtirish amalga oshirilgan.

1.3. Markerlarga asoslangan seleksiya (MAS) usulining O'zbekiston g'ozga seleksiyasidagi tadbiqu.

G'ozaning xo'jalik qimmatli bo'lgan belgilariga asosan hosildorlik, ertapisharlik, zararkunanda va kasalliklarga chidamlilik, tolaning texnologik ko'rsatkichlari (tola uzunligi, ingichkaligi, pishiqligi, elastikligi, buraluvchanligi, uzilish uzunligi, mikroneyr, tola chiqimi), chigitni sermoy bo'lishligi kabi belgilar kiradi.

Tolaning uzunligi. Madaniy g'ozalarda tolaning uzunligi 18—20 mm dan 45—50, hatto 55—60 mm gacha bo'ladi. *G.barbadense* turi g'ozga formalariga mansub Si-Aylend g'ozasining paxta tolasini eng uzun bo'ladi. Bundan keyin esa tolasining uzunligi jihatdan g'ozaning madaniy turlari quyidagi tartibda boradi: o'rta tolali (*G.hirsutum*), Afrika-Osiyo g'ozasi (*G.herbaceum*), Hindi-Xitoy g'ozasining (*G. arboreum*) tolasini eng qisqa bo'ladi. Respublikamiz navlarda paxta tolasining uzunligi 30—33 mm, ba'zilarida bundan ko'ra uzunroq, ingichka tolali g'ozga navlarida esa 38—40 mm gacha boradi. Tolaning boshqa xususiyatlari yaxshi bo'lishi bilan birga, tola ancha uzun bo'lsa, qimmatini shuncha ortadi.

Tolaning ingichkaliligi. Quruq tola diametri (eni) mikron xisobida belgilanadi. Madaniy g'ozga navlarida tolaning diametri 7—10 mikrondan 30 mikrongacha, ko'pincha 15—20 mikron bo'ladi. Tola ingichkaligini ko'pincha metrik nomer bilan ifodalanadi, metrik nomer 1 g tolaning metr xisobidagi yoki 1 mg tolaning millimetr hisobidagi umumiy uzunligini bildiradi. Tola qancha ingichka bulsa, uning metrik nomeri

shuncha katta, aksincha tola qancha yo‘g‘on bo‘lsa, uning metrik nomeri shuncha kichik bo‘ladi. Eng yo‘g‘on, dag‘al tolaning metrik nomeri 2500, eng ingichka tolaning metrik nomeri 12000 atrofida bo‘ladi. O‘rta tolali g‘o‘zalarida tolaning metrik nomeri 5000-5500, ingichka tolali g‘o‘za navlarida esa 6500-8000, ko‘pincha 7000-7500 ga teng . Tola qanchalik ingichka bo‘lsa (tola devorchalari normal rivojlanganda), u shunchalik yaxshi hisoblanadi.

Tolaning pishiqligi deb, uning o‘qi bo‘ylab yo‘nalgan uzuvchi kuchga qarshilik ko‘rsatish qobiliyatiga aytiladi. Bitta tolaning pishiqligi grammlar bilan ko‘rsatiladi. Bitta etilgan tolaning pishiqlik darajasi g‘o‘za navlariga qarab har xil o‘rtacha 4-7 g/teksga teng. Hozirgi o‘rta tolali g‘o‘za navlarida tolaning pishiqligi 4-4,9 g gacha, ko‘pincha 4,5-5 g; ingichka tolali g‘o‘za navlarida esa biroz ko‘prok 4,6—5,2 g, ko‘pincha 4,6-5,0 g. Tola pishiqligi undagi devorchalarning qalinligiga bog‘liq. SHuning uchun kletchatka qatlamlari tola devorchalarida ancha ko‘p bo‘lsa, ya‘ni tola qancha yaxshi etilsa, u shuncha pishiq bo‘ladi. O‘z-o‘zidan ma‘lumki, kuzgi sovuq tushguncha normal pishib ochilgan ko‘sakdagi paxta tolasida yaxshi etilgan tolagacha va ko‘sak paxta tolasiga qaraganda pishiq bo‘ladi.

Tolaning buraluvchanligi. Tolaning eng muhim xususiyatlaridan yana biri, uning buraluvchanligidir. Bunday tolalardan ip yigirilganda ular o‘zaro yaxshi birikib, ipning pishiqligi, ya‘ni to‘qima pishiqligi ortadi. Tola qanchalik buraluvchan bo‘lsa, u shunchalik yaxshi xisoblanadi. Tolaning buraluvchanlik darajasi uning bir millimetrining qanchalik buralishi bilan belgilanadi. Normal rivojlanib pishgan tolada buralish darajasi g‘o‘zaning tur va naviga qarab turlicha bo‘ladi. Odatda, tola qancha yaxshi buralsa, shuncha ingichka bo‘ladi. Masalan, tolasida nisbatan dag‘al jaydari g‘o‘zaning har 1 mm tolasida tahminan 6—8 marta, o‘rtacha va ingichka tolali g‘o‘zalariniki esa 10—12 marta buraladi. Bunda keyingisidiki odatda birinchisidiki qaraganda bir necha marta, ko‘p buralgan bo‘ladi.

Tolaning necha marta buralishidan tashqari, bu buralishlarning tola bo'yiga bir tekisda joylashishining ham ahamiyati katta. Tola qanchalik bir tekisda buralsa, u shunchalik yaxshi xisoblanadi.

Tolaning uzilish uzunligi. Tolaning metrik nomerini pishiqlik (gramm hisobidagi) ko'rsatkichiga ko'paytirib 1000 ga taqsim qilinsa, uzilish uzunligi kelib chiqadi. Tolaning bu xilda hisoblab chiqilgan uzilish uzunligi nazariy jihatdan shunday uzunlikki, agar tolalar bir-biri bilan uchma-uch ulanaversa, u ma'lum uzunlikka etganda o'z og'irligi bilan uzilib ketadi. Xozirgi ekilayotgan o'rta tolali g'o'zaning sanoatbop navlari tolasining uzilish uzunligi odatda 23—25 km/ga, ingichka tolali g'o'za navlari tolasining uzilish uzunligi esa 33—36 km/ga, ba'zi navlarda esa 36—37 km/ga etadi[2].

Tolaning etilganligi. Tolaning etilganligi uning devorchalarida kletchatka qavatlarining paydo bo'lish darajasiga qarab aniqlanadi va buni shartli ravishda etilish koeffitsienti deb ataladi. Etilish koeffitsientini aniqlash uchun 250 dona paxta tolasini mikroskop ostiga qo'yilib, polyaroid (IT-2) deb ataladigan mahsus moslama bilan mahsus ishlangan tola etilish shkalasiga solishtiriladi. SHkalada tolaning etilganligi 0 dan 5 gacha 0,5 birlikda 11 daraja (gredatsiya) ga bo'lib ko'rsatilgan. SHkaladagi 0 koeffitsienti o'lik tolanini, 5 koeffitsientga o'ta etilgan, ya'ni devorchalari juda qalinlashib ketishi natijasida buraluvchanligi bo'lmagan tolanini ko'rsatadi. Devorchalari normal rivojlanib, buraluvchanligi bir tekisda yaxshi etilgan tola etilish koeffitsienti shkalasida 2—2,5 raqami bilan ko'rsatiladi [1].

Tolaning chiqimi. Tolaning chiqishi ma'lum miqdordagi chigitli paxta massasidan olingan sof chigitsiz tola massasining shu tola olingan chigitli paxta miqdoriga bo'lgan % hisobidagi nisbatidir. Binobarin, tolaning chiqishi bir tomondan sof tolaning massasiga bog'liq bo'lsa,

ikkinchi tomondan chigit massasiga (podpushkasi bilan birga), uning puch yoki to‘lig‘ va yirikligiga bog‘liq.

Chigit yuzasidagi tolalarning soni turli g‘o‘za formalari doirasida bir-biridan keskin darajada farq qilishi bilan birga, bitta turga mansub bir necha nav doirasida ham turlichadir. Masalan, g‘o‘za turlarida chigit sirtida 7 mingdan 15 mingtagacha tola bo‘ladi. Madaniy g‘o‘za formalarida tolaning chiqishi 20 dan 50 foiz atrofida o‘zgarib turadi. Ishlab chiqarish amaliyotida tola chiqish xajmini uch kategoriyaga bo‘lish qabul qilingan: tola chiqishi 30 foizdan kam bo‘lsa past, 30—33 foiz bo‘lsa o‘rtacha va 33 foizdan yuqori bo‘lsa yuqori deb xisoblanadi. Bunday uch kategoriyaga bo‘lish shartli ravishda qilingan, lekin seleksiyada erishilgan yutuqlar va sanoatning talabiga qarab u o‘zgarishi mumkin. Laboratoriya sharoitida har bir chigitli paxta partiyasidan tola chiqishi shu partiya namunasini arrali jinda ishlab chiqib topiladi [2].

Mikroneyr. Bu g‘o‘za tolasining texnologik ko‘rsatkichlari ichida ip-yigiruv va to‘qimachilik sanoatida muhim o‘rin egallab, mikroneyr asboblarda, ma‘lum vaznli tola orqali o‘tadigan xavo oqimi bosimining pasayishi bilan aniqlanadigan ko‘rsatkichdir. U tolaning chiziqli zichligi bilan o‘zaro bog‘liq mikrogrammning dyumga nisbatini ifodalaydi, lekin turli seleksiya navlari uchun turlicha bo‘ladi. Tahminiy chiziqli zichlikni olish uchun mikroneyr ko‘rsatkichini 39,37 gs ga ko‘paytirish kerak, lekin xaqiqiy qiymatga to‘g‘ri kelishiga kafolat bermaydi. O‘rta tolali g‘o‘za navlari uchun ko‘rsatkich qoida bo‘yicha 2,0 dan 6,5 gacha intervalda bo‘ladi. Asosiy interval 3,5 dan 4,9 gacha hisoblanadi. Bu qiymatlardan past yoki yuqori ko‘rsatkichlarda farq qilish darajasiga qarab narxi o‘zgartiriladi. Mikroneyr ko‘rsatkichi oshganda ham, kamayganda ham paxta tolasining vazni o‘zgarmaydi.

Respublikamizda g‘o‘za o‘simligini xo‘jalik-qimmatli bo‘lgan belgilarini yaxshilash borasida MAS usulini joriy qilinganiga hali ko‘p vaqt o‘tmagan bo‘lsada bir qancha yutuqlarga erishilmoqda. Tola pishiqligini yaxshilash maqsadida D.J. Komilov va boshqalar tola pishiqlik ko‘rsatkichi yuqori bo‘lgan

37.9 gk/teks donor nav namunasi (L-N1) bilan respublikamiz mahalliy navi hisoblangan tola pishiqlik ko'rsatkichi 29 gk/teks teng An-Boyovut-2 navini chatishtirib F1 avlod olingan va F1 ni retsipient An-Boyovut-2 navi bilan qayta (bekross) chatishtirilgan. Olingan BC1F1 avlod duragaylarida tola pishiqlik ko'rsatkichi o'rtacha 35,1 gk/teks tashkil etdi. Bu esa donordagi tola pishiqligi bilan bog'liq marker lokusning duragaylarga o'tganligidan dalolat beradi [16].

Tola cho'zuluvchanligini yaxshilashda M.M. Darmonov va boshqalar tola cho'ziluvchanlik ko'rsatkichi 16.4% yuqori bo'lgan Saenr pena-85 donor nav bilan ushbu parametr bo'yicha ko'rsatkichi 8.9 % nisbatan past belgili mahalliy nav Andijon-35 chatishtirildi. Olingan F1 avlodni Andijon-35 navi bilan qayta chatishtirildi va olingan BC1F1 avlodni tola elastikligiga javob beruvchi DNK markeri BNL 3650 bilan PZR qilib tekshirib 45 ta shu belgili o'simlik olgan. Bu ko'rsatkich bo'yicha o'rtacha natija 11.8 % (mak.13.8 – min. 10.4) ni tashkil qilgan [9]. Maxkamov A.X. tola pishiqligi 29.2 gk/teks va elastikligi 8.9% teng mahalliy Andijon-35 navida shu ko'rsatkichlarni yaxshilash maqsadida L-141 tola pishiqligi yuqori 37.9 gk/teks va elastikligi 9.8% hamda Saenr pena-85 tola elastikligi yuqori 16.4% va pishiqligi 31.7 gk/teks teng bo'lgan tizmalaridan donor sifatida foydalangan. Bu ikki donor tizmani retsipient Andijon-35 bilan chatishtirib F1 avlodni olgan va F1xF1 avlodlarini chatishtirib duragay o'simliklar olingan. Bu duragaylar Andijon-35 bilan qayta chatishtirilib olingan duragaylar shu tola ko'rsatkichlariga javob beruvchi DNK markerlari BNL 1122 va BNL 3650 bilan PZR qilinib tekshirgan. Olingan 28 ta BC1F1 avlodlarda tola pishiqligi o'rtacha 35.3 gk/teks va elastikligi 11% teng bo'lgan [12].

Darmonov M.M. va boshqalar tola pishiqligi 29.2 gk/teks teng mahalliy Andijon-35 navida bu ko'rsatkichni oshirish maqsadida yuqori tola pishiqligi bilan genetik bog'langan DNK markerlarini tutgan L-141 liniyasi bilan qayta chatishtirib 120 ta BC3F1 avlodlarini olgan. Ularni

tola pishiqligiga javob beruvchi BNL 1604 DNK markerlari bilan PZR usuli yordamida tekshirgan va o'simliklarning 46 tasi donor tizma allelini, 57 tasi ota ona allellarini, 17 tasi faqat retsipient allellarini tutganligini aniqlagan [10].

Maxkamov A. X. va boshqalar g'o'zada tola pishiqligi va mikroneyri ko'rsatkichini oshirish maqsadida MAS texnologiyasining piramidalash usulidan foydalanib tola sifat belgilaridan tola mikroneyri va pishiqligi yuqori bo'lgan ikki xil donor g'o'za nav namunalari (KK-1795 va L-141) bilan genetik polimorf bo'lgan va tola sifati yuqori bo'lmagan mahalliy AnB-2 g'o'za navini tanlab olib, o'zaro chatishtirdi. Ulardan olingan ikki xil F1(AnB-2xKK-1795) va F1(AnB-2xL-141) duragaylari bir-biri bilan chatishtirilishi orqali ikki xil qimmatli xxo'jalik belgilarga ega bo'lgan murakkab F1[F1(AnB-2 x KK-1795) x F1(AnB-2 x L-141)] duragaylarni oldi va ularni retsipient o'simlik (AnB-2) bilan bekross qilinib 96 ta BC1F1 o'simliklarini olgan. Nihollardan genom DNK lari ajratib, tolaning mikroneyr va pishiqligi belgilariga genetik bog'langan DNK markerlari (NAU2277, BNL1604) bilan PZR usuli yordamida tahlil qilindi. PZR tahliliga ko'ra o'simliklarning 20 tasi (21%) ham tola mikroneyri ham tola pishiqligi allellarini tutgan bo'lsa, 44 ta (46%) o'simliklarda esa ikki alleldan birining mavjud ekanligi ma'lum bo'ldi. Qolgan 32 ta (33%) o'simliklarda mazkur belgilar bo'yicha hech qanday allellarga ega bo'lmaganligi va 100 % retsipient AnB-2 g'o'za navi bilan o'xshash ekanligini aniqlagan. [13].

Maxkamov A. X. va boshqalar go'zada tola pishiqligi va elongatsiya ko'rsatkichini oshirish maqsadida MAS tenologiyasining piramidalash usulidan foydalanib murakkab duragaylash yo'li orqali F1 (Andijon-35xL-141)x F1 (Andijon-35xSaenr pena-85) avlodlarini oldi va donor liniyalarga xos bo'lgan tola sifatlarining marker belgilaridan tashqari boshqa salbiy belgilardan xoli bo'lish maqsadida Andijon-35 navi bilan bekkros ishlarini olib bordi. Olingan

BC1F1 duragaylarning nihollik davrida ajratib olingan genom DNKlari o'rganilayotgan tola pishiqligi va elongatsiya belgilariga genetik bog'langan BNL1604 hamda BNL3545 markerlari bilan PZR usuli yordamida skrining qildi. Olingan talil natijalari ko'ra 135 ta duragaydan 38 tasi ijobiy natijaga ega bo'lgan. Tola sifat ko'rsatkichlari retsipient Andijon-35 navining tola pishiqligi o'rtacha 32.1gr/teks va elongatsiya 8.1%, donor L-141 liniyada tola pishiqligi 39.3gr/teks, elongatsiya 8.6% hamda Saenr pena-85 donor liniyada tola pishiqligi o'rtacha 28.4gr/teks, elongatsiyasi 10.9% ga teng bo'lganda 38 ta BC2F1 o'simliklarida esa o'rtacha tola pishiqligi 32.9gr/teks (mak./min. 36.2-28.3gr/teks) va elongatsiyasi 9.2% ga (mak./min. 10.5-6.6%) teng bo'lgan. [14].

Tola sifati yuqori, serhosil, qurg'oqchilikka, turli xil kasalliklarga va tashqi muhitning noqulay sharoitlariga chidamli bo'lgan g'o'zaning yangi navlarini yaratish bugungi kunda dolzarb hisoblanadi. Zamonaviy molekulyar markerlar texnologiyasi amaliy o'simliklar seleksiyasida muhim agronomik belgilar bilan aloqador bo'lgan miqdoriy belgilar lokuslarini (QTL) kartalashtirish, genetik o'zgaruvchanlikni aniqlash, tavsiflash va manipulyasiya qilishni osonlashtirgani orqali o'zining foydali ekanligini ko'rsatdi. O'tgan yillar davomida bir necha xil yangi avlod molekulyar markerlarni yaratilishi, o'simliklar genomini keng qamrab olgan genetik birikkan hartalarni tuzishga olib keldi. Bu genetik haritalar seleksionerlarga xo'jalik uchun qimmatli bo'lgan belgilarga genetik bog'langan markerlarni aniqlash va ularni markerlarga asoslangan seleksiya (MAS) dasturida foydalanish imkoniyatini yaratdi. G'o'za seleksiyasida molekulyar markerlardan foydalanishning asosiy sabablaridan biri ularning 100% irsiylanishi va iqtisodiy tejamkorligidadir. SHuning uchun g'o'za germplazmasidan foydalanib irsiylanishi past bo'lgan belgilarni tanlash, murakkab bo'lgan tola hosildorligi va sifat belgilarini

aniqlash hamda ularni MAS dasturi orqali elita navlarga introgressiya qilishda molekulyar markerlar keng qo'llanilmoqda. DNK markerlaridan foydalanib qimmatli xo'jalik belgilarga aloqador QTL lokuslarini aniqlash o'simliklar seleksiyasida poligen xususiyatga ega bo'lgan murakkab belgilarni tavsiflashga

2-BOB.TADQIQOT OB'EKTALARI VA USLUBLARI.

2.1. Reaktivlar

Tadqiqot ishlarida Sigma (AQSH) firmasidan keltirilgan quyidagi reaktivlar ishlatildi: agaroz, bor kislotasi, etidium bromid, ko'k rangli bromfenol, buqa zardobi albumini (BZA), dodetsilsulfat atriyl (DSN) izoamil spirti, restriktazalar, RNKaza, xloroform, EDTA, etil spirti tris, Taq-polimeraza, dNTPs, magniy xloridi, natriy xloridi.

2.2.Uskunalar

Dissertatsiya ishida quyidagi laboratoriya asbob va uskunalaridan foydalanildi:

1. PSR-amplifikator (Applied Biosystems, SSHA)
2. Dozatorlar (Pipetman, SSHA)
3. Sentrifuga (Eppendorf, Germaniya)
4. Termostatli suv hamomi (LKB, SHvetsiya)
5. Vorteks (Genie Scientific Industries, Inc., SSHA)
6. Avtoblot (Bellco Glass, Inc., SSHA)
7. Gorizontaal elektroforez uskunasi (Stratagene, SSHA)
8. Vertikal elektroforez uskunasi (CBS Scientific, SSHA)
9. Termostatli mikser (Eppendorf, Germaniya)
10. Konsentrator (Eppendorf, Germaniya)
11. Termostat (Heraeus, Germaniya)
12. Mikroto'lqinli pech (Ferette, Italiya)
13. Tarozilar (Sartorius, SSHA)
14. Sur'at shaklida xujjatlashtiruvchi uskuna Alpha Imager 3400 (Alpha Innotech Inc., SSHA)

katta hissa qo'shadi. O'tgan asrdan to'plab, rivojlantirib va saqlab kelinayotgan O'zbekiston g'ozga germplazmasi 43 avlodga mansub A-genomdan K-genomgacha bo'lgan g'ozaning 17000 genetik xilma-xil namunalari ega bo'lib, ulardagi 335 ta g'ozaning nav va nav namunalari iqlimi jihatdan bir-biridan keskin farq qiluvchi O'zbekiston va Meksika sharoitida o'stirib 202 ta SSR (Simple Sequence Repeat-oddiy takrorlanuvchi ketma-ketliklar) praymerlari yordamida tadqiq qilishi natijasida tola sifat belgilariga (mikroneyr, tola uzunligi, pishiqligi va elongatsiya) genetik bog'langan bir nechta DNK markerlari aniqlandi. O'zida tolaning sifat belgilariga (mikroneyr, tola pishiqligi, uzunligi va elongatsiya) genetik bog'langan DNK markerlarini tutgan liniyalar yurtimizda DNK markerlariga asoslangan seleksiya dasturini boshlashga zamin yaratdi. Bunday donor liniyalar va DNK markerlaridan foydalanib ikki va undan ortiq tolaning sifat belgilarini bir mahalliy navga jamlashni genlarni piramidalash deb nomlanib, bunday usullar MAS tadqiqotining asosiy tajribalaridan biri qilib belgilandi [3].

2.3. O'simlik materiallari

Mazkur tadqiqotning tajriba materiallari uchun ingichka tolali g'ozaning Ash-143B (*G.barbadense* L.) va o'rta tolali g'ozaning All-in-one (*G.hirsutum* L.) liniyalari tanlab olindi. Tadqiqot davomida g'ozaning Ash-143B va All-in-one liniyalari o'rtasida turlararo chatishtirish natijasida olingan F₂ avlodni 108 ta individ duragay o'simliklaridan foydalanildi.

Ingichka tolali Ash-143B (*G.barbadense* L.) g'ozga liniyasi Turkmanistonda yaratilgan bo'lib, o'zining yuqori tola sifat belgilari bilan ajralib turadi va tola uzunligi 44,0 mm ni tashkil etadi. G'ozaning o'rta tolali All-in-one (*G.hirsutum* L.) liniyasi esa AQSHda yaratilgan va tola uzunligi 24 mm bo'lib, Ash-143B liniyasidan sezilarli darajada past hisoblanadi.

2.4. O'simlik to'qimasidan genom DNKsini ajratish.

Biologik tirik ashyolardan DNK ajratishning bir necha usullari mavjud bo‘lib ular quyidagilardir:

1. Fenol-xloroform usuli: Bu eski biroq, foydali usul hisoblanadi. YOmon tomoni foydalaniladigan reagentlar inson salomatligi uchun anchagina xavfli hisoblanib PZR reaksiyasi va sekvens (DNK ketma-ketligini o‘qish) uchun DNK sifati birmuncha yaroqsiz.

2. STAV usuli. Bu usulni qo‘llab o‘simlik to‘qimasidan genom DNKsi ajratish anchagina samarali va sifatlidir. Barcha o‘simlik turlaridan DNK larini ajratish mumkin. Ishlatilayotgan reagentlar inson salomatligi uchun xavfsiz va boshqa usullarga qaraganda arzon. YOmon tomoni vaqt ko‘p talab qiladi.

3. KIT (naborlardan foydalanib ajratish) usuli. Bu usul qolgan usullarga qaraganda bir necha bosqichlar reagentlarning bir-biriga mos ravishda qo‘shilishi hisobiga qisqartirilgan. YAxshi tomoni DNK sifatli va juda tez ajratiladi. YOmon tomoni juda qimmat.

Biz tadqiqot ishida g‘o‘zani yosh bargidan genom DNK sini ajratish uchun ancha foydali va ommaviy bo‘lgan STAV usulidan foydalandik. Quyida o‘simliklar to‘qimalaridan genom DNK ajratishning STAV usuli batafsil keltirilgan:

DNK ajratish uchun to‘qima tanlash: Nuklein kislotasi har bir xujayrada mavjud bo‘lib, DNKni xoxlagan to‘qimadan yani xujayralar kam bo‘lgan joylardan xatto xayvon suyaklari, baliq tangachalari yoki daraxt po‘stloqlaridan ajratish mumkin. Har bir xayvon yoki o‘simlik organizm to‘qimalarida DNK bir hilda bo‘ladi. Bazilarida nasil qoldirish xususiyati mavjud bo‘lib, boshqalarida esa suyakli to‘qimaga o‘xshab DNK miqdori kam.

Bundan tashqari shunday to‘qimalar mavjudki, xujayralarida ikkilangan xromosomalar bo‘ladi, shu sababli DNK miqdori boshqa xujayralarga nisbatan ikki baravar ko‘p bo‘ladi. DNK miqdori yog‘ochlashgan daratxga nisbatan uning yosh novdalarida, bargida va o‘simlik urug‘larida ko‘p bo‘ladi. Agar tadqiqotchi oldiga biror-bir mahsus vazifa qo‘yilmagan bo‘lsa, u holda o‘zi uchun shunday to‘qima

olishi kerakki o'sha xujayralari kam va xujayrani o'zi ko'p bo'ladiganlarini, iloji boricha to'qimadan oson ajraladigan, xujayralar esa oqsillar (muskul xujayralar), lipidlar (yog' xujayralar) yoki polisahar idlar (miya xujayralari) bilan to'yinmagan bo'lishi kerak.

To'qimalarni xujayraga maydalash: Ajratib olinishi kerak bo'lgan DNK to'qimasini xujayralarga maydalash uchun uni farfor idishga solinadi va ustiga - 80⁰C suyuq azot quyilib uni chinni tayoq bilan maydalanadi. Mexanik ajratganda to'qima suyuq azot tasirida boshqa-boshqa xujayralarga ajraladi. Natijada bir-biriga bog'lanishni mexanik ajratish uchun kamroq kuch talab etiladi va xujayralar kam jaroxatlanadi. YUqoridagi usul uchun jaroxatlanmagan xujayralar kerak bo'ladi, yaxshisi yangi muzlatilgan to'qimalar bo'lgani maqul, faqat saqlash davrida muzdan eritilmagan bo'lishi kerak.

Yirik molekulalar ajralishi: Azot tasirida bir-biridan ajralgan xujayralar membranasi va uning organoidlarini filtrlash orqali ajratib tashlanadi. Hosil bo'lgan xujayralarni birinchi navbatda lizirlovchi buffer orqali qayta ishlanadi.

Hujayra membrana qobig'i va uning yadrosini eritish uchun 65^oC haroratda 45 daqiqa davomida 2x STAB buferida inkubatsiya qilinadi. Natijada hujayraning barcha organoidlari tashqariga chiqadi va aralashma yopishqoq, cho'ziluvchan, hujayraning oldingi suyuqligiga nisbatan ancha shaffof bo'ladi. Aralashmaning bunday o'zgarishi lizis muvoffaqiyatli o'tganidan darakdir.

Oqsillardan tozalash: DNK ni oqsillardan tozalash uchun probirkaga lizatom bilan xloroform izoamiloviy spirt aralashmasi qo'shiladi. Bizga malumki DNK bilan oqsillar bir-biriga juda mustahkam bog'langan. Oqsillarni aralashmadan olib tashlashning bir necha etaplari mavjud. Misol uchun undan eng osoni denaturatsiya va cho'kma ustiga tuzli aralashma qo'shish.

Bizning sharoitda o'simlik DNK sini oqsillardan holi qilish uchun bir necha daqiqa probirkalarni sentrafuga qilinadi. Bundan so'ng hamma yoki katta-kichik hujayra bo'laklari, parchalangan oqsillar va bosha moddalar cho'kma bo'lib probirka tubiga tushadi. Tarkibida asosan nuklein kislotalar-DNK va RNK bo'lgan

probirkaning ustki qatlamidagi suyuqlik (supernatant) ni boshqa probirkaga olish kerak.

Laboratoriya sharoitida aralashmadagi kerakmas qismlar fenol xloroform bilan olib tashlanadi. Organik aralashma oqsilni o'ziga biriktirib oladi keyin sentrafugadan oldin og'irsuvli aralashma qismi suyuqlikni markazida qoladi. Sentrafugadan keyin xloroform bilan erigan oqsil probirka tubida, DNKli suvli qismi yuqorida joylashgan bo'ladi. Yuqoridagi suyuqlik (supernatant) ni boshqa probirkaga olinadi va ustiga suyuqlikdagi DNK ni ivishi uchun STAB presipitation buferidan qo'shamiz va $+65^{\circ}\text{C}$ haroratli suv hammomida malum soat saqlanadi.

DNK ni RNK dan tozalash: Bundan keyingi jarayonda supernatant tarkibidagi suyuqlikni sentrafugalash yo'li bilan olib tashlanadi. Keyin probirka tubida toza cho'kma olamiz va unga RNKaza qo'shilgan yuqori tuzli bufer bilan qayta ishlaymiz. Bu bosqich molekulyar genetikada juda ham zarur. Supernatant tarkibidagi DNK etarlicha RNK lardan holi bo'lishi shart.

DNK ni cho'ktirish: Probirkadagi suyuqlik ustiga 96% etanol yoki izopropanol qo'shiladi va bu holda DNK kristal holatiga o'tadi. SHu sababli izoprapnol qo'shilgan DNKli suyuqlik sekin astalik bilan -20°C li muzlatkichga ma'lum soatga qo'yiladi. Bunday sharoitda DNK ni ajralib chiqishi ancha tezlashadi. Muzlatkichdan so'ng DNKni sentrafugada cho'ktirib olamiz. Probirkani yuqori qismida xosil bo'lgan suyuqlikni olib tashlanadi va keyingi jarayonga o'tiladi.

DNK ni tuzlardan tozalash va eritish: DNK ni har hil tuzlardan tozalash uchun uni 70% li spirt bilan ikki marta yuviladi. Tuzlardan tozalangan DNK yashilab quritiladi. Quritilgan DNK hech qanday suvda eritilmaydi chunki suv tarkibida nukleazalar bo'lishi mumkin. Bu fermentlar DNK ni jaroxatlab parchalab yuborishi mumkin. DNK ni TE buferda eritiladi. Bunday RNK va har hil tuzlardan tozalangan DNK ni klonlash, PZR va boshqa maqsadlarda ishlatish mumkin.

1. Suyuq azot yordamida 0,2 g muzlatilgan o'simlik namunalari barglari stiril farfor idishlarda gomogen holatiga kelgunga qadar maydalanadi.

2. Gomogenat ustiga 65oS qizdirilgan holdagi 2xSTAB (100mM Tris, 20mM EDTA, 2% STAB, p 8.0) buferidan 2 ml qo'shib va stiril shpatel bilan aralashtiriladi.
3. Gomogen suspenziyadan 700 mkl olinib 2 ml hajmli Eppendorf steril probirkalarga solib chiqiladi va yaxshilab aralashtiriladi.
4. Gomogenat solingan probirkalarni 60 daqiqa davomida 65°C isitilgan suvli hamomda (Thermostatic Circulator 2219 Multitemp II, LKB Bromma, Sweden), har 5 daqiqada aralashtirib turgan holda inkubatsiya qilinadi.
5. So'ngra har bir probirkaga teng hajmda (700 mkl) 24:1 nisbatdagi xloroform/izomil spirit solib chiqiladi.
6. Probirkalar qoploqlari yaxshilab yopilib vorteks uskunasi yordamida 5 daqiqa aralashtiriladi va 10000 marta/da. tezligida 5 daqiqaga sentrifugalanadi (Eppendorf 5417C, AQSH).
7. Probirkalarning tepa qismida hosil bo'lgan suvli qismi (supernatant) dan 600 mkl olib yangi 2 ml steril probirkaga o'tkaziladi.
8. Har bir supernatantning ustiga 0.1 hajmli (60 mkl) 65°C avtoblotda isitilgan 10xSTAB/NaCl (0.7M NaCl, 10% STAB) buferi solinib 5 daqiqa davomida termomikserda yaxshilab aralashtiriladi.
9. YAna bir bor har bir probirkaga teng hajmda (660mkl) 24:1 nisbatdagi xloroform/izomil spirt solib chiqiladi va yaxshilab aralashtiriladi (Mini Vortexer VM-3000 945 301).
10. So'ngra probalar 10000 marta/da. tezlikda 5 daqiqa sentrafugalanadi.
11. Probirkalarning tepa qismida hosil bo'lgan suvli qismi (supernatant) dan 500 mkl olib yangi 2 ml steril probirkaga o'tkaziladi.
12. Har bir probaga 1:1 hajmda (500 mkl) STAB presipitation (50mM Tris, 10mM EDTA, 1% STAB, p 8.0) buferidan solib yaxshilab aralashtiriladi va 65°C isitilgan suvli hamomda 30 daqiqa davomida inkubatsiya qilinadi.

13. Inkubatsiyadan so'ng 14000 martta/da. tezligida 15 daqiqa sentrafugalanadi hamda suvli qismi (supernatant) to'kib tashlanadi.
14. DNK cho'kmasiga esa 500 mkl yuqori tuzli TE (1M /NaCl 10mM Tris, 0.1M EDTA, p8.0) buferidan solib chiqiladi.
15. Probalar cho'kma erib ketgunga qadar aralashtiriladi va aralashma ustiga 0.6 hajm izopropanol (Isopropanol; 2-propanol) spirtidan qo'shilib 1-2 daqiqa aralashtiriladi (Termomixer 5433, Eppendorf, AQSH) va 1 soatga -20°C har oratli (Cool-Lab Freezer, LAB-LINE Instruments Inc., AQSH) muzlatkichga qo'yiladi.
16. So'ngra 15 daqiqa 14000 martta/da. tezligida sentrafugalanadi va suvli qismi to'kib tashlanadi.
17. DNK cho'kmasini 2 martta 1 ml 70% etil spirtida tozalab olinadi. Har safar tozalanganda 14000 martta/da. tezligida 5 daqiqa sentrafugalanadi va cho'kma cho'ktirib olinadi va spirt to'kib tashlanadi.
18. Cho'kma vakum konsentrator (Concentrator 5301, Eppendorf, AQSH) da 45°C har oratda quritiladi va qurigan DNK cho'kmasi 200 mkl TE(10mM Tris p 8.0, 1mM EDTA p 8.0) buferda eritiladi.

Har bir namunadan ajratib olingan genom DNKlari 0,9% li agarozaga gelida elektroforez qilindi va ularning konsentratsiyasi vizual tarzda aniq konsentratsiyali λ fag DNKsiga taqqoslanib aniqlandi. Ularning konsentratsiyasi ishchi konsentratsiyaga (25 ng./mkl) olib kelindi va muzlatilgan holda -20°C haroratli muzlatgichda saqlandi.

2.5. Elektroforez usuli yordamida DNK va PZR masulotlarini tekshirish.

Elektroforez usuli jarayoni: Bilogik yirik molekulalar – bular oqsil, nuklein kislota, polisaharidlarning suyuqlikdagi zarra ko'rinishida bo'lib, ular o'zining shakli jihatidan kolloid zarralariga mos bo'ladi. Ularda elektrolitik ajralish xususiyatiga ega bo'lgan gurupalar mavjudligi sababli ular ma'lum elektr zaryadiga ega. Nuklein kislota

shaklida ularning zaryadlari fosfor guruhlarining ajralishi (dissotsiyalanish) hisobiga bo'ladi. SHuning uchun DNK neytral va ishqoriy muhitda manfiy zaryadga ega bo'ladi.

Zaryadlangan zarralar elektr maydon ta'sirida katod yoki anod bilan aralashishi, jami zaryadlangan zarralarning qanday belgili (+,-) zaryadlanganligiga bog'liq bo'ladi. Bu xodisa elektroforez deb nomlanadi. Zarralarning harakatlanish tezligiga (sm/s), $1v/sm$ elektr maydoni ta'siri natijasida gelda DNK/RNKlarning harakatlanish yuzaga keladi. Uning o'lchami 2 sm c-1 v-1 bo'ladi, a belgisi jami zaryadlangan zarralarning belgisi bilan mos bo'ladi. Zarralarning harakatidagi farq analitik yoki preparativ maqsadlardagi qorishma moddalarining bo'linishiga hizmat qiladi. Elektroforez harakatlanishni aniqlash shuningdek moddalarning harakteristikasini aniqlashda ham foydalaniladi. Elektroforez vaqtida, analiz qilinayotgan zarralar harakat tezligi, bo'yovchi moddani siljishini kuzatish yo'li bilan aniqlanadi.

Har hil turdagi elektroforez asboblari 2 ta elektron idish va asosini taminlab turuvchi asbob (qog'oz, kraxmal, agaroz va akrilamid gel) imkon qadar ikki idish orasida bo'lishi kerak. Odatda elektrodlar sifatida plastina simlardan foydalaniladi.

Agoroz gelidagi DNK elektroforezi: Agoroza gelidagi DNK elektroforezi DNK qismlarini tozalash va indintifikatsiyalash, bo'linishida ishlatiladigan standart usuldir. Sotuvda mavjud bo'lgan agar moddasini turli suv o'tlaridagi xujayra membranasidan ajratiladi. Uni tarkibida 2ta polisaharid yani agaroza va agropektin mavjud. Bu polisaharidlarni bir biridan atsitirlash orqali oson ajratish mumkin. Agoroza suvda qaynatilishi yoki mikroto'lqinli pechda qizdirilishida suyuq aralashmada eriydi va u suyuqlikning harorati $40oC$ gacha tushganda ham suyuq holatda bo'ladi. SHundan so'ng tez suratda quyushadi va u $38oC$ haroratga tushganda qotadi. SHundan so'ng agoroza gelini yana qizdirish orqali eritish

mumkin. Agarozaga geli mexanik baquvvat, arzon, toksik bo'lmagan modda. Agarozaga geli har xil o'lchamdagi g'ovakliklardan iborat bo'lib, ularning o'rtacha radiusi gelning konsentratsiyasiga bog'liq. DNK va RNK bo'linishida agarozaga geli molekulyar elak vazifasini o'taydi. U tekshirilayotgan polinukleotidlarni ajralishida nafaqat ularning og'irligini balki polinukleotid molekula holati 1 yoki 2 zanjirdan tuzilganligi, DNK molekulasining to'g'ri yoki halqali shaklda ekanligini aniqlashda yordam beradi. Gelda DNK ni bo'linish holatini to'g'ridan-to'g'ri kuzatish mumkin. Buning uchun gelda DNK chiziqlarini ko'rish uchun past konsentratsiyali etidium bromid moddasi bilan bo'yaladi. Hozirgi kunda agarozaga geli ko'pincha gorizantal ko'rinishida ishlatiladi. Bu usulning 4 ta qulayligi mavjud.

1 Agarozaga gelini past konsentratsiyalarini ishlatsa bo'ladi. Chunki barcha gel tagida tayanch bo'ladi.

2 Gelnı turli o'lchamdagi shakilda tayyorlash mumkin.

3 Gelnı ishlatish va saqlash oson.

4 Gel elektroforezni qimmat bo'lmagan qo'lbola qurilmalarda ham ishlatsa bo'ladi.

DNK ni gorizantal agarozaga geli plastinkalarida elektroforez qilish usuli molekulyar genetikada va biokimyoda ko'p ishlatiladi. Chunki bu usuldagi reagentlarni topish qulay, usulning oddiyligi va qurilmalarning arzonligi juda kam miqdordagi tozalanmagan ashyodan etarlicha ma'lumot olish mumkin. Agarozaga gelidagi elektroforezda DNK ning ko'chish tezligi quyidagi parametrlarga bog'liq.

a) DNK molekulasi o'lchami. Qo'sh zanjirli DNK ni tezligi uning molekulyar og'irligi logarifmiga teskari proporsional.

b) Agarozaga konsentratsiyasi DNK bo'laklarining kattaligiga qarab har hil konsentratsiyadagi gellarni ajratish mumkin.

2.1. jadval

Agaroza miqdori	DNK bo‘linishini % dagi effektivligi, kb
1.6	20-1
0.7	10-0.8
0.9	7-0.5
1.5	4-0.2
2	3-0.1

v) elektr maydonning kuchlanishi. Past kuchlanish DNK qismlari tezligiga qo‘yilayotgan quvvatga to‘g‘ri proporsional. Lekin kuchlanish ko‘paytirilgani sayin elektr maydonda DNK tarkibidagi og‘irligi katta qismlar harakatlanishi differensial oshadi va agoroza gelidagi DNK bo‘linish foydaliligi kamayadi. 6 v/sm kuchlanishda DNK qismlar ajralishi yaxshiroq bo‘ladi.

g) Harorat. Odatda elektroforez xona haroratida ishlatiladi, lekin 0.5% li agoroza gelida 4oC haroratda ishlagan ma’qul.

Agoroza gelini tayyorlash: 1) 0.9 % li agoroza gelini tayyorlash uchun 0.9 gramm agoroza kukuni 100 ml o‘lchangan 0.5×TVE buferida eritiladi.

2) Qorishmani mikroto‘lqinli pechda agoroza eriguncha qizdiriladi.

3) Erigan eritmani 50oC haroratgacha sovitiladi va 5mkl etidium bromid qo‘shiladi. Elektroforez jarayonida etidium bromid mavjudligi uchun qo‘sh zanjirli DNK harakatchanligi 15 % kamayadi, lekin bu jarayonni o‘sha vaqtda yoki ajralish tugaganda UB (ul’tra binafsha) nurlarida ko‘rish imkoniyatini beradi. DNK ni etidium bromidsiz elektroforez qilish kerak bo‘lsa uni gelga oldindan qo‘shilmaydi. Bunday holda DNK ajralishi tugagandan keyin agoroza geli plastinkasini etidium bromidli suvga solib bo‘yab olinadi.

4. Agarozali iliq eritmani iqtisoslashgan qo'lbola yoki mahsus shaklli idishlarga quyiladi va idishning yuqori tomonidan boshlab uyachalar hosil qiluvchi mahsus taroq uskunasi gelga kiritiladi. Gel qotgandan so'ng taroqcha olib tashlanadi va uning o'rnida teshikchalar xosil bo'ladi. Keyinchalik shu teshikchalarga tekshirilayotgan DNK lar qo'yiladi. Teshikchalarning tubida 0.5-1 mm qalinlikdagi agoroza geli qolishi kerak.

5. Gel butkul qotishi uchun uni xona haroratida 20-30 daqiqa qoldiriladi, so'ngra gel elektroforez kamerasiga solinadi.

6. Elektroforez kamerasiga kerakli miqdorda elektroforez bufferi quyiladi, buferni shunday quyish kerakki gel yuzasi 1 mm qalinlikdagi buffer bilan qoplanishi kerak. Elektroforez uchun odatda 50 Mm p- 7.5-7.8 konsentratsiyali muhitga ega, tarkibida tris atsetat, tris barat, tris fosfat mavjud bo'lgan buferdan foydalaniladi. Odatda ularni 5x-10x marta suyultirilgan ko'rinishida tayyorlanadi va xona haroratida saqlanadi. Bu tadqiqot ishida elektroforez jarayonini tris barat EDTA (TBE) tarkibli buferidan foydalaniladi. U katta buffer sig'imiga ega va u DNK qismlarini yaxshi ajralishini taminlaydi. 5x martta suyultirilgan 1 l TBE tayyorlash uchun 54gr tris, 27.5 bor kislota, 20 ml 0.5 M EDTA kerak.

7. DNK ni ajralishini gelda kuzatish uchun DNKni gelga quyishdan oldin uni rang beruvchi brom fenol ko'ki yoki kisotsionol bilan aralashtiriladi. Unga uch yuqori konsentratsiyali moddalardan glitsirin, saharoza yoki fikol qo'shilgan bo'ladi. Buni elektroforez jarayonida gelga DNK ni kiritganda uni gelda quyiqiligini oshirish maqsadida qilinadi. Aralashma (DNK + brom fenol ko'ki) astalik bilan mikro pipetman yordamida gel chuqurchasiga quyiladi. YUqoridagi barcha ishlar bajarilgandan keyin elektroforez kamerasini doimiy tok manbaiga ulanadi. DNK molekulasi (-) zaryadga ega ekanligi uchun anod tomonga yuradi.

Odatda buffer 6-10x martta suyultirilgan shaklida bo'ladi. Tadqiqot ishida brom fenol ko'kini DNK bilan aralashtirish uchun quyidagi tarkibli

buffer ishlatildi. 0.25% brom fenol ko'ki, 0.25% ksiloitsionol, 30% glitsirin va N2O. Bu tayyor buferni biz odatda 5ml DNK ga 1ml buffer qo'shildi. Gel chuqurchalariga bir hil midorda tushmagan yoki katta midorda kiritilgan DNK elektroforez jarayonida kuchlanishni kamaytiradi, natijada hosil bo'lgan DNK chizig'ini notekis ko'rinishda bo'ladi. Gel chuqurchasiga maksimal 5-10 ml DNK 200-500 ng bo'lishi mumkin.

8. DNK elektroforez jarayoni davomiyligi turlicha bo'ladi. Uni davomiyligi bromfenol ko'ki agaroz gelida uni oxirgi tomoniga borguncha davom etadi. Buni vaqt bilan o'lchaganda 30-40 daqiqa bo'lishi mumkin.

9. Agoroza geli plastinkasini elektroforez kamerasidan olinadi va UF nurlari ostida ko'rib chiqiladi. Ba'zida DNK ni konsentratsiyasi juda kamligi tufayli u gelda xira ko'rinishi mumkin. Bunday xolatlarda gelni takroran xona haroratida etidium bromidli suvda 2-3 daqiqa qoldiramiz. Agoroza gelida DNK ni kuzatishni qulay usuli uni etidium bromid bilan bo'yashdir. Etidium bromidning molekulasi DNK asosidagi birikmalar orasida yassi gurux xosil qiladi. Buning natijasida DNK bilan bog'langan rang beruvchi UB nurlarining 590 nm spektri ta'sirida qizg'ish rangda ko'rinadi. Tadqiqot ishida DNK ni ko'rishda Alpha Imager T^M 3400 qurilmasidan foydalanildi.

Elektroforezda kerak bo'ladigan bufer va gellar, ularning tayyorlanishi va tarkibi.

Kerakli reagentlar:

- Urea (mochevina)
- 40% Akrilamid
- 10xTBE Steril DEPCda tayyorlangan
- 1xTBE Steril DEPCda tayyorlangan

Kerakli asbob-uskunalar:

- 50 ml steril flakon
- Elektron tarozi
- Vertikal elektroforez qurilmasi
- Pepetman
- Konchiklar (100, 200 va 1000 mkl)

- Steril DEPC (Dietil pirokarbonat)
- TEMED
- Probirka (2000 mkl)
- Salfetka

15 % PAG (poleakrilamid gel)	50 ml
1. Urea (mochevina)	21 gr
2. 40% Akrilamide	18.75 gr
3. steril DEPCda tayyorlangan 10xTBE	5 ml
4. 0.1 % steril DEPC	50 ml ga yetqaziladi
5. TEMED (!!! TEMED kristal hosil qilmasligi uchun gelni qolipga quyishdan 1-2 daqiqa oldin qo'shiladi)	60 µl
6. PSA (!!! PSAni qo'shgach gel darhol qotadi, shuning uchun gelni aralashtirib shu zahoti qolipga quyiladi)	300 µl

40 % akrilamid	100 ml
1. Akrilamid	38 gr
2. Bis akrilamid	2 gr
3. 0.1 % steril DEPC	100 ml ga yetqaziladi

10xTBE Steril DEPCda tayyorlangan	1000 ml	500 ml
4. 0.1 % Steril DEPC	800 ml	350 ml
5. Tris (Trizma) Base	121 gr	60.5 gr
6. Borniy kislota (Boric Acid)	55 gr	27.5 gr
7. EDTA	7.44 gr	3.72 gr
0.1 % Steril DEPC suvi bilan 1000 ml (500 ml) ga yetkaziladi.		

0.1 % DEPC	1000 ml
dH ₂ O	1000 ml
DEPC	1 ml
AVTOKLAV	

PSA (Persulfat ammoniy)	1 ml
PSA	50 mg (0.05 gr)
0.1 % Steril DEPC	1 ml

1xTBE Steril DEPCda tayyorlangan	1000 ml
10xTBE	100 ml
0.1 % Steril DEPC	900 ml

2.6. Polimeraza zanjirli reaksiyasi

Har bir namunadan ajratib olingan genom DNK lari 0.9% agoroza gelida elektroforez usuli yordamida tekshirib olingandan so'ng, polimeraza zanjir reaksiyasi qo'yiladi. Polimeraza zanjirli reaksiyasi (PZR) birinchi marta 1983-yilda K. Myules maqolalarida yozilgan bo'lib, DNK molekulasining u yoki bu bo'laklarini ularga komplementar bo'lgan 21-24 ta nukleotid uzunligidan iborat bo'lgan oligo nukleotid (praymer) yordamida ko'paytirish (amplifikatsiya) ga xizmat qiladi.

Genotiplash uchun mikrosatellit markerlar bibliotekasidan hamda g'o'za genetik haritalaridan foydalanib 100 yaqin SSR (10 JESPR SSR, 25 TMB SSR, 15 GH SSR, 20 BNL SSR, 10 CIR SSR, 15 NAU SSR) markerlari ishlatildi. SSR praymer juftlari International DNA Technologies (IDT, AQSH) firmasidan olingan.

PZR reaksiyasi (xot-start dasturi) 10 mkl xajmda quydagi tartibda amalga oshiriladi:

10 x PZR bufer (magniy xloridli)	1 mkl
BZA	0.2 mkl
25 mM dNTP aralashmasi	0.1 mkl
To‘g‘ri yo‘naltirilgan praymer	0.5 mkl
Teskari yo‘naltirilgan praymer	0.5 mkl
Tak polimeraza -5 birl./mkl	0.2 mkl
Genom DNKsi	1 mkl
Distirlangan suv	6.5 mkl

Amplifikatsiya 45 bosqichdan iborat xot-start dasturida quydagi harorat rejimlarida amalga oshiriladi;

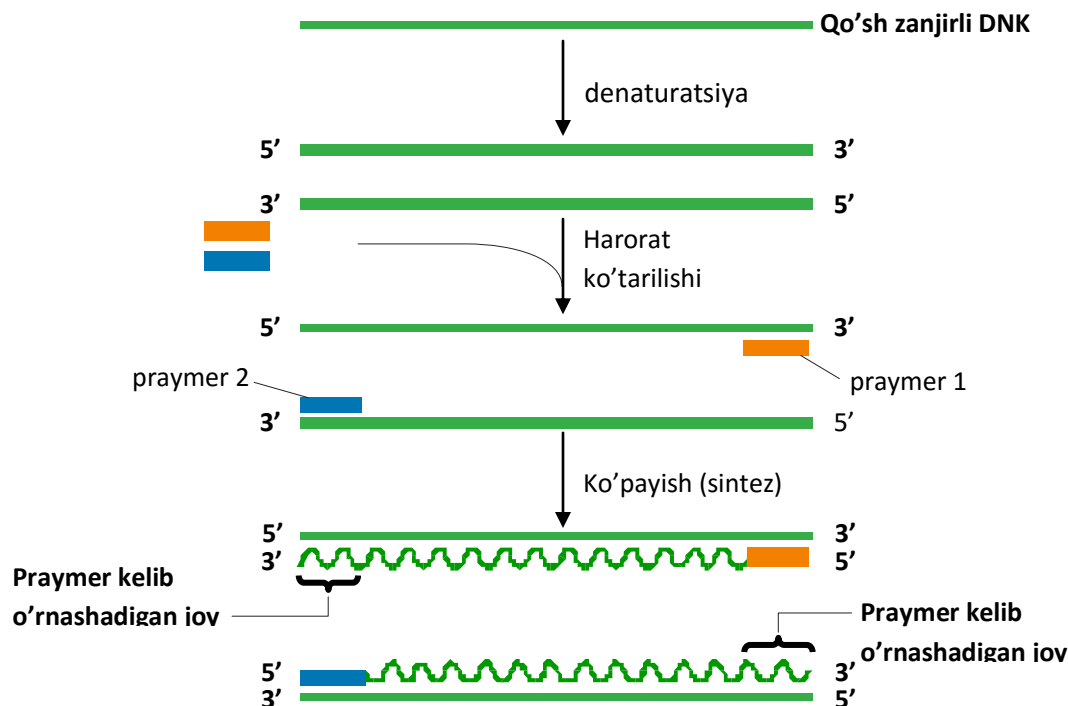
Birinchi denaturatsiya 95 °C 3 daqiqa bo‘lib, bu bosqich reaksiyaning boshlanishida bir marta amalga oshadi, so‘ng quyidagi 3 jarayon:

Denaturatsiya 94 °C 20 soniya

Praymerlarni DNK bog‘lanish darajasi ± 50 °C 30 soniya

Elongatsiya 72°C 50 soniya

45 bosqich davomida takrorlanadi va elongatsiya jarayonini to‘liq kechishini ta‘minlash uchun qo‘shimcha yakunlovchi elongatsiya jarayoni 72°C 5 daqiqa davom etishi bilan PZR reaksiyasi yakunlanadi.



2.1-rasm: Polimeraza zanjirli reaksiyasi

2.7. Genotiplash va kompyuter tahlillari.

Mikrosatellit genotiplash Reddy va boshqalar usuliga muvofiq amalga oshiriladi. Ona o'simlik genotipiga o'shash genotip – a, ota o'simligi genotipiga o'shash genotip – b, getrozigota xolatidagi genotip – h deb belgilanadi. SSR allellari o'lchami har bir qadami 25 j.a. bo'lgan molekulyar markerlarga asoslanib aniqlanadi [57].

Genotipik va fenotipik ma'lumotlar korrelyatsiyasi «Kruskal-Wallis» MapQTL@4.0 dasturining noparametrik testi hamda interval kartalashtirish usuli yordamida amalga oshirildi. Markerlarning birikkanlik guruhlarini aniqlash tahlillari esa faqatgina LOC fayllari kiritilgan JoinMap 3.0 dasturi ko'magida bajarildi [69].

Tibbiyot, qishloq-xo'jalik va hayvonlarni tadqiq qiladigan olimlarga qiziqarli bo'lgan asosiy belgilar har doim o'zgarishda va murakkab irsiylanish xususiyatiga ega. Bunday murakkab belgilarni DNK ga asoslangan markerlar bilan analiz qilinadi va bu MBL (QTL) deb nomlanadi. An'anaviy MBL analizida, ikki

ota-ona o‘simlikdan olingan G‘2, bekkross populyasiyalari, RILs, bekkross inbred liniyalar va qo‘sh gaploidli liniyalar keng miqyosda foydalanadi.

Shuningdek, introgressiya va izogenik liniyalar ham QTL analizlarida foydalanadi. Biroq, bunday populyasiyalar G‘1 avlodida sodir bo‘ladigan asosan rekombinatsiya hodisasi asosida yotadigan katta cheklovlarga ega va faqatgina ota-onalarda mavjud bo‘lgan juft allellarni kartalashtiradi. QTL analizlarda epistazga o‘xshash ko‘pgina lokuslarni murakkab ajralishini oldini olishda introgressiya va izogen liniyalardan ham foydalaniladi. Bunda xromosomaning kichik bir bo‘lagi donor liniyadan retsipient ona o‘simlikka o‘tkaziladi. Izogen liniyalarning rekombinant inbred liniyalarlardan qulayligi bu rekombinant inbred liniyalarda aniqlab bo‘lmaydigan kichik QTL larni ham aniqlash imkoniyatini mavjudligidadir [48].

3-BOB.OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI.

3.1. Tola uzunligi belgisi bo‘yicha yaratilgan F2 avlod duragaylarida fenotipik kuzatuvlar hamda texnik tahlillar natijalari.

Tola uzunligi belgisi bo‘yicha populyasiya yaratish ishlari Genetika va O‘simliklar Eksperimental Biologiyasi (G va O‘EB) institutida boshlangan (ilova-6). Tadqiqot maqsadlariga ko‘ra *G.barbadense* L. Turining Ash-143B (Turkmaniston) navi bilan *G.hirsutum* L. All in one (AQSH) navlari o‘zaro chatishtirib F2 avlod duragaylarida mikrosatellit markerlari yordamida kartalashtirildi.

Ushbu liniyalarni chatishtirib olingan urug‘lar F1 avlod o‘simliklari olish uchun o‘stirildi va o‘z-o‘zidan changlatish ishlari olib borildi. F1 avlod duragaylari F2 avlod duragay o‘simliklari olish maqsadida tajriba dalasida o‘stirilib fenotipik kuzatuvlar va genetik tahlillar olib borildi (ilova-7).

SHuningdek, tajribaning to‘liq bo‘lishini ta‘minlash maqsadida nazorat o‘simligi sifatida boshlang‘ich namunalari (ota-ona shakllari) hamda birinchi avlod (F1) duragaylari ham kombinatsiya yoniga ekildi.

O'tkazilgan agrotexnik tadbirlar. Tajriba o'tkazilgan maydonlardagi agrotexnik tadbirlar markaz olimlari tomonidan ishlab chiqarilgan, O'zbekistonda g'oz ekinini etishtirish bo'yicha tavsiyanomasi asosida olib borildi va agrotexnik tadbirlar ko'yidagicha bajarildi. Tajriba maydonini 25-30 sm chuqurlikda kuzgi shudgorlandi. Bahorda er chizel, borona, mola qilindi.

Sifatli tozalangan va saralangan urug'lar ekildi. Ekish qo'lda o'z vaqtida muqobil muddatda o'tkazildi. Seleksiya ko'chatzoridagi ekinlar ikki yoki uch marta yagona qilinadi. Bizning tajribamizda har bir uyaga 2 tadan chigit ekildi, unib chiqqandan so'ng birorta o'simlik ham yulib tashlanmadi faqat kasallangani yulib olinib tajriba maydonidan tashqariga chiqarib tashlandi. Sug'orish ishlari o'z vaqtida va me'yorida 2-marotaba bajarildi. O'simliklarni begona o'tlardan tozalash uchun 3 marta kultivatsiya qilindi. Mineral o'g'itlar solindi va har bir muddat bo'yicha o'z vaqtida chopiq ishlari bajarildi.

Pishib etilgan ko'saklarni chatishtirishdan so'ng osilgan qog'oz birkalardagi yozuvlarga qarab alohida-alohida qilib terib olindi. Chatishtirilmagan, kasallik tushgan, o'simliklar hosili alohida bitta qopga terilib, ekishga yaroqsizlari alohida saqlanadi. Erdagi hosil yig'ib olgandan so'ng kuzgi shudgorlash ishlari bajariladi.

Tajribalar o'tkazilgan dalada mineral o'g'itlar bir gektar hisobiga N-60kg, P-120kg, K-80kg dan qilib oziqlantirildi, kichik bo'lakchalarga fosfor va kaliy o'g'iti qo'lda sepildi, (ekishdan oldin yillik me'yordan 100% fosfor, 50% kaliy), qolgan 50% azot mineral o'g'iti o'simlikning gullash fazasida berildi.

Havodagi foydali havo harorati yig'indisi bo'yicha O'zbekistondagi qishloq xo'jalik ekinlarni sug'oriladigan mintaqalarda etishtirish bo'yicha shartli ravishda 3 ta guruxga ajratilgan (bunda 10 gradusdan yuqori sutkalik o'rtacha harorat hisoblangan). Toshkent viloyatining iqlimi ham keskin kontinental bo'lib, yozi nihoyatda issiq, qishi esa sovuq, hamda havosi quruq va tabiiy yog'ingarchiliklar o'simliklar o'sib rivojlanishi uchun nixoyatda kamligi bilan ta'riflanadi. Duragay o'simliklar keyingi avlodni olish maqsadida o'z-o'zidan changlatib chatishtirildi. Sentyabr boshlarida har bir o'simlik ustida alohida fenotipik kuzatuvlar olib

borildi. Bunda, asosan, ko'sak shakli va soni, barg shakli, poyaning tuklangani yoki tuklanmaganligi, o'simlik bo'yi (past, o'rtacha, baland), antatsion kuyishning mavjudligi, shoxlanishi (simpodial va monopodiyalar shoxlar soni), birinchi simpodial shoxning joylashuvi (hs), tup shakli kabi belgilar qayd qilib qo'yildi (3.1.-jadval).

3.1. - jadval.

Tanlab olingan ba'zi genotiplarning fenotipik kuzatuv natijalari

Namunalar	Tup shakli	Bo'yi (sm)	M o n o p o d i a l s h o x l a r	S i m p o d i a l s h o x l a r	hs	Sh o x l a n i s h t i p i	K o ' s a k s o n i	Barg shakli	Ko'sak shakli	Antatsion kuyish	Tuklanish
Ash-143B (G.barb.)	silindrsimon	110	1	10	5	1-2	20	3-5	ovolsimon	o'rtacha	kuchli
All in one (G.hirs.)	konussimon	95	2	14	6	1	28	3-5	tuxumsimon	o'rtacha	o'rtacha
F1	silindrsimon	105	3	16	6	1-2	32	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
1	silindrsimon	100	1	11	6	1-2	28	3-5	ovalsimon	Kuchli	o'rtacha

2	silindrsimon	98	-	11	5	1-2	17	3-5	tuxumsimon	o'rtacha	o'rtacha
3	silindrsimon	96	1	11	6	1-2	24	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
4	silindrsimon	105	-	12	5	1-2	29	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
5	konussimon	100	-	12	5	1	26	3-5	sharsimon	Kuchli	o'rtacha
6	konussimon	98	-	12	4	1	28	3-5	ovalsimon	Kuchli	o'rtacha
7	konussimon	110	-	16	5	1	35	3-5	sharsimon	o'rtacha	o'rtacha
8	silindrsimon	108	1	16	4	1-2	38	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
9	konussimon	106	1	12	7	1	25	3-5	tuxumsimon	Kuchli	o'rtacha
10	silindrsimon	104	-	14	6	1-2	28	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
11	konussimon	102	1	13	6	1	25	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
12	konussimon	105	1	15	5	1	34	3-5	tuxumsimon	o'rtacha	o'rtacha
13	konussimon	97	1	13	6	1	30	3-5	sharsimon	o'rtacha	o'rtacha
14	silindrsimon	102	1	14	4	1-2	29	3-5	sharsimon	o'rtacha	o'rtacha
15	konussimon	98	3	12	4	1	17	3-5	tuxumsimon	Kuchli	o'rtacha
16	silindrsimon	95	-	10	6	2	15	3-5	tuxumsimon	Kuchli	o'rtacha
17	konussimon	105	-	13	6	1	18	3-5	ovalsimon	o'rtacha	o'rtacha
18	silindrsimon	102	1	14	5	1-2	19	3-5	ovalsimon	Kuchli	kuchli

	mon								mon		
19	silindrsi mon	100	-	11	5	1-2	14	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchli
20	silindrsi mon	90	-	9	5	2	14	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchli
21	konussi mon	98	-	12	7	1	18	3-5	tuxums imon	Kuchsiz	kuchli
22	silindrsi mon	108	-	14	6	2	28	3-5	sharsim on	Kuchsiz	kuchli
23	silindrsi mon	102	-	10	4	1-2	17	3-5	sharsim on	o'rtacha	o'rtacha
24	silindrsi mon	103	1	12	4	1-2	20	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchsiz
25	silindrsi mon	105	-	14	5	1-2	29	3-5	tuxums imon	Kuchsiz	kuchsiz
26	konussi mon	106	-	14	6	1	34	3-5	sharsim on	o'rtacha	o'rtacha
27	silindrsi mon	102	1	12	4	1-2	20	3-5	tuxums imon	o'rtacha	o'rtacha
28	silindrsi mon	103	1	14	6	2	29	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
29	Silindrsi mon	102	1	14	5	1-2	31	3-5	Ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
30	silindrsi mon	98	1	12	6	1-2	21	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchsiz
31	konussi mon	100	-	11	6	1	16	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
32	silindrsi mon	102	2	13	7	1-2	22	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
33	silindrsi mon	112	2	17	6	1-2	36	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
34	silindrsi mon	105	1	14	7	2	21	3-5	tuxums imon	o'rtacha	o'rtacha

35	silindrsi mon	103	2	11	6	1-2	15	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
36	silindrsi mon	85	1	9	7	2	14	3-5	tuxums imon	Kuchli	kuchsiz
37	konussi mon	101	-	11	6	1	15	3-5	tuxums imon	Kuchli	kuchli
38	silindrsi mon	107	-	15	6	2	26	3-5	ovalsi mon	Kuchli	kuchli
39	silindrsi mon	105	-	14	7	1-2	23	3-5	tuxums imon	Kuchli	kuchli
40	silindrsi mon	80	-	8	6	1-2	12	3-5	ovalsi mon	Kuchli	kuchli
41	silindrsi mon	95	-	11	7	1-2	15	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
42	silindrsi mon	105	2	15	5	1-2	25	3-5	tuxums imon	Kuchli	kuchli
43	silindrsi mon	90	-	9	6	2	16	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchli
44	silindrsi mon	98	-	10	7	1-2	18	3-5	tuxums imon	o'rtacha	o'rtacha
45	silindrsi mon	100	1	10	6	1-2	20	3-5	tuxums imon	o'rtacha	o'rtacha
46	silindrsi mon	104	1	11	6	1-2	25	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchsiz
47	silindrsi mon	100	-	10	5	1-2	18	3-5	ovalsi mon	Kuchsiz	kuchsiz
48	silindrsi mon	100	-	10	5	1-2	21	3-5	ovalsi mon	Kuchli	kuchsiz
49	konussi mon	102	-	10	5	1	17	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	o'rtacha
50	konussi mon	108	1	14	5	1	26	3-5	ovalsi mon	o'rtacha	kuchli

F2 avlod duragaylari, ota-ona genotiplari hamda F1 duragay o‘simligidan individual terib olingan paxta tolasini chigitidan ajratilib 20 g dan tola tolaning sifat ko‘rsatkichlarini aniqlash maqsadida O‘zbekiston tola sifatini sertifikatlash “SIFAT” markazida tahlil qilindi (3.1.2. – jadval). Har bir namunadan olingan tola sifati bo‘yicha ma’lumotlar genotipik ma’lumotlar bilan taqqoslanib o‘rganib chiqildi. Tadqiqot uchun olingan ingichka tolali g‘o‘zaning Ash-143B (Turkmaniston) va o‘rta tolali g‘o‘zaning All in one (AQSH) linyalari hamda ularni o‘zaro chatishtirish natijasida olingan 50 ta F2 avlod o‘simliklari va taqqoslash uchun olingan F1 avlod o‘simliklarining tola sifatini aniqlash maqsadida tola namunalari HVI uskunasi tahlil qilindi (jadval 3.2). Tahlil natijasiga ko‘ra donor Ash-143B (G.barbadense L.) linyasining mikroner ko‘rsatkichi 3,8 tola uzunligi (len) bo‘yicha 1,32 dyuym retsipient All in one (G.hirsutum L.) linyasining mikroner ko‘rsatkichi 4,6 tola uzunligi (lengis) bo‘yicha 0,97 dyuym ga teng bo‘lgandi. 50 ta F2 avlod o‘simliklarida esa o‘rtacha mikroner ko‘rsatkichi 4,1 (mak/min 3,0-5,2) va tola uzunligi (len) bo‘yicha 1,15 dyuym (mak/min 1,28-1,08 dyuym)ga teng bo‘ldi. SHu bilan birga F1 avlod o‘simliklarining mikroner ko‘rsatkichi 4,5 va tola uzunligi (len) bo‘yicha 1,12 dyuym ga teng bo‘ldi. Olingan natijalardan ko‘rinib turibdiki 50 ta F2 avlod o‘simliklarida tola uzunligi ko‘rsatkichi bo‘yicha ota-ona o‘simliklariga nisbatan yuqoriroqdir. SHulardan eng yaxshi ko‘rsatkich tola uzunligi (len) bo‘yicha 14-raqamli o‘simlikda, eng past ko‘rsatkich esa 23-raqamli o‘simlikda, mikroner ko‘rsatkichi bo‘yicha eng yaxshi ko‘rsatkich 22-raqamli o‘simlikda, eng past ko‘rsatkich esa 37-raqamli o‘simlikda namoyon bo‘ldi.

3.2. - jadval.

Tanlab olingan ba’zi genotiplarning tola sifat ko‘rsatkichlari
natijalari

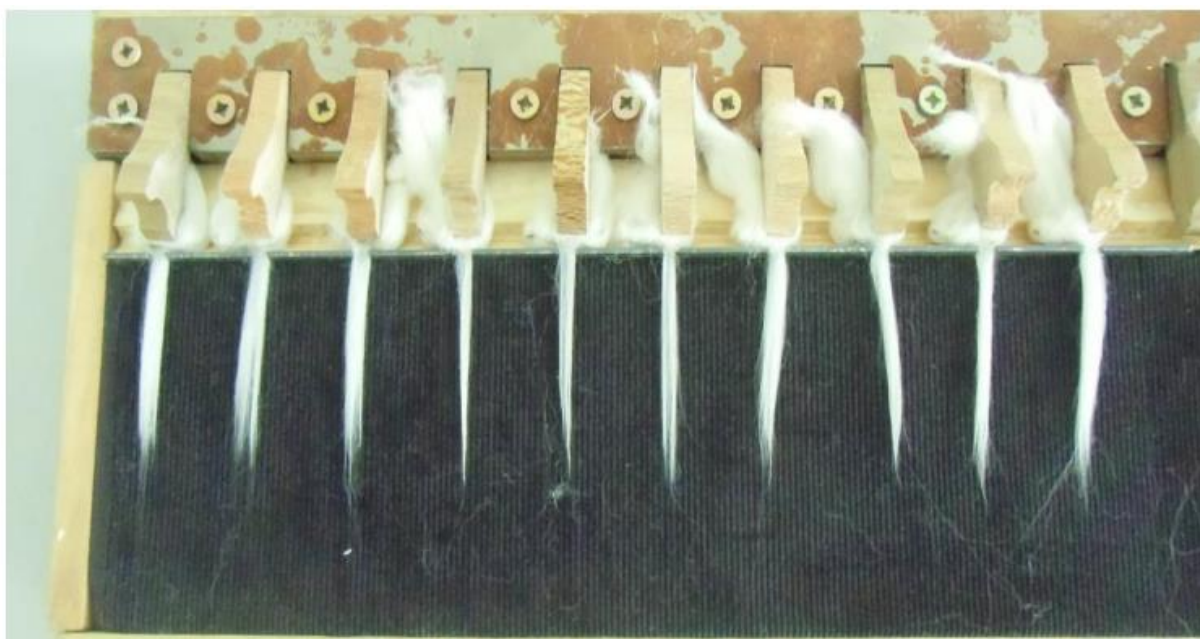
	Mic	Str	Len	Unf	SFI	Elg	T	Cnt	Area	CG	Rd	+b
--	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---	-----	------	----	----	----

Namunalar												
Ash-143B (G.barbadense L.)	3,8	41,0	1,32	85,1	3,5	11,4	1	4	0,1	21-1	81,4	8,3
All in one (G.hirsutumL.)	4,6	28,7	0,97	82,0	10,5	6,8	2	5	0,2	21-1	79,4	9,0
F1	4,5	26,6	1,12	82,9	6,2	9,0	1	6	0,1	11-2	81,7	8,5
1	4,1	31,6	1,14	83,9	5,6	9,2	1	4	0,1	11-2	82,3	8,4
2	4,1	32,4	1,16	85,0	<3.5	9,3	2	4	0,2	11-2	82,4	8,6
3	4,1	31,1	1,14	83,4	5,8	8,3	1	8	0,1	11-2	81,4	8,5
4	4,6	29,6	1,09	82,7	5,7	7,1	0	6	0,0	21-1	80,3	8,4
5	4,5	30,3	1,09	83,6	6,0	7,2	0	0	0,0	21-1	81,3	8,3
6	4,2	32,7	1,12	83,9	3,9	9,0	1	6	0,1	11-1	82,5	8,9
7	4,0	29,5	1,09	82,8	6,1	8,0	0	1	0,0	11-2	81,0	8,7
8	4,5	32,4	1,11	85,4	<3.5	9,1	1	6	0,1	11-2	80,8	9,0
9	3,7	34,1	1,13	85,9	<3.5	10,3	1	6	0,1	11-1	82,7	8,8
10	3,0	37,8	1,17	85,3	<3.5	9,9	1	2	0,1	21-1	82,4	7,9
11	4,0	33,0	1,11	83,3	5,0	8,9	0	4	0,0	21-1	80,3	6,4
12	4,2	31,4	1,10	84,1	4,6	9,0	2	12	0,2	11-2	80,5	8,9
13	3,3	33,0	1,16	83,8	4,1	8,4	0	4	0,0	11-2	81,8	8,8
14	3,8	36,9	1,28	85,8	<3.5	10,5	2	10	0,2	11-2	80,3	9,0
15	4,3	30,6	1,11	82,3	7,3	7,5	1	6	0,1	21-1	80,6	8,5
16	3,7	31,7	1,15	84,4	4,4	8,6	0	4	0,0	11-2	81,0	8,9
17	4,0	33,2	1,13	84,3	4,4	8,2	2	8	0,2	11-2	81,1	8,7
18	3,7	36,9	1,26	85,6	4,3	11,3	1	6	0,1	21-1	80,7	8,6
19	3,6	34,1	1,18	85,2	3,6	8,7	0	1	0,0	11-2	81,4	8,6
20	4,4	32,4	1,11	84,3	4,5	7,8	1	4	0,1	21-1	80,1	8,9
21	4,1	35,2	1,15	85,2	4,2	9,5	0	1	0,0	21-1	79,9	8,6

22	3,0	34,0	1,09	84,7	5,7	9,0	1	5	0,1	11-2	81,2	9,0
23	3,8	36,0	1,08	84,6	5,4	9,7	0	2	0	21-2	80,2	8,0
24	4,5	35,7	1,14	84,6	4,7	10,9	1	4	0,1	21-2	80,0	8,0
25	4,1	38,8	1,18	83,6	4,6	11,2	1	6	0,1	21-1	80,9	8,6
26	4,6	35,3	1,20	85,0	<3,5	11,3	0	2	0	11-2	81,2	8,8
27	4,3	38,8	1,15	84,8	4,5	11,8	1	6	0,1	21-2	80,0	8,1
28	4,0	37,2	1,19	83,3	4,2	10,9	0	5	0	31-1	80,3	7,1
29	4,0	38,5	1,16	84,2	4,5	11,3	2	4	0,2	31-1	81,2	7,0
30	4,1	39,8	1,21	84,6	<3,5	10,6	0	3	0	21-1	81,9	8,1
31	5,1	36,5	1,17	84,5	4,6	10,0	0	2	0	21-1	80,5	8,6
32	4,9	36,5	1,18	83,3	4,2	11,2	1	4	0,1	21-2	80,5	8,1
33	3,8	36,2	1,15	83,0	7,5	11,6	2	8	0,2	21-2	81,3	7,7
34	3,9	36,5	1,15	82,7	5,8	9,8	2	14	0,2	21-2	80,8	8,0
35	4,6	33,8	1,13	83,6	5,2	10,7	1	6	0,1	31-1	80,2	7,7
36	4,3	41,3	1,15	84,8	4,4	11,1	3	16	0,3	41-1	76,7	7,1
37	5,2	37,8	1,10	84,4	3,8	11,6	0	1	0	21-2	79,6	8,4
38	4,3	38,4	1,14	84,1	6,4	11,5	0	2	0	21-1	81,1	8,2
39	4,1	40,1	1,16	84,6	3,9	10,8	1	6	0,1	21-2	81,1	7,5
40	4,6	37,4	1,17	84,4	4,8	10,7	0	2	0	21-1	61,4	7,8
41	4,9	36,7	1,15	84,0	5,7	10,7	0	2	0	11-2	81,6	8,8
42	4,1	38,8	1,20	84,5	4,4	10,2	0	2	0	21-2	81,1	7,9
43	4,4	38,0	1,17	83,4	5,7	10,8	0	5	0	21-1	80,6	8,5
44	3,8	38,0	1,25	83,2	5,7	12,6	3	10	0,3	21-2	80,9	7,7
45	4,4	38,7	1,17	85,1	3,9	11,7	1	5	0,1	31-1	80,3	7,6
46	3,9	37,4	1,13	83,8	5,2	12,1	4	16	0,4	31-2	78,6	7,3
47	4,3	34,8	1,16	83,1	6,9	12,0	1	4	0,1	21-2	81,3	7,6
48	4,6	35,8	1,16	85,5	4,5	11,5	1	6	0,1	31-2	79,5	7,0
49	4,7	34,5	1,17	84,1	4,4	12,6	1	6	0,1	21-2	80,9	7,6

50	4,4	33,5	1,16	83,1	6,1	10,2	1	5	0,1	21-2	81,1	7,4
----	-----	------	------	------	-----	------	---	---	-----	------	------	-----

Bundan tashqari F2 avlod duragaylari, ota-ona genotiplari hamda F1 duragay o'simligidan individual terib olingan paxta tolasining tola uzunligi mahsus vilvet doskasida o'lchab tahlil qilindi. Har bir namunadan tola sifati bo'yicha olingan ma'lumotlar genotipik ma'lumotlar bilan taqqoslanib o'rganib chiqildi (3.3 – jadval).



3.1. - rasm. Tola uzunligini o'lchash.

Olingan natijalarga ko'ra Ash-143B (Turkmaniston) linyasida tola uzunligi 44,0 mm va All in one (AQSH) linyasida 24,4 mm bo'ldi. Bularni o'zaro chatishtirish natijasida olingan F2 avlod o'simliklarida esa o'rtacha tola uzunligi 32,3 mm (mak/min 40,0-22,0 mm) ga teng bo'ldi. SHulardan eng yaxshi ko'rsatkich tola uzunligi bo'yicha 38-raqamli o'simlikda, eng past ko'rsatkich esa 41-raqamli o'simlikda namoyon bo'ldi. O'rtacha tola uzunligidan

yuqori bo'lgan o'simliklar genotipi tekshirildi va natijada donor allelari bu o'simliklarda namoyon bo'lgan degan xulosaga kelindi.

3.3.– jadval.

Tanlab olingan ba'zi genotiplarning tola uzunligi ko'rsatkichlari

Natijalari

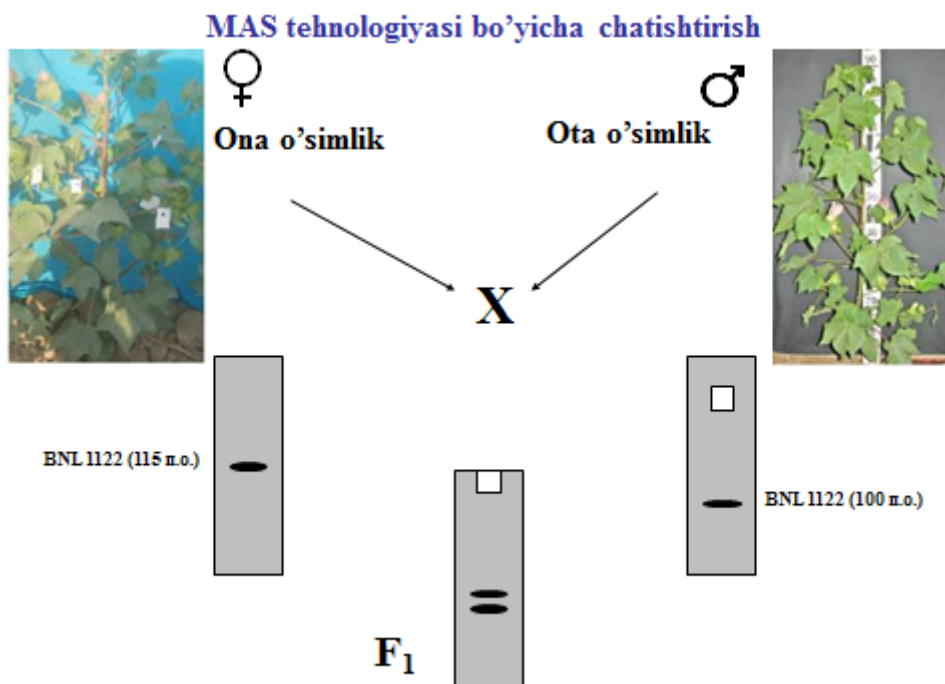
№	Namunalar	O'rtacha tola uzunligi (mm)	№	Namunalar	O'rtacha tola uzunligi (mm)
1	Ash-143B (G.barbadenseL.)	44	37	65	29,7
2	All in one (G.hirsutum L.)	24	38	66	36,0
3	F1 gibridi	36,7	39	68	32,0
4	2	35,7	40	70	31,3
5	3	35,8	41	72	23,0
6	8	33,3	42	73	26,7
7	10	32,7	43	74	31,3
8	11	34,5	44	78	35,7
9	15	32,2	45	79	36,3
10	17	32,5	46	80	36,5
11	18	35,0	47	83	36,8
12	19	32,3	48	84	37,8
13	20	32,3	49	86	29,8
14	21	27,2	50	87	30,7
15	22	36,3	51	88	30,0
16	24	33,0	52	89	31,7
17	25	31,7	53	93	32,5

18	29	29,3	54	94	37,5
19	30	37,8	55	95	31,2
20	34	33,0	56	98	32,2
21	35	26,7	57	99	30,0
22	37	30,2	58	100	31,2
23	38	40,0	59	103	39,3
24	39	34,3	60	104	29,3
25	40	31,3	61	105	35,5
26	41	22,0	62	107	37,7
27	44	36,2	63	108	34,3
28	45	38,2	64	110	36,8
29	46	32,8	65	111	35,5
30	49	31,7	66	113	32,7
31	50	25,8	67	115	37,7
32	54	29,3	68	116	38,2
33	56	34,7	69	117	35,8
34	57	29,3	70	122	35,7
35	60	28,5	71	129	35,0
36	64	36,8	72	130	36,8
73	131	31,7	84	163	32,0
74	132	28,5	85	168	28,5
75	133	26,7	86	169	35,7
76	135	33,5	87	171	34,5
77	136	26,8	88	172	31,5
78	137	36,2	89	173	33,5
79	140	32,0	90	174	32,5
80	145	32,2	91	177	28,3
81	148	37,7	92	178	30,7

82	151	32,0	93	182	30,0
83	160	31,3	94	184	37,7
84	163	32,0	95	186	39,2
85	168	28,5	96	187	32,0

3.2. F2 avlod duragaylarida genotiplash natijalari

Unib chiqqan nihollardan genom DNKsi ajratish uchun nihollik davridayoq barg namunalari yig'ib olindi (ilova-8). F1 duragay o'simligi, ota-ona genotiplari hamda F2 avlod duragay nihollarining har biridan STAV usulida genom DNKsi ajratib olindi. Genom DNKlari elektroforez usuli yordamida 0,9%li Routine agarozda gelida vizualizatsiya qilindi va ularning konsentratsiyasi ishchi konsentratsiyaga olib kelindi (3.2 – rasm).



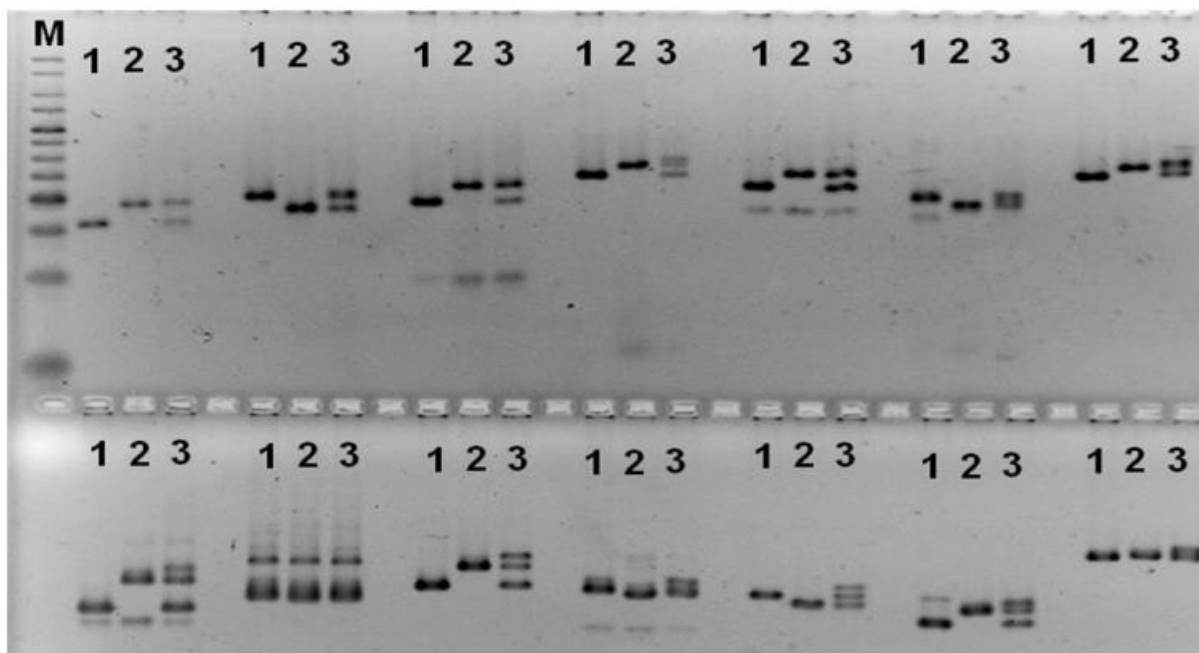
3.2-rasm: MAS texnologiyasi bo'yicha chatishtirish.

Eng avvalo *G.barbadense* L. va *G.hirsutum* L. turlararo chatishtirish uchun tanlab olingan namunalarda, ya'ni ota-ona o'simliklarida 100ga yaqin (10ta JESPR SSR, 25ta TMB SSR, 15ta GH SSR, 20ta BNL SSR, 10ta CIR SSR, 15ta

NAU SSR mikrosatellit markerlar kolleksiyasi) praymerlar bilan PZR reaksiyalari o'tkazildi. Mikrosatellitlar amplifikatsiyasi polimorfizmi 3,5% li Hi-Res agoroza gelida 6 v/sm elektr kuchlanishi ostida 0,5 x TVE buferida amalga oshirildi. Gellar etidium bromli eritmada bo'yalib Alpha Imager 300 (Innotech Inc., AQSH) uskunasi bilan suratga olib elektron holda saqlab qo'yildi.

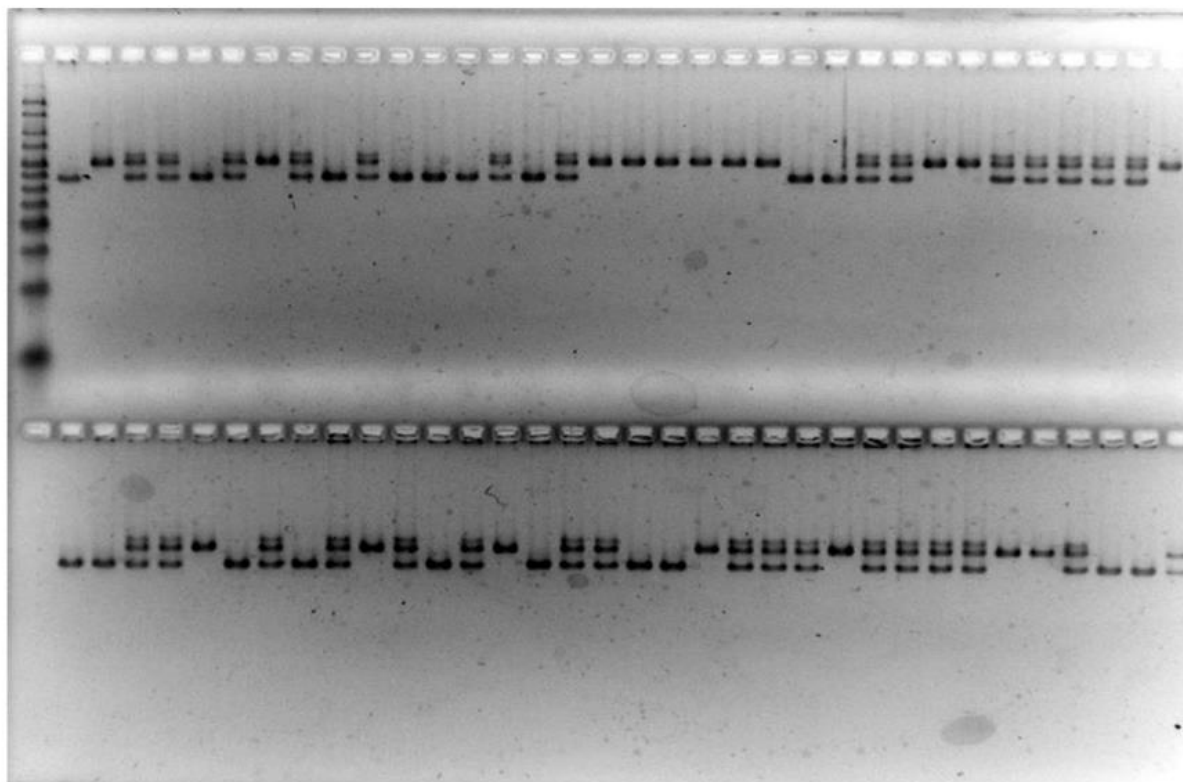
Dastlabki PZR reaksiyalarining tahliliga ko'ra ota-ona o'simliklari o'rtasida polimorfizm namoyon etgan 72 ta marker aniqlandi va bu markerlar F2 avlod o'simliklarini skrining qilish maqsadi uchun tanlab olindi (3.3. rasm).

Har bir SSR markerlar kolleksiyasi alohida-alohida tahlil qilinganda GH SSR kolleksiyasi boshqa markerlar kolleksiyasiga nisbatan birmuncha polimorfikligi aniqlandi. Bu kolleksiyadagi polimorfik markerlar soni 14 tani (93,3%) va monomorfik markerlar soni 1 tani (6,7%) tashkil etdi. Bundan farqli o'laroq SIR SSR kolleksiyada monomorfik markerlar soni polimorfik markerlar soniga nisbatan ko'pchilikni tashkil etdi, ya'ni 7 ta (70,0%) monomorfik va 3 ta (30,0%) polimorfik ekanligi kuzatildi. SHuningdek 10 ta JESPR SSR 8 tasi polimorfik 2 tasi monomorfik, 25 ta TMB SSR 20 tasi polimorfik 5 tasi esa monomorfik, 20 ta BNL SSR dan 15 tasi polimorf va 5 tasi monomorf ekanligi kuzatildi (3.1. grafik).



3.3. rasm. SSR markerlarining ota-ona liniyalari o‘rtasidagi polimorfizm. M- molekulyar og‘irlik markeri; 1-2-ota-ona liniyalari; 3-F1 avlod o‘simligi.

F2 avlod o‘simliklarining 108 tasidan genom DNKlari ajratildi va tanlab olingan polimorfik markerlar bilan PZR reaksiyalari qo‘yilib genotiplash ishlari olib borildi. Mikrosattelit genotiplash Reddy va *boshq.* usuliga muvofiq holda amalga oshirildi. Ona o‘smiigi genotipiga o‘xshash genotip – a, ota o‘smiigi genotipiga o‘xshash genotip – b, va geterozigota holatidagi genotip – h deb belgilandi. F2 avlod o‘simliklari fenotipik hamda genotipik ma’lumotlar Microsoft Office 2003/2007 ofis programmalari paketiga tegishli bo‘lgan Microsoft Excel dasturida tahlil qilindi (3.2.1. Jadval). SSR allellari o‘lchami har bir qadami 25 juft azotli asoslar bo‘lgan molekulyar markerga asoslanib aniqlandi. F2 avlod PZR testiga ko‘ra populyasiyada ajralish ketganligi, ya’ni ota yoki ona shakllariga o‘xshash hamda duragay shakllar hosil bo‘lganligi aniqlandi. Tanlab olingan markerlar (8ta JESPR SSR, 20ta TMB SSR, 14ta GH SSR, 15ta BNL SSR, 5ta CIR SSR, 10ta NAU SSR) DNK markerlari F2 avlod duragaylari o‘rtasida o‘zining yuqori polimorfizm namoyon etdi.



3.4. rasm. GH-542 polimorfik markerining F2 avlod o‘simliklarida gentiplanishi. 1- molekulyar og‘irlik markeri; 2-3- ota-ona o‘simliklari; 4-F1 avlod o‘simligi; 5... .n – F2 avlod o‘simliklari.

3.3. Molekulyar markerlar yordamida g‘o‘zada tola uzunligi belgisini QTL kartalashtirish

Mamlakatimiz olimlari tomonidan g‘o‘za genetikasi va seleksiyasi sohasida hosildor, kasalliklarga chidamli va tola sifat ko‘rsatkichlari yuqori bo‘lgan navlarni yaratish borasida bir qancha ilmiy tadqiqotlar olib borilmoqda. Dunyoda birinchilardan bo‘lib Abduraxmonov va boshqa., tomonidan *G. hirsutum* turiga mansub qishloq xo‘jalik uchun zarur hisoblangan qimmatli xo‘jalik belgilarni o‘zida mujassam etgan g‘o‘za germoplazmasidan foydalanib g‘o‘zada “noteng birikkanlik” usulini qo‘llash bilan tola sifati belgilari bilan birikkan DNK markerlari identifikatsiya qilingan va buning natijasida g‘o‘za genomi noteng

birikkanlik lokuslari darajasini aniqlashga erishilgan. SHuningdek, ushbu tadqiqotlar asosida *G.hirsutum* L. turi genetik kolleksiyasi asosida amaliy seleksiya uchun zarur bo'lgan yuqori ko'rsatkichli qimmatli-xo'jalik belgilarga ega bo'lgan 20 taga yaqin donor liniyalar ajratib olingan. Ushbu liniyalardagi yuqori ko'rsatkichli qimmatli-xo'jalik belgilarni (jumladan mikroneyr, tola uzunligi, pishiqligi, elongatsiyasi) identifikatsiya qilingan DNK va gen-spetsifik markerlar yordamida g'o'zaning yangi istiqbolli navlarini yaratishda Markerlarga asoslangan seleksiya (MAS) usuli bilan seleksiya jarayoniga jalb qilish imkoniyati yaratilgan.

Retsipient genotip sifatida esa mamlakatimizda yaratilgan va respublika g'o'za maydonlarida ekib kelinayotgan 11 ta nav tanlab olingan. Tanlab olingan retsipient navlarning qimmatli-xo'jalik belgilari donor genotiplarnikiga nisbatan past bo'lganligi sababli ushbu navlarni yaxshilash uchun 20 taga yaqin kombinatsiyada chatishtirish ishlari olib borilgan. Olingan duragay avlod o'simliklari donor genotiplarning yaroqsiz belgilarini yo'qotish va retsipient genotiplarning qolgan genomini tiklash maqsadida har yili retsipient o'simlik bilan bekross (qayta) chatishtirish ishlari olib borilgan. Bunda, har bir avlod o'simliklari har qaysi belgi uchun tegishli bo'lgan DNK markerlar yordamida tekshirib seleksiya qilish asosida keyingi avlod duragay o'simligini olish uchun tanlab olingan. YA'ni, har bir bekkross avlod o'simliklaridan va ota-ona liniyalaridan nihol davridayoq laboratoriya tadqiqotlari uchun barglar namunalari yig'ib olingan va namunalardan genom DNKsi ajratilib PZR (Polimeraza zanjir reaksiyasi) usuli yordamida tegishli DNK markerlar bilan tekshirib chiqilgan. Tanlangan markerlar bo'yicha o'zida donor lokuslarini tutgan duragay o'simliklar qoldirilib qolganlari yulib tashlangan.

Bundan tashqari vegetatsiya davrida har bir individning morfo-biologik belgilari ham qayd etib borilgan. Har bir o'simlikdan alohida-alohida terib olingan

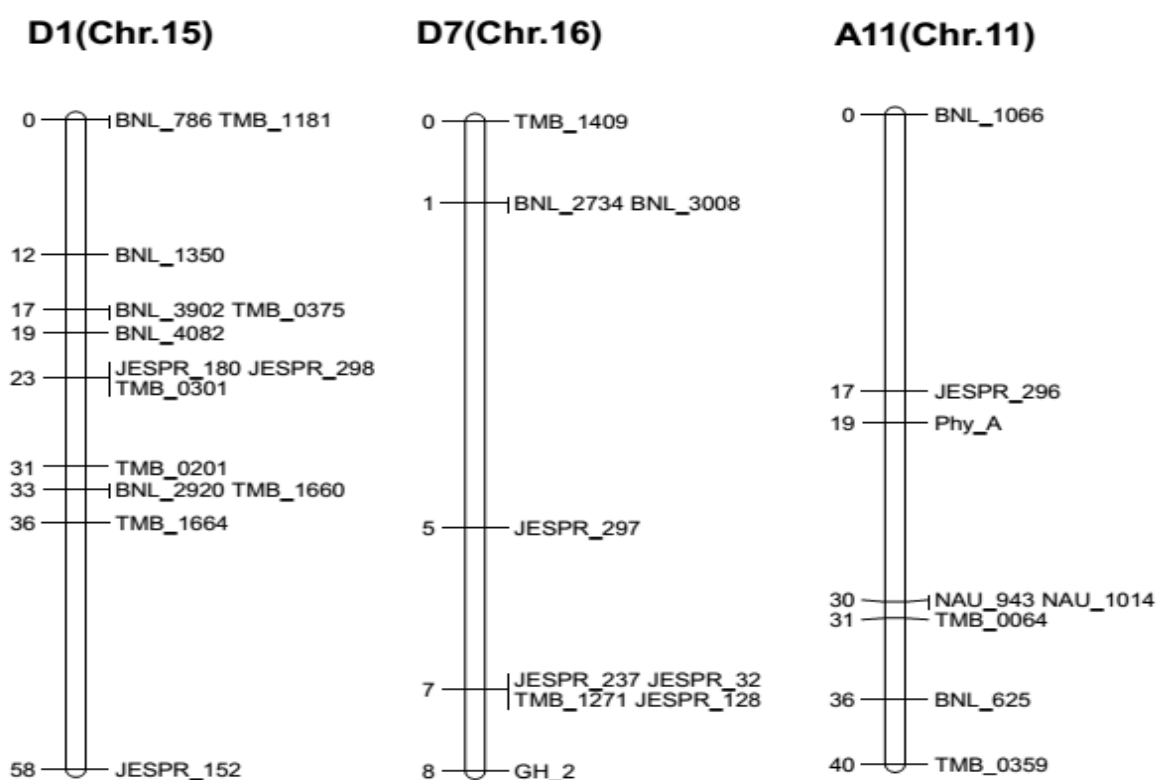
hosilning tola sifati ko'rsatkichlarini aniqlash uchun "SIFAT" markazida tahlil qilingan.

Uchinchi-to'rtinchi avlod bekkross duragaylari tahlili qilinganda barcha kombinatsiyalardagi duragaylarning tola sifat natijalari ancha yuqori ko'rsatkichlarni namoyon etgan. Masalan, Andijon 35 navining tola pishiqligi 32,1 gk/teksni tashkil etgan bo'lsa bekkross duragaylarida bu ko'rsatkich o'rtacha 37,1 gk/teks tashkil etgan. Bu esa donordagi tola pishiqligi bilan bog'liq marker lokusning duragaylarga o'tganligidan dalolat beradi. Natijalar asosida ushbu tola sifat ko'rsatkichlari eng yaxshi deb topilgan duragaylari individual tanlab olingan. SHunday qilib mamlakatimiz g'o'za seleksiyasiga ilk bor MAS usuli joriy qilinib molekulyar va yakka tanlov asosida Ravnaq-1 hamda Ravnaq-2 navlari yaratilgan va hozirda bu ikki nav davlat nav sinash komissiyasidan muvofaqiyatli o'tib ekilmoqda.

Yuqorida ta'kidlab o'tilganidek, zamonaviy MAS dasturi bo'yicha bu ishni amalga oshirish ham iqtisodiy, ham kam vaqt talab qilishi jihatidan boshqa usullardan samaraliroqdir.

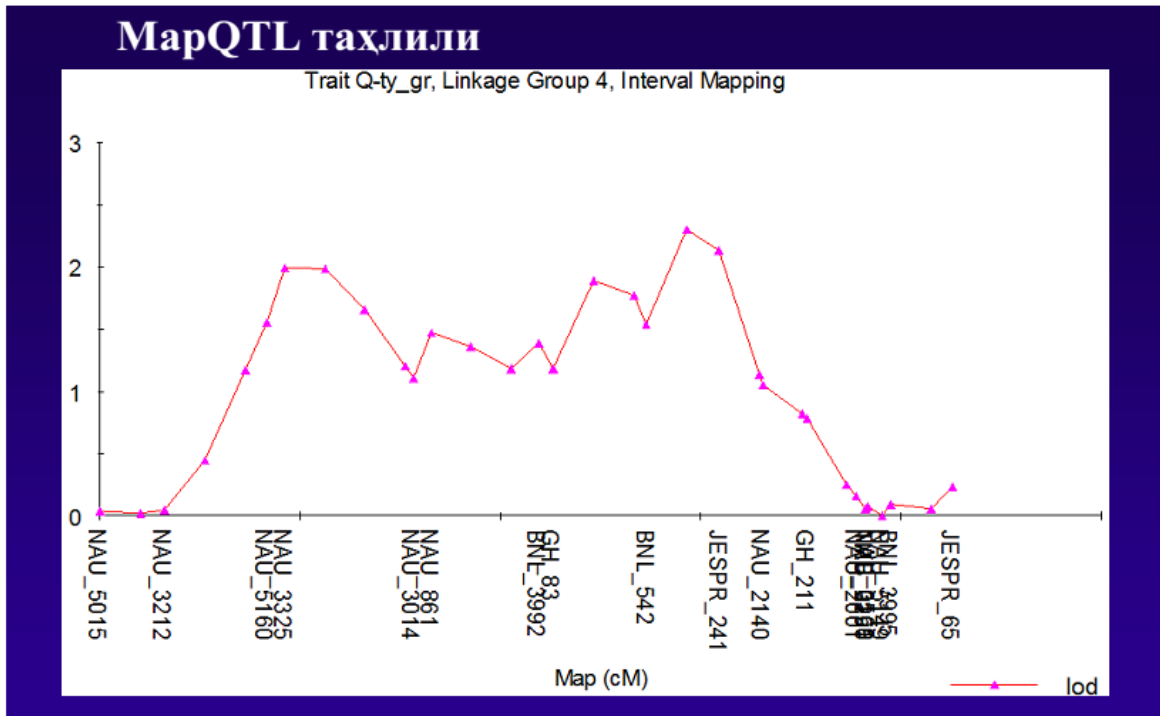
Seleksiya yoki kartalashtirish loyihalari uchun markerlar tizimining afzalliklariga e'tibor qaratgan holda mos keluvchi tizimni tanlab olish zarur. Miqdoriy va sifat belgilarini kartalashtirish belgilarni bir individdan ikkinchi individga introgressiya qilish, germoplazmani tahlil qilish kabi tadqiqotlar turli xil uslubiy yondashuvni (turli markerlar tizimi qo'llanilishini) talab etadi. Tadqiqot uchun markerlar tizimining qo'llanilishi va uning samara berishi ularning ikki xil xususiyati bilan baholanadi: birinchisi, markerning populyasiyadagi individumlar o'rtasidagi tafovutni namoyon qila olishi; ikkinchisi, genomdagi marker chastotasi (ya'ni bitta reaksiyada marker tomonidan birvarakayiga nechta lokus tahlil qilinishi mumkin). SSR markerlari qolgan markerlarga nisbatan yuqori geterozigotaligi sababli bu tizim individumlar o'rtasidagi tafovutni aniqlash kabi maqsadlar uchun keng qo'llaniladi va birmuncha samarador marker tizimi hisoblanadi [4].

Markerlarning birikkanlik guruhlarini aniqlash tahlillari faqatgina LOC fayllari kiritilgan JoinMap 3.0 dasturi ko‘magida bajarildi [69]. Tahlil natijalariga ko‘ra 72 polimorf markerlar guruhi 6 ta birikkanlik guruhini tashkil etdi. Lacape *et al* (2009) hamda Guo *et al* (2007) ilmiy maqolalaridan foydalanilgan holda ushbu birikkanlik guruhlarining qaysi xromosomada jolashganligi aniqlandi. Har bir birikkanlik guruhiga o‘rtacha 12 tadan marker to‘g‘ri keldi (3.1, 3.2 - rasmlar). [43, 29]

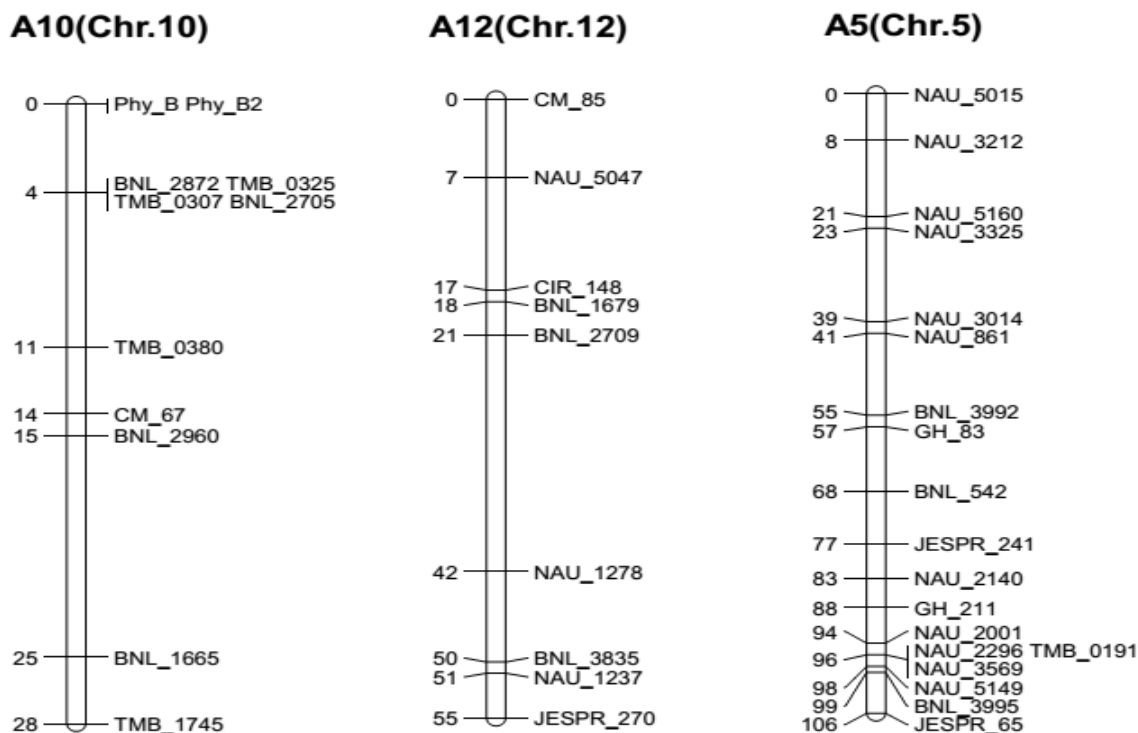


Lacape J.M., et al. A new interspecific, *Gossypium hirsutu*

3.5. - rasm. Genetik birikkanlik guruhlari



3.6 - rasm. Tola uzunligi bo'yicha tahlil qilinayotgan F2 populyasiyasida polimorf SSR markerlarini interval kartalashtirish



Lacape J.M., et al. **A new interspecific, *Gossypium hirsu* towards a unified consensus linkage map of tetraploid c**

3.7. - rasm. Genetik birikkanlik guruhlari

Genotipik va fenotipik ma'lumotlar korrelyatsiyasi «Kruskal-Wallis» MapQTL@4.0 dasturining noparametrik testi hamda interval kartalashtirish usuli yordamida amalga oshirildi [69]. Tahlil natijalariga ko'ra 2 ta QTL $LOD > 3$ bo'lganda aniqlandi. Bu 2 QTLda aniqlangan markerlar tola uzunligiga javob beruvchi markerlar bo'lishi mumkin degan xulosaga kelindi.

Tadqiq qilinayotgan ikkinchi avlod duragaylarini QTL kartalashtirish natijasida tola uzunligiga aloqador bo'lgan 2 ta QTL lokuslari aniqlandi. Tola uzunligi belgisini birinchi QTL lokusiga ($LOD > 2.1$) NAU3325 va NAU5160 hamda ikkinchi QTL lokusiga ($LOD > 2.5$) JESPR241 markerlari genetik bog'langanligi aniqlandi.

Mazkur tadqiqot natijasida aniqlangan tola uzunligi belgisiga genetik bog‘langan markerlar va ushbu marker belgisiga ega bo‘lgan g‘o‘za liniyasidan foydalanib tola uzunligi past bo‘lgan navlarni hozirgi zamon seleksiyasida eng samarali hisoblangan MAS usuli yordamida 6-7 avlod davomida tola sifatini oshirish mumkin.

XULOSA

Mazkur bitiruv malakaviy ishida g'o'zada turlararo duragaylash orqali tola sifat belgilarini molekulyar markerlari yordamida tadqiq qilib, tola uzunligiga aloqador bo'lgan QTL lokuslarni aniqlashga qaratilgan. Ushbu tadqiqot natijasida quyidagi xulosalarga kelindi:

1. Jaxon paxta sanoatining jadal rivojlanishi va shu sababli yildan yilga paxta tolasiga dunyoda talabning ortib borayotganligi, jumladan respublikamizda yetishtirilayotgan paxta tolasiga xaridorlarning to'g'ridan to'g'ri sotib olish imkoniyatiga ega bo'lishlari va respublikamizda paxtani qayta ishlovchi sanoat korxonalarini rivojlanishi paxtadan olinadigan xosilni yanada yuqori bo'lishini talab etadi. Avvallari paxta tolasini yetishtirish miqdorini oshirish yangi yerlarni o'zlashtirib paxta ekini maydonini kengaytirish xisobiga amalga oshirilgan bo'lsa, xozirda bunday imkoniyatlarimiz chegaralangan, faqatgina xar gektardan olinadigan paxta xosilini ko'paytirish evazigagina talab qilinayotgan paxta tolasiga bo'lgan extiyojni qondirishimiz mumkin. Buning uchun g'o'za selektsiyasi bilan ishlovchi olimlarimizdan yangi g'o'za navlarini yaratishda paxta tolasining sifat ko'rsatkichlarini yo'qotmagan xolda, g'o'za o'simligini xosil berish ichki imkoniyatlarini oshirish talab etiladi.

2. Yuqorida ta'kidlab o'tilganidek, zamonaviy MAS dasturi bo'yicha bu ishni amalga oshirish ham iqtisodiy, ham kam vaqt talab qilishi jihatidan boshqa usullardan samaraliroqdir.

3. Tadqiqot natijasida dastlab ota-ona liniyalar 100 ga yaqin SSR markerlar yordamida PZR usuli bilan skrining qilindi va buning natijasida 72 ta polimorf markerlar aniqlandi.

3. Genetik identifikatsiya aniq identifikatsiya genotipi (har xil turdagi markerlarda allellarning bor yo'qligiga asoslangan holda) genetik farqlar o'rganilishidir. Bu mutlaq o'lchov bo'lib, boshqa tur yoki populyatsiyaga nisbatan

o'zgarmaydi. Genetik xilma-xillik molekulyar markerlarni foydalangan holda o'rganiladi.

4. Markerlarga asoslangan seleksiya usulini qo'llash bilan o'simliklar genomidagi irsiy axborotlarda qanday belgi va xususiyatlar mavjudligini o'rganish, ularni turli lokuslarini aniqlash mumkin. Ushbu seleksiyaning afzalligi o'simlik hujayra yadrosini ajratib olib DNK tahlili asosida irsiy axborotini o'rganish bilan qisqa muddat ichida unda qanday belgi xususiyatlar mavjudligini aniqlash mumkin.

6. Yangi DNK markerlarini o'z ichiga olgan qo'shimcha polimorfizmlarni aniqlash bilan o'rganilayotgan genotiplarning DNK bankini tahlil qilish imkonini beradi.

7. Molekulyar analiz jarayonini ishlab chiqilishi natijasida har qanday o'simlikni genetik tarkibi o'rganilishi va unga turli usullar bilan kerakli irsiy axborotni ko'chirib o'tkazish, nukleotidlar izchilligi aniqlanishi mumkin.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI.

1. Абдуллаев А.А., Омельченко М.В. Формообразование хлопчатника. Ташкент; ФАН, 1966. – 142 с.
2. Абдуллаев А.А. Эволюция и систематика полиплоидных видов хлопчатника. Ташкент; 1974. ст-57
3. Abdurahmonov I.Yu. Markerlarga asoslangan seleksiya texnologiyasi / Fan va turmush / Toshkent 2010 yil 12-13 b.
4. Абдурахмонов И.Ю. Молекулярное клонирование новых ДНК-маркеров для маркер ассоциированной селекции хлопчатника: Дис....канд. биол.наук.-Ташкент: ИГи ЭБР АН РУз, 2002. – 108 с.
5. Абдурахмонов И.Ю., Буриев З.Т., Абдуллаев А.А., Шерматов Ш.Э., Кушанов Ф.Н., Ризаева С.М., Абдуллаев А., Абдукаримов А.А. Молекулярное филогенетическое разнообразие узбекской коллекции гермиплазмы хлопчатника / Узб. Биол. Журн. – Ташкент, 2006а. – № 5. – С. 75-79.
6. Абдурахмонов И.Ю., Буриев З.Т., Абдукаримов А.А. Молекулярное клонирование и характеристика генов фитохрома А хлопчатника / Узб. Биол. Журн. – Ташкент, 2006б. – № 6. – С. 46-50.
7. Абдурахмонов И.Ю., Буриев З.Т., Абдуллаев А.А., Шерматов Ш.Э., Кушанов Ф.Н., Абдукаримов А. / Картирование хозяйственно-ценных генов хлопчатника с помощью неравновесного сцепления (Linkage Disequilibrium). / Узбекский биологический журнал, 2007.- № 5.- ст. 70-74
8. Абдурахмонов И.Ю., Буриев З.Т., Алматов А., Мусаев Д.А., Абдуллаев А. А., Мавлонов Г.Т., Абдукаримов А. QTL-Картирование генов выхода волокна с помощью ДНК – маркеров / Узбекский Биологический Журнал. 2003.-N5-6. с80-85.

9. Буриев З. Т Молекулярное картирование локусов, ассоциированных с инициацией и развитием хлопкового волокна Госсипиум иреутум Л., с помощью микросаттелитов: Дис....канд. биол. наук.- Ташкент: ИГи ЭБР АН РУз, 2005. – 122с.
10. Дармонов М.М., Юсупов З., Комилов Д.Ж., Махкамов А.Х., Кушанов Ф.Н., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. / Маркерларга асосланган селекция усулидан фойдаланиб ғўзада тола сифатини яхшилаш //2011й.
11. Дармонов М.М., Махкамов А.Х., Кушанов Ф.Н., Шерматов Ш.Э., БуриевЗ.Т., Абдурамонов И.Ю./ Ғўзада тола пишилиқ даражасини маркерларга асосланган селекция (мас) технологияси асосида ошириш / Илм-фан тараиёти ва итисодиётни инновацион ривожлантириш 2012й. 169.
12. Джаникулов Ф. Связь между радиочувствительностью и мутабельностью диких и культурно-тропических форм хлопчатника / Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – Москва., 2002. – № 2. – С. 19-22.
13. Махкамов А.Х., Кушанов Ф.Н., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. / Толанинг сифа белгиларини маркерларга асосланган селекция ёрдамида пирамидалаш / 2011й.
14. Махкамов А.Х., Кушанов Ф.Н., Норов Т.М., Усмонов Д.Э., Буриев З.Т., Абдурамонов И.Ю./ Ғўзада толанинг микронейр ва пишиқлиги белгиларини маркерларга асосланган селекция ёрдамида пирамидалаш орали яхшилаш / Илм-фан тараққиёти ва итисодиётни инновацион ривожлантириш 2012. 171.
15. Махкамов А.Х., Дарманов М.М., НоровТ.М., Усмонов Д.Э., Мирзаёқубов К.Э., Кушанов Ф.Н., Шерматов Ш.Э., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. / Юқори сифатли ғўза линияларини олишда «генларни пирамидалаш» технологиясидан фойдаланиш / 2013й.

16. Мусаев Д.А., Турабеков Ш., Саидкаримов А.Т., Алиматов А.С., Раимов А. К. / Генетика ва селекция асослари / Тошкент. Ворис.2012 йил 143-149.
17. Комилов Д.Ж., Усмонов Д.Е., Дармонов М., Махкамов А.Х., Кушанов Ф.Н., Буриев З.Т., Абдурамонов И.Ю. / Ғўзада тола пишиқлиги белгисининг ДНК маркерларига асосланган селекцияси / 2011й.
18. Abdurakhmonov I.Y., Buriev Z.T., Saha S., Pepper A.E., Musaev J.A., Almatov A., Shermatov S.E., Kushanov F.N., Mavlonov G.T., Reddy U.K., Yu J.Z., Jenkins J.N., Kohel R.J., Abdugarimov A. Microsatellite markers associated with lint percentage trait in cotton, *Gossypium hirsutum* / *Euphytica* DOI 10.1007/s10681-007-9361-2, Springer Netherlands, Amsterdam. 2007b.
19. Abdurakhmonov I.Y. Molecular cloning and characterization of genomic sequence tags (GSTS) from the PHYA, PHYB and HY5 gene families of cotton (*Gossypium* species) / Thesis. Texas A&M University, USA, College Station. 2001.
20. Abdurakhmonov I.Y., Abdullaev A., Saha S., Buriev Z.T., Arslanov D., Kuryazov Z., Mavlonov G.T., Rizaeva S.M., Reddy U.K., Jenkins J.N., Abdullaev A., Abdugarimov A. SSR marker associated with a natural leaf defoliation trait in tetraploid cotton / *J. Hered.* – Oxford, 2005. – No 96. – pp. 644-653.
21. Abdurakhmonov I. Y. Exploiting genetic diversity / The Proceeding of 4th World Research Conference. Lubbock, Texas – USA, September 6-10, 2007.
22. Abdurakhmonov I.Y., Kushanov F.N., Djaniqulov F., Buriev Z.T., Pepper A.E., Fayzieva N., Mavlonov G.T., Saha S., Jenkins J.N., Abdugarimov A. The role of induced mutation in conversion of photoperiod dependence in cotton / *J. Hered.* – Oxford, 2007a. – No 98 (3) – pp. 258-266.
23. Abdurakhmonov Y.A., Sukumar S., Jonnie N. J., Buriev Z.T., Shuhrat S. E., Brain E.S., Alan E.P., Jonh Z.Y., Russell J.K., Abdugarimov A. Linkage disequilibrium based association mapping of fiber quality traits in *G. hirsutum* L. variety germplasm. / *Genetica*, 2008. DOI: 10.1007/s10709-008-9337-8.

24. Benedict CR, Kohel RJ, Lewis HL (1999) Cotton fiber quality. In: Smith WC (ed) Cotton: origin, history, technology, and production. John Wiley and Sons, Inc, pp 269–288.
25. Buriev Z., Abdurakhmanov I., Sukumar Saha, Jonie Jenkins, Alan Pepper, Umesh K. Reddy, Jura Musaev, Abdurafi Almatov, Abdusattor Abdukarimov. Molecular mapping and characterization of EST-SSR markers contributing to fiber initiation and development / International Cotton Genome Initiative ICGI-2004 Workshop, p 41.
26. Grandillo S. and Tanksley S.D. Genetic analysis of RFLPs GATA microsatellites and RAPDs in cross between *L. esculentum* and *L. pimpinellifolium*/Theor.Appl.Genet. 1996.No 92. p 957-965
27. Giovannoni JY, Wing RA (1991) Isolation of molecular markers from specific chromosomal intervals using DNA pools from existing mapping populations. Nucleic Acids Res 1991: 6553–6558.
28. Gutiérrez O.A., Basu S., Saha S., Jenkins J.N., Shoemaker D.B., Cheatham C.L., McCarty J.C., Genetic distance among selected cotton genotypes and its relationship with F2 performance / Crop Sci. – Wisconsin, 2002. – No 42. – pp. 1841–1847
29. Guo H., Yang H., Mockler T.C., Lin C. Regulation of flowering time by Arabidopsis photoreceptors / Science. – Washington, 2007. – No 279. – pp. 1360–1363.
30. Guo W. Z, Zhang T. Z, Sheng X. L. Development of Scar Marker Linked to major QTL for high fiber Strength./Crop Science. 2003. 43-P-2252-2256.
31. Gupta P. K. Roy J. K. & Prasad M. Single Nucleotide Polymorphisms: A New Paradigm for Molecular Marker Technology and DNA Polymorphism Detection With Emphasis on Their Use in Plants. - Current Science 2001. 80: P. 524-535.
32. Gupta P.K. Mutation breeding in mungbean / In Asthana AN and Kim

DH (Eds.) Recent Advances in Mungbean Research / Indian Society of Pulses Research. – Kanpur, India, 2002. pp. 124-136.

33. Gupta, P. K., Rustgi, S. & Kulwal, P. L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Mol. Biol.* 57, 461–485. 2005 (doi:10.1007/s11103-005-0257-z)

34. Jeffreys A.J., Royle N.J., Wilson V., Wong Z. Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem- repetitive hypervariable loci in human DNA / *Nature*. – London – 1985.– Vol. 332. – pp. 278-281.

35. Jiang C, Wright RJ, El-Zik KM and Paterson AH. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium*. *Proc Natl Acad Sci* 95, 4419-4424. 1998.

36. Jones, E. S., Liu, C. J., Gale, M. D., Hash, C. T. & Witcombe, J. R. Mapping quantitative trait loci for downy mildew resistance in pearl millet. *Theor. Appl. Genet.* 91, 448–456. 1997 (doi:10.1007/BF00222972).

37. Zhang W. K, Wang Y. J, Luo G. Z, Zhang J. S. QTL mapping of ten agronomic traits on the Soybean. / *Theor Appl Genet.*-2004 .108(6) –P- 1131-1139.

38. Zhang J., Lu Y., Cantrell R.G., Hughs E. Molecular marker diversity and field performance in commercial cotton cultivars evaluated in the Southwestern USA / *Crop Sci.* – Wisconsin, 2005. – No 45. – pp. 1483–1490.

39. Yu, K., Park, S. & Poysa, V. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. *Plant Breed.* 119, 411–415. 2008 (doi:10.1046/j.1439-0523.2000.00514.x)

40. Karaca M, Saha S, Jenkins J. N. Simple sequence Repeat (SSR) markers.// *J Hered.* -2002- 93. –P- 221- 224.

41. Kohel R. J, Yu J, Park Y.H. Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality in cotton. / *Euphytica*-2001 .121; P-163- 172.

42. Lander ES, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly MJ, Lincoln SE, Newburg L (1987) MAPMAKER: an interactive computer package for

constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174–181.

43. Lacape J.M., D. Dessauw, M. Rajab, J.L. Noyer, and B. Hau. Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs / *Mol. Breeding*. – Springer Netherlands, 2009. – No 19 (1). – pp. 45-58.

44. Lang A., Chailakhyan K.H., Frolova I.A. Promotion and inhibition of flower formation in a day neutral plant in grafts with a short-day plant and a long day plant / *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – Washington, 1977. - No 74. – pp. 2412–2416.

45. Li Y.C., Korol A.B., Fahima T., Beiles A., Nevo E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review / *Mol. Ecol*. – Blackwell Publishing, Edinburgh, 2010– No 11. – pp. 2453–2465.

46. Liu S, Saha S, Stelly D, Burr B and Cantrell RG. Chromosomal assignment of microsatellite loci in cotton. *J. Hered* 91, (2000)326-332.

47. Liu S., Cantrell R.G., McCarty, J.C.Jr. and Stewart J.McD. Simple Sequence Repeat–Based Assessment of Genetic Diversity in Cotton Race Stock Accessions / *Crop Sci*. – Wisconsin, 2000. – No 40. – pp. 1459–1469.

48. May OL Genetic variation in fiber quality. In: Basra AS (ed) *Cotton fibers, developmental biology, quality improvement and textile processing*. Food Products Press, New York, 1999 pp 183–230.

49. Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV (1991) Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:9828–9832.

50. Moran A.P. Wandering distributions and the electrophoretic profile / *Theor. Popul. Biol*. – Elsevier Burlington, 1975. – No 8. – pp. 318–330.

51. Mokrani L., Gentzbittel L., Azanza F., Fitamant L., Al-Chaarani G., Sarrafi A. Mapping and analysis of quantitative trait loci for grain oil content and

- agronomic traits using AFLP and SSR in sunflower (*Helianthus annuus* L.). / *Theor Appl Genet.* - 2002. No 106(1). p. 149-156.
52. McCarty J.C.Jr. and Jenkins J.N. Registration of 79 day-neutral primitive cotton gemplasm lines / *Crop Sci.* – Wisconsin, 1993. – No 33. – p. 351.
53. Neff M, Neff J . D. and Pepper A. E dCAPs, a simple technique for genetic analysis of single nucleotide polymorphisms./ *The Plant Journal.* – 1998. 14;-P – 387- 392.
54. Ooijen J. W., Boer M. P. Jansen R. C. MapQTL@4.0 , Software for the calculation of QTL position of genetic maps. / *Plant Research International Wageningen, the Netherlands-2002.*
55. Paterson A. H, Smith R.H. Future horizons: biotechnology of cotton improvement./ In *Cotton Origin, History, Technology, and Production.*- New York: John Wiley and Sons,1999. p 886.
56. Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms.*Nature.*335:721–726
57. Reddy O.U.K., Pepper A.E., Abdurakhmonov I.Y., Saha S., Jenkins J.N., Brooks T.D., Bolek Y. and El-Zik K.M. The identification of dinucleotide and trinucleotide microsatellite repeat loci from cotton *G.hirsutum* L, *J. Cotton Sci.* – Memphis, 2001. – No 5. – pp. 103-113.
58. Rafalski, A. 2002 Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 94–100. (doi:10.1016/S1369-5266(02)00240-6)
59. Richmond TR (1951) Procedures and methods of cotton breeding with special reference to American cultivated species. *Adv Genet* 4:213–245.
60. Rafalski J.A., Hanafey M.K., Tingey S.V., and Williams J.G.K. Technology for Molecular Breeding: RAPD Markers, Microsatellites and Machines. In: Gresshoff./ *Plant genome analysis.* CRC-Press, Boca Raton. 1994. p.19-27.

61. Self FW, Henderson MT (1954) Inheritance of fiber strength in a cross between the Upland cotton varieties AHA 50 and Half. *Agron J* 46:151–154
62. Stephenson P., Bryan G., Kirby J., Collins A., Devos K., Buss C. and Gale M.D. Fifty new microsatellites for wheat genetic map. / *Theoretical and Applied Genetics*, 1998.No 5/6.p.946-949.
63. Shappley ZW, Jenkins JN, Zhu J, McCarty JC Jr (1998) Quantitative trait loci associated with agronomic and fiber traits of Upland cotton. *J Cotton Sci* 2:153–163.
64. Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B. & Pang, E. C. K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica* 142, 169–196. 2005 (doi:10.1007/s10681-005-1681-5)
65. Temnykh S, Park W.D, Ayers N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho Y.G, Ishii T, and McCouch S.R. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2000. No 100.p.697-712.
66. Ulloa M, Meredith WR Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intraspecific population. *J Cotton Sci* 4:161–170 1998.
67. Ulloa M, Meredith WR, Shapplet ZW, Kahler AL RPLF genetic linkage maps from four F2:3 population and a joinmap of *Gossypium hirsutum* L. *Theor Appl Genet* 104: 2002. 200–208
68. Ulloa M., and Meredith W/ Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in intraspecific population. *J. Cotton Sci.* – Memphis, 2000. – No 4. - pp. 10–18.
69. Van Ooijen & Voorrips RE *MapQTL@3.0* , Software for the calculation of QTL position of genetic maps. / *Plant Research International Wageningen, the Netherlands*-2001.

70. Vos P, Hogers L, and Zabeau M AFLP a new technique for DNA fingerprinting // Nucleic Acids Res 1995. 23; -P- 4407-4414