

**ГЕНЕТИКА ВА ЎСИМЛИКЛАР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ БИОЛОГИЯСИ
ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.02/30.12.2019.В.53.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ГЕНОМИКА ВА БИОИНФОРМАТИКА МАРКАЗИ

КОМИЛОВ ДОНИЁР ЖЎРАЕВИЧ

**«*G.hirsutum* L. БИОХИЛМА-ХИЛЛИКЛАРИ ТУРИЧИ
ДУРАГАЙЛАРИДА МОРФОБИОЛОГИК БЕЛГИЛАРИ
ИРСИЙЛАНИШИНИНГ МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ТАҲЛИЛИ»**

03.00.14 – Геномика, протеомика ва биоинформатика

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2022

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавления автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Комилов Дониёр Жўраевич

«*G.hirsutum* L. биохилма-хилликлари туричи дурагайларида
морфобиологик белгилар ирсийланишининг молекуляр-генетик таҳлили»
.....3

Комилов Дониёр Жураевич

«Молекулярно-генетический анализ наследственности
морфобиологических признаков у внутривидовых гибридов
биоразнообразия *G.hirsutum* L.».....21

Komilov Doniyor Jo'raevich

«Molecular genetic analysis of the inheritance of morphobiological traits in
interspecific hybrids of biodiversity *G.hirsutum* L.»
.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published

works.....43

**ГЕНЕТИКА ВА ЎСИМЛИКЛАР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ БИОЛОГИЯСИ
ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.02/30.12.2019.В.53.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ГЕНОМИКА ВА БИОИНФОРМАТИКА МАРКАЗИ

КОМИЛОВ ДОНИЁР ЖЎРАЕВИЧ

**«*G.hirsutum* L. БИОХИЛМА-ХИЛЛИКЛАРИ ТУРИЧИ
ДУРАГАЙЛАРИДА МОРФОБИОЛОГИК БЕЛГИЛАРИ
ИРСИЙЛАНИШИНИНГ МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ТАҲЛИЛИ»**

03.00.14 – Геномика, протеомика ва биоинформатика

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2022

Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2022.1.PhD/В380 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация иши ЎЗР ФА геномика ва биоинформатика марказида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида (www.namdu.uz) ва «Ziyonet» Ахборот таълим порталида (www.ziyonet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Кушанов Фахриддин Неъматуллаевич
биология фанлари доктори, катта илмий ходим

Расмий оппонентлар:

Бозоров Тохир Ахмадович
биология фанлари доктори, катта илмий ходим

Мақамов Абдусалом Хасанбоевич
PhD, катта илмий ходим

Етакчи ташкилот:

Пахта селекцияси, уруғчилиги етиштириш агротехнологиялари илмий тадқиқот институти

Диссертация ҳимояси Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019.В.53.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2022 йил «___» _____ куни соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 111208, Тошкент вилояти, Қибрай тумани, Юқори-Юз п/б, Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти мажлислар зали. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-22-30; e-mail: igebr@academy.uz, genetics@uzsci.net, gen@inst.gov.uz).

Диссертация билан Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 111208, Тошкент вилояти, Қибрай тумани, Юқори-Юз п/б, Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти мажлислар зали. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-22-30.

Диссертация автореферати 2022 йил «___» _____ куни тарқатилди.
(2022 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

А.А. Нариманов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси, қ.х.ф.д., профессор

С.К. Бабоев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, б.ф.д., профессор

Ш. Юнусханов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш ҳузуридаги илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда аҳоли сонининг тобора ошиб бориши озиқ овқат манбалари билан бир қаторда кўплаб мамлакатларнинг асосий қишлоқ хўжалик экини ғўзанинг маҳсулотларига бўлган эҳтиёжи ҳам ошиб бормоқда. Дунё пахтачилигида ғўзанинг серҳосил ва қимматли-хўжалик белгилари ҳамда хусусиятларини яхшилаш долзарб ҳисобланади. Қисқа вақт ичида ноёб белги ва хусусиятларга жавобгар генларни ўзида мужассам этган, ғўзанинг янги навларини яратишда *Gossypium L.* туркуми ёввойи шаклларида фойдаланиш селекция самарадорлигини кескин оширади. Жумладан, тола сифати юқори, серҳосил ғўза навларини яратишда ғўза селекция жараёнларига молекуляр биология ва биотехнологик усулларни тадбиқ этган ҳолда тадқиқотларни олиб бориш муҳим аҳамиятга эга.

Жаҳонда ғўзанинг тола сифат белгиларини яхшилашда уларни бошқарувчи генларни идентификация қилиш ва улардан самарали фойдаланиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бу борада пахта-тўқимачилик кластерлари ва фермер хўжалиқларининг бугунги кун талабларига жавоб бера оладиган (тола сифати юқори, серҳосил, турли касаллик ва зараркунандаларга чидамли) ғўза навларини яратиш ва мавжуд навларни ушбу йўналишда янада такомиллаштириш, ёввойи ғўза турлардаги қимматли хўжалик белгиларни молекуляр даражада, хусусан улардаги хўжалик ва саноат нуқтаи назаридан аҳамиятли белгилар билан ассоциацияланган миқдорий белгилар локусларини (QTL) ва генларини аниқлашга алоҳида эътибор берилмоқда

Республикамиз мустақилликка эришгандан сўнг тупроқ, иқлим шароитига мос ғўза навларини яратиш бўйича юқори натижаларга эришилмоқда. Хусусан, 2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегиясида¹ «Қишлоқ хўжалигини илмий асосда интенсив ривожлантириш орқали деҳқон ва фермерлар даромадини камида 2 баравар ошириш, қишлоқ хўжалигининг йиллик ўсишини камида 5 фоизга етказиш» муҳим вазифалар белгилаб берилган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда хўжалик ва саноат нуқтаи назаридан аҳамиятли белгилар билан ассоциацияланган миқдорий белгилар локусларини (QTL) аниқлаш ва улардан қимматли хўжалик белгиларни бошқарувчи генларни идентификация қилишда фойдаланиш муҳим илмий-амалий аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ-60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида»ги Фармони, 2022 йил 28 январдаги ПҚ-106-сон «Қишлоқ хўжалик экинлари уруғчилигини янада ривожлантириш бўйича кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида», ЎзР ВМ нинг 2019 йил 12 декабрдаги 985-сон «2020 йилда ғўза навларини жойлаштиришнинг ва пахта

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ-60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида»ги Фармони

етиштиришнинг прогноз хажмлари тўғрисида»ги қарори ҳамда бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V. «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» фундаментал устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Бугунги кунга келиб, бутун дунёда ғўза геномини тадқиқ этишда ДНК маркерлар технологияси самарали қўлланилмоқда. Ғўзада тола сифати билан генетик боғланган миқдорий белгилар локуслари (QTL)ни идентификация қилиш бўйича хорижий олимлар J. Kohel (2001), David M. Stelly (2015), Andrew H. Paterson (2009), David D. Fang (2015-2017), Wangzhen Guo (2013-2016), Tianzhen Zhang (2015) ва Johnie N. Jenkins (2012-2013) тадқиқотлар олиб боришган.

АҚШ олимлари DeJoodie ва Wendel (1992) томонидан *G.tomentosum*, *G.darwinii* ҳамда *G.hirsutum* турларига мансуб ёввойи ва рудерал шаклларнинг фотопериодизмга таъсирчанлик хусусиятлари ўрганилган. Бундан ташқари, ғўза генетик хилма-хилликларини бойитишда *G.mustelinum* туридан фойдаланилган ва ундаги қимматли хўжалик белгилар селекция усуллари асосида мавжуд навларга ўтказилган.

Мамлакатимизда ҳам ғўза геномини тадқиқ этишда А.Ю. Абдурахмонов, А. Абдукаримов, З.Т. Буриев (2010-2011), Ф.Н. Кушанов (2016, 2017), А.А. Абдуллаев (2015-2017) каби олимлар фаолият олиб бориб, улар ўз тадқиқотларида ғўзада кўплаб қимматли хўжалик белгиларга генетик боғланган ДНК маркерларини идентификация қилганлар. Шунингдек, Ф.Жоникулов (2002) томонидан бир неча турларга мансуб ёввойи ва ярим ёввойи шаклларга радиоактив моддаларнинг таъсир эттириш натижасида фотопериодизмга боғлиқлик хусусияти ўзгартирилган 200 га яқин мутант линиялар олинган.

Бироқ, *G.hirsutum* spp. *purpurascens* var *El-salvador* ёввойи ғўза шакли кенг кўламда ўрганилмаган. Энг асосийси айнан ушбу шаклда морфо-хўжалик белгиларни туричи дурагайлаш асосида ўрганиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмаган.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилаётган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Геномика ва биоинформатика маркази илмий-тадқиқот ишлари режасининг №ФА-А6-Т083 “Ғўзанинг тола сифати ва вилтга чидамлилиқ локусларини ДНК маркерлар ёрдамида генетик жамлаш” (2015-2017) амалий лойиҳаси доирасида бажарилган

Тадқиқотнинг мақсади *G.hirsutum* турига мансуб *purpurascens* кенжа тури *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда ушбу шаклдан индуцирланган мутагенез таъсирида олинган «Кўпайсин» навининг морфо-хўжалик белгилари

ирсийланишини, уларни ўзаро чатиштириб олинган биринчи (F_1) ва иккинчи (F_2) авлод дурагайларида аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

бошланғич манба сифатида *Gossypium* туркумига мансуб ғўза коллекцияларининг ичидан морфобиологик ҳамда хўжалик белги ва хусусиятлари бўйича контраст (кескин фарқ қиладиган) ҳолатдаги шаклларни танлаш;

дурагайлаш усулидан фойдаланиб танланган намуналар иштирокида биринчи (F_1) ва иккинчи (F_2) авлод дурагайларини олиш ҳамда уларда морфобиологик белгиларнинг ирсийланишини статистик таҳлиллар асосида ўрганиш;

ота-она генотипларида SSR (Simple Sequence Repeats) маркерларидан фойдаланиб молекуляр полиморфизм даражаларини аниқлаш;

танлаб олинган полиморфик маркерлар ёрдамида F_2 авлод дурагайларини генотиплаш;

F_2 авлод дурагайлари генотипик таҳлиллари асосида бирикканлик харитасини (linkage map) ҳамда МБЛ (QTL) харитасини тузиш.

биоинформатик дастурлар ёрдамида морфобиологик ҳамда хўжалик белги ва хусусиятлари билан боғлиқ номзод ген/оқсилларни аниқлаш.

Тадқиқот объекти сифатида ғўзанинг *Gossypium* L. туркуми *Karpas*.Raf кенжа туркумига мансуб *purpurascens* кенжа турининг *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда индуцирланган мутагенез ва ўз-ўзидан чатиштириш усулларини қўллаш натижасида олинган «Кўпайсин» нави олинган.

Тадқиқот предмети *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* ҳамда «Кўпайсин» навининг морфобиологик ва қимматли хўжалик белгилари, мутагенез таъсирида «Кўпайсин» навининг *El-salvador* шаклидан геном нуқтаи назаридан ўзгарганлиги, ўзаро чатиштириш натижасида олинган дурагайларда морфобиологик ва генетик ўзгарувчанлиги каби таҳлиллари ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертацияда ғўза генетикаси ва селекциясининг анъанавий усулларидан (дурагайлаш, қиёсий морфология, фенологик кузатувлар), молекуляр-генетика ёндашувларидан (геном ДНК ажратиш, гель-элетрофорез, ПЗР), геномика ва биоинформатика усулларидан (*in silico* ПЗР таҳлили, генларни башорат қилиш) ҳамда замонавий статистика дастурларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор маълум миқдордаги молекуляр маркерлар ёрдамида *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* билан ундан, индуцирланган мутагенез ва ўз-ўзидан чатиштириш усулларини қўллаш натижасида олинган «Кўпайсин» нави ўртасидаги генетик полиморфизм даражаси аниқланган;

қимматли хўжалик ҳамда морфобиологик белгиларга алоқадор QTL/генларни хариталашда хизмат қиладиган ДНК маркерлар панели яратилган;

генетик жиҳатдан полиморф маркерлар асосида иккинчи (F_2) авлод дурагайлари генотипланган;

генотипик таҳлиллардан фойдаланиб бирикканлик ҳамда МБЛ (QTL) хариталари тузилган;

In silico ПЗР усулидан фойдаланиб *G.hirsutum* тури геноми асосида полиморфик маркер регионларининг хромосомалардаги ўрни (жойлашган худудлари) аниқланган;

NCBI BLAST ҳамда Augustus веб-иловалари ёрдамида баъзи морфобиологик белгиларнинг юзага чиқишида иштирок этиш эҳтимоллиги мавжуд бўлган номзод генлар/оқсиллар топилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари куйидагилардан иборат:

ғўзанинг *G.hirsutum* тури *purpurascens* кенжа тури *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» навлари иштирокида молекуляр генетик тадқиқотлар учун қимматли экспериментал (F_2 авлод дурагай) популяция яратилган;

маркерларга асосланган селекция (МАС) дастури учун фойдаланиш мумкин бўлган QTL маркерлари аниқланган;

зараркунанда ва ҳашаротларга чидамли, ҳосилдор ҳамда эртапишар навларни яратиш мақсадида олиб бориладиган селекция ишларида бошланғич манба сифатида фойдаланилиши мумкин бўлган донор намуналар ажратиб олинган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги замонавий, бир-бирини тўлдирувчи молекуляр генетик, биоинформатик ва статистик усуллар ҳамда назарий ва амалий маълумотларга ёндашувлар, кўп йиллик тадқиқотларнинг услубий жиҳатдан тўғри қўйилганлиги, олинган натижаларнинг дунё ҳамда мамлакатимиз олимлари тадқиқот натижалари билан таққосланганлиги, тадқиқотлар натижаларининг маҳаллий ва халқаро илмий-амалий конференцияларда ҳамда етакчи илмий журналларда эълон қилинганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти ғўзанинг *G.hirsutum* тури *purpurascens* кенжа тури *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» навлари иштирокида молекуляр генетик тадқиқотлар учун қимматли экспериментал (F_2 авлод дурагай) популяция яратилганлиги, тадқиқот натижаларида морфобиологик ва қимматли хўжалик белгилари молекуляр-генетик таҳлил қилинганлиги билан изоҳланади. *G.hirsutum* тури *purpurascens* кенжа тури *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» навлари туричи хилма-хилликлари вакиллари асосида морфоҳўжалик белгиларни молекуляр хариталаш учун ДНК-маркерлар панели тузилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти ғўза навларини яратишда туричи дурагайлаш усулларини қўллаш, ғўзанинг ёввойи шакл ва турларини дурагайлаш ишларига жалб қилиш асосида олинган шакллари селекция тадқиқотларида дастлабки манба сифатида фойдаланиш мумкинлиги молекуляр жиҳатдан исботланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Ғўза намуналарини туричи чатиштириш натижасида олинган F_1 ва F_2 авлод дурагайлари белгиларининг морфобиологик белгилари ирсийланиши асосида:

G.hirsutum тури *purpurascens* кенжа тури *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» навини туричи дурагайлаш натижалари асосида яратилган F_2 дурагай ўсимлик популяцияси уруғлари Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институтининг «Ғўза генофонди» ноёб объекти коллекциясига тақдим этилган (Ўзбекистон Республикаси фанлар академиясининг 2021 йил 20 январдаги 4/1255-150-сон маълумотномаси). Натижада, ушбу иккинчи авлод дурагай уруғлари ўрта толали ғўза коллекцияси фондини янада бойитиш билан бир қаторда, фундаментал ва амалий лойиҳаларда бошланғич ашё сифатида фойдаланиш ҳамда электрон базаси ахборот-таҳлил тизимини шакллантириш имконини берган;

ғўзанинг «Кўпайсин» навидан молекуляр генетик таҳлиллар натижасида фермер хўжаликлари учун муҳим бўлган эртапишарлик, касалликка чидамлик ҳамда серҳосиллиги каби белги ва хусусиятларни турғун бўлган дурагай тизмалар ажратиб олинган ва селекцияга жорий этилган (Ўзбекистон фермер, деқон хўжаликлари ва томорқа ер эгалари кенгашининг 2021 йил 15 январь 01/03-0144-сон маълумотномаси). Натижада, *El-salvador* ёввойи шаклида мужассам бўлган қимматли-хўжалик белгиларини иккинчи авлод дурагайларида юзага чиқиши селекцияда донор линиялар ажратиб олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот натижалари 7 та, жумладан 2 та ҳалқаро, 5 та республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 14 та илмий иш чоп этилган, шундан Ўзбекистон Республикаси Олий Аттестация Комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижалари чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 6 та мақола, жумладан 5 таси республика ва 1 таси ҳорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертация ҳажми 120 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «*GOSSYPIMUM L.* Туркумида молекуляр-генетик тадқиқотлар таҳлили» деб номланувчи биринчи бобида диссертация мавзуси доирасида хорижий ва республикамиз олимлари томонидан олиб борилган тадқиқотлар тўғрисида маълумотлар келтирилган. *Gossypium L.* туркумининг келиб чиқиш тарихи, систематикаси ҳамда таксономик ҳолати, морфо-биологик аҳамияти, МАС технологиясининг тарихи, ДНК маркерлари турлари ва уларнинг номланиши ҳамда тадқиқотларда қўлланилиши тўғрисидаги маълумотлар ёритиб берилган.

Шунингдек, ғўзада бирикканлик хариталарини тузиш ва улар асосида тавсия этилган қимматли хўжалик белгиларига бириккан ДНК маркерлари ҳамда ғўзада морфобиологик ҳамда қимматли хўжалик белгиларни бошқарувчи QTL ларни генетик хариталаш усуллари ёритиб берилган. Ғўзада *in silico* ПЦР ва биоинформатик таҳлиллардан фойдаланиб, номзод генлар ва оксилларни аниқлаш бўйича олиб борилган тадқиқотлар шарҳи келтириб ўтилган.

Диссертациянинг «Тадқиқот ўтказилган жой ва шароити, манбаи ва услублари» деб номланган иккинчи бобида тажриба олиб бориш жойи, шароити, манбалари ва услублари батафсил ёритилган.

Ўсимлик материаллари, фойдаланилган реагентлар ва ускуналар, ДНК ажратиш усуллари, ПЗР, гел-электрофорез ва генотиплаш, статистик таҳлиллар, миқдорий белгилар локусларини (QTL) молекуляр генетик хариталаш ҳамда биоинформатик таҳлиллар ўтказиш усуллариининг қисқача тавсифи келтирилган.

Тажрибалар 2010-2021 йиллар мобайнида Геномика ва биоинформатика маркази лабораториясида ва ҳамда ушбу марказ қошидаги Махсус уруғчилик хўжалигида олиб борилган.

Диссертациянинг «Туричи дурагайлаш ҳамда F₁ ва F₂ авлодларида морфобиологик белгиларнинг ирсийланишини ўрганиш» деб номланган учинчи бобида қуйидаги натижалар келтирилган: Ушбу бобнинг биринчи бўлимида бошланғич манбаларни танлаш ва уларнинг морфобиологик белги ва хусусиятларини ўрганиш, фенотипик кузатув натижалари келтирилган.

Мазкур бобнинг F₁ ҳамда F₂ авлод дурагайларида морфобиологик белгиларнинг ирсийланиши ва уларнинг статистик таҳлили деб номланган иккинчи бўлимида, F₂ авлод дурагайлари ота-она намуналари билан биргаликда тажриба даласида экиб ўстирилганлиги ва уларда ғўзанинг баъзи морфобиологик ва хўжалик белгиларини ўрганиш бўйича фенотипик кузатувлар олиб борилганлиги келтирилади (1-жадвал).

Биринчи ва иккинчи авлод дурагайларида кўсак сони, кўсакдаги чанок сони белгилари бўйича «Кўпайсин» нави доминантлик қилган. Симподиал шоҳлар сони, антоциан доғ, шоҳланиш типи ва туп шакли белгилари бўйича биринчи авлод дурагайларида «*El-salvador*» ёввойи шакли доминантлик қилган. Симподиал шоҳлар сони иккинчи авлод дурагайларида ўртача кўрсаткичи ота-она ва биринчи авлод дурагайларидан юқори бўлган ўсимликлар улуши кўплигини кузатиш мумкин. Бу эса иккинчи авлод

дурагайларида симподиал шохлар сони юқори бўлган рекомбинант ўсимликларни танлаб олиш имкониятини беради.

1-жадвал

Фенотипик кузатувлар асосида ўрганилган Ота-она намуналари ҳамда F₁ ва F₂ авлод дурагайларидаги айрим морфо-хўжалик белгиларининг ўртача кўрсаткичлари

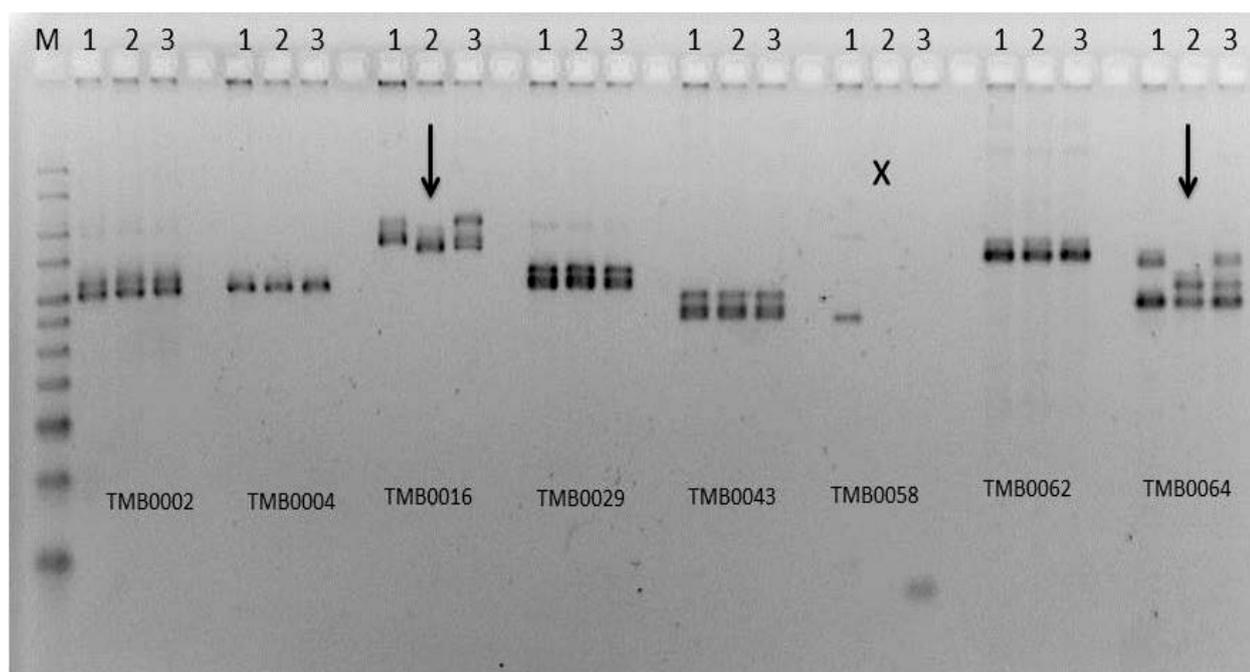
№	Белгилар	«Кўпайсин» нави	<i>El- salvador</i> ёввойи шакли	F ₁ авлод дурагайи	F ₂ авлод дурагайлари
1.	Ўсимлик бўйи, см	80	175	120	110
2.	Моноподиал шохлар сони, дона	0	7	5	4
3.	Симподиал шохлар сони, дона	15	5 (калта ва кучсиз)	5	17
4.	Бўғинлар сони, дона	18	26	21	25
5.	Кўсак шакли	тухумсимон	тухумсимон	тухумсимон	конуссимон-23, шарсимон-1, тухумсимон-112
6.	Кўсакдаги чаноқ сони, дона	4-5 та	3-4 та	4-5	4-5
7.	Кўсак сони, дона	15/7*	-	13/0	15/1
8.	Шохланиши	чекланмаган	чекланмаган	чекланмаган	чекланмаган
9.	Шохланиш типи	1-тип	2-3 тип	2-3	1-3
10.	Антацион доғ	кучли	ўртача	ўртача	оралиқ
11.	Поянинг тукланиши	кучли	сийрак	ўртача	кучли – 13%, ўртача – 40%, сийрак(кам) – 47%
12.	Туп шакли	ғуж	тарқоқ	тарқоқ	ғуж – 12.3%, тарқоқ – 87.7%
13.	Биринчи ҳосил шохи -hs	4	13-14	17	8,5

Чатиштириш натижасида олинган биринчи (F₁) ва иккинчи (F₂) авлод дурагайларида морфологик белгиларнинг ўртача кўрсаткичлари статистик таҳлиллар асосида ўрганилди. Бундан ташқари ота-она намуналари ўртасида юқори полиморфизм мавжудлиги аниқланди. Бу эса ўз навбатида аниқланган ушбу полиморф маркерларнинг юқорида келтирилган морфобиологик ҳамда қимматли хўжалик белгилар билан генетик боғланган QTL-локусларни хариталашда муҳим аҳамият касб этади.

Диссертациянинг «Молекуляр маркерлар ёрдамида тадқиқот намуналари генотипик таҳлили ва QTL хариталаш» деб номланган тўртинчи бобининг биринчи бўлими ота-она намуналари ўртасида генетик

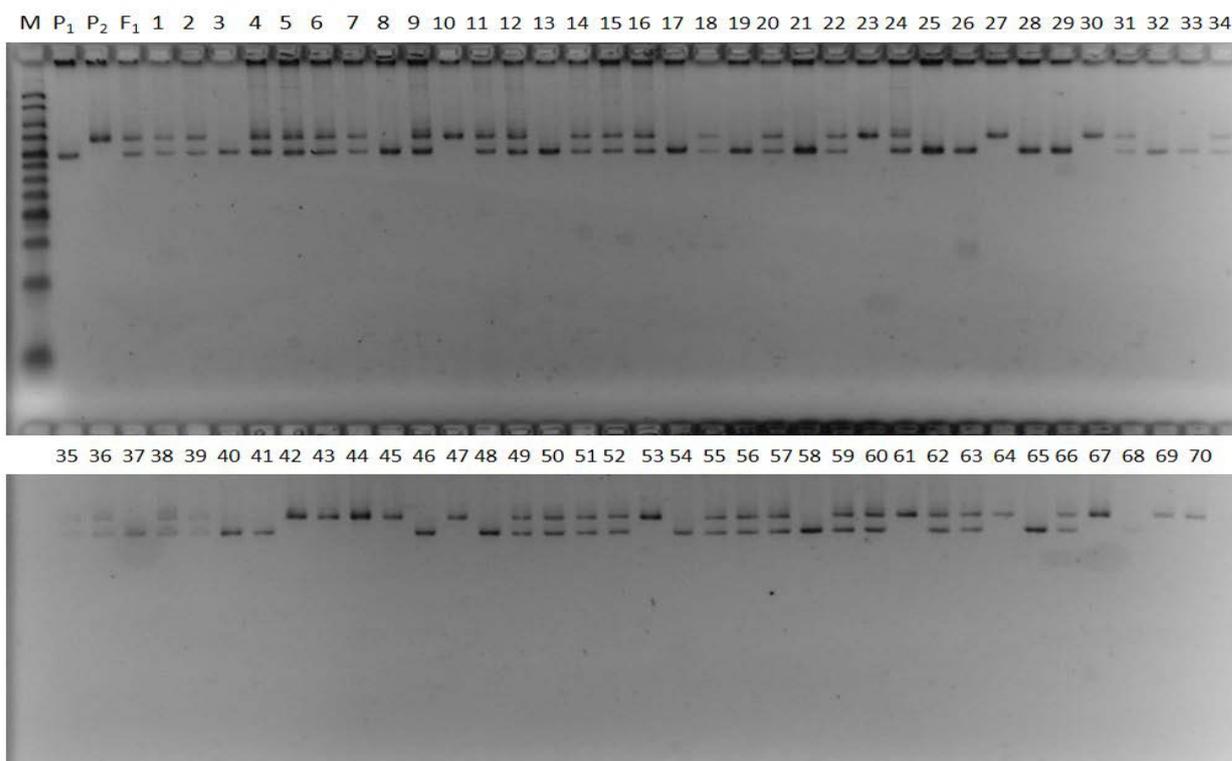
полиморфизмни аниқлаш деб номланиб, қуйидаги натижалар келтирилган: микросателлит GH, TMB, BNL, JESPR маркерлардан фойдаланиб ота-она генотиплари ўртасидаги молекуляр полиморфизм аниқланди, аниқланган полиморф маркерлар ёрдамида F₂ авлод дурагайларини генотиплаш ишлари бажарилди.

Полиморфизмни аниқлаш мақсадида ота-она генотиплари 336 та микросателлит (ёки SSR - simple sequence repeat) маркерлар билан ПЗР усули ёрдамида таҳлил қилинди. Амплификация натижаларига кўра 336 та SSR праймерларидан 69 таси ота-она генотиплари ўртасида полиморфизм намоён этди (1-расм).

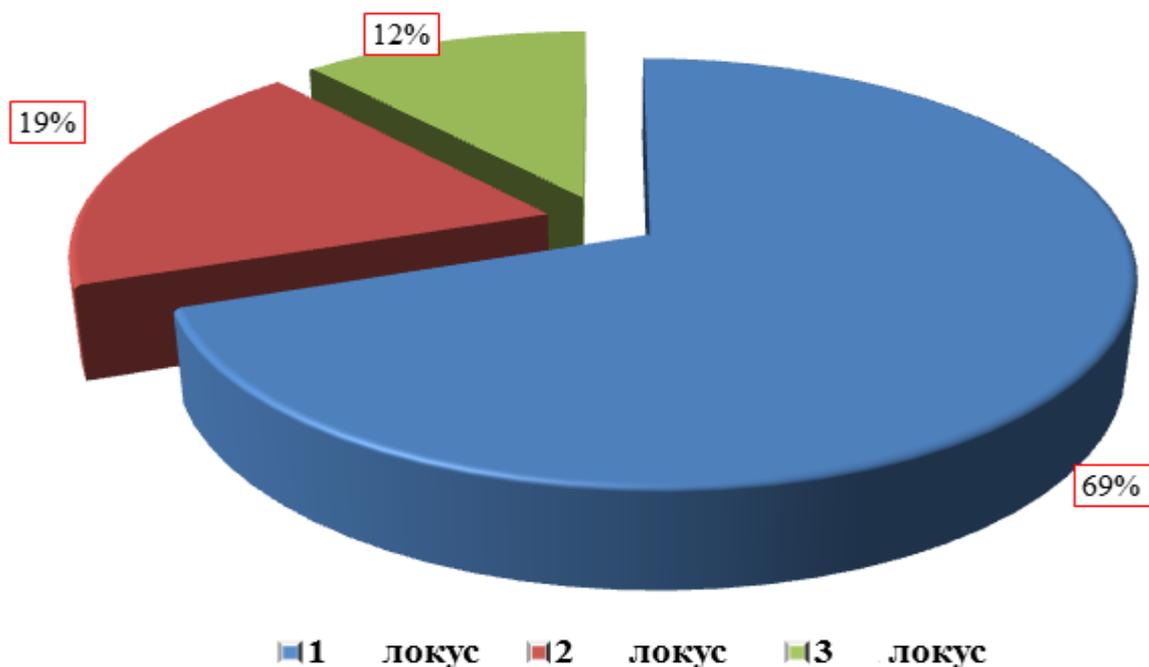


1-расм. Ота-она F₁ дурагайнинг TMB праймерлари ёрдамидаги ПЗР таҳлили. Бунда 1- *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. «El-salvador»; 2) «Кўпайсин» нави; 3) F₁ авлод дурагайи. Кўрсаткич билан полиморфик маркер кўрсатилган.

Бобнинг «F₂ авлод дурагайларининг молекуляр-генотипик таҳлили» деб номланган иккинчи бўлимида дурагайлаш учун ота-она намуналари сифатида фойдаланилган *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» навлари ўртасида полиморфизм намоён этган ДНК-маркерлар F₂ авлод дурагайларини ПЗР скрининг қилишда фойдаланилди (2-расм).



2-расм. Ко-доминант маркер (ТМВ1271). М – Молекуляр оғирлик маркери. P₁ – “Кўпайсин” нави; P₂ – *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* ёввойи шакли; F₁ – биринчи авлод дурагайи; 1-70 – иккинчи авлод F₂ дурагай намуналари.



3-расм. SSR-маркерлар томонидан геномдаги амплификацияланган локуслар улуши

Молекуляр таҳлиллар натижасида 69 та полиморфик праймер жуфтлиги ёрдамида 82 маркер локуслари амплификация қилинди. Полиморф праймерларнинг 48 таси биттадан локус, 13 таси иккитадан ҳамда 8 жуфт праймерлар эса 3 тадан локусларни амплификацияланишини таъминлади (3-

расм). Умумий ҳисобда молекуляр тадқиқотлар учун фойдаланилган жами 69 та полиморф SSR праймер жуфтлари иштирокида 265 та аллеллар амплификацияланганлиги кузатилди.

2-жадвал.

Хариталашган ва хариталашмаган SSR маркерлари ҳақида маълумот.

№	Фойдаланилган SSR маркерлари тўплами	Хариталашган маркерлар сони	Хариталашмаган маркерлар сони
1	BNL SSR	19	2
2	GH SSR	11	1
3	JESPR SSR	9	1
4	TMB SSR	24	2
	Жами:	63	6

3-жадвал.

Бирикканлик гуруҳлари ҳақида маълумот.

№	Бирикканлик гуруҳлари	Эҳтимолий хромосома	Маркерланган локуслар сони	Хаританинг умумий узунлиги (сМ)	Хаританинг ўртача масофаси/маркер
1	LG.01	03-хр.	8	121,7	15,2
2	LG.02	05-хр.	15	144,8	9,7
3	LG.03	07-хр.	4	88,3	22,1
4	LG.04	11-хр.	5	40,6	8,1
5	LG.05	12-хр.	6	59,9	10,0
6	LG.06	16-хр.	8	109,3	13,7
7	LG.07	19-хр.	12	129,8	10,8
8	LG.08	23a-хр.	7	108,6	15,5
9	LG.09	23b-хр.	4	54,2	13,6
	Жами:		63	857,2	13,6

Ушбу бобнинг «Генетик бирикканлик харитасини тузиш» деб номланган учинчи бўлимида генотиплаш натижасида олинган маълумотлар асосида F₂ авлод дурагай комбинацияси учун 857,2 сМ (сантиморган) узунликдаги генетик бирикканлик харитаси яратилди. F₂ авлод дурагай комбинацияси генетик бирикканлик харитасида LOD (logarithm of odds) бали ≥5 бўлган ҳолда 63 та маркер 9 та бирикканлик гуруҳини ўз ичига олди. Ушбу бирикканлик харитасида икки маркер орасидаги ўртача генетик масофа 13.6 сМ ни ташкил этди. Дунё олимлари томонидан эълон қилинган аввалги генетик хариталарга таққосланганда, ушбу бирикканлик харитаси 8 та (3-хр., 5-хр., 7-хр., 11-хр., 12-хр., 16-хр., 19-хр. ҳамда 23-хр.) эҳтимолий ғўза

хромосомаларини намоён этди. Ушбу бирикканлик харитаси фақат 23-хромосомада иккита, қолганларида эса биттадан бирикканлик гуруҳларини ўз ичига олди (2-жадвал ҳамда 3-жадваллар).

Шундай қилиб, 63 та SSR маркерлари ёрдамида олиб борилган тадқиқотлар ва бугунги кунгача шу йўналишда чоп этилган илмий мақолалар асосида ушбу маркерларнинг ғўза хромосомалари бўйича тахминий позицияси аниқланди.

Ушбу бобнинг «**Микдорий белгиларни QTL-хариталаш**» деб номланган тўртинчи бўлимида полиморфик SSR маркерлар ҳамда баъзи морфологик ҳамда қимматли хўжалик белгилар ўртасидаги ўзаро боғлиқликни аниқлаш учун, гуллаш муддати турлича бўлган 130 та иккинчи (F₂) авлод дурагайлари иштирокида QTL таҳлили ўтказилди.

4-жадвал.

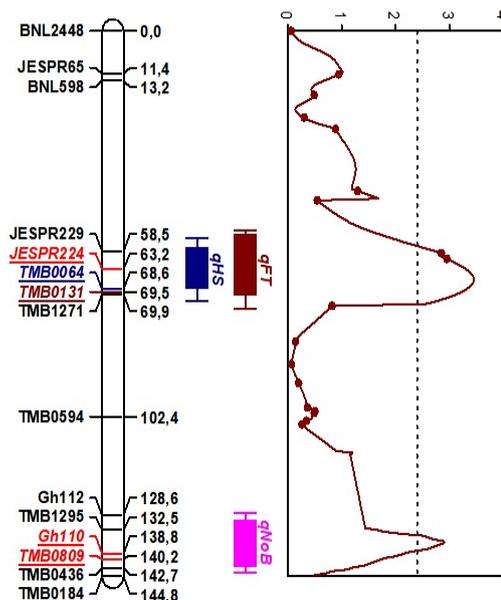
Идентификация қилинган QTL-локуслари ва SSR маркерлари бўйича маълумот

№	QTL	Белги	Бирикканлик гуруҳи (Хр.)	Тахминий жойлашган хромосомаси	Бириккан маркерлар	Позицияси (сМ)	LOD	Ҳавола ва адабиётлар	
								Маркернинг бошқа белгиларга ассоциацияси ва у жойлашган хромосома	Ҳавола
<i>Гуллаш муддати (эртапишарлик) белгилари билан ассоциацияланган QTL-локуслари</i>									
1	<i>qHS</i>	Биринчи ҳосил шохи баландлиги	LG.02	05-хр.	JESPR224_175-TMB0064_180	60.20-69.72	3.64	Тола микронейри (25-хр.) Тола узунлиги (11-хр.)	Wang <i>et al.</i> , (2017); Shi <i>et al.</i> , (2019).
2	<i>qNOB</i>	Очилган кўсақлар сони	LG.02	05-хр.	GH110_130-TMB0809_205	135.90-141.20	3.24	Симподиал шоҳлар сони (5-хр.)	Li <i>et al.</i> , (2014)
3	<i>qFT</i>	Гуллаш муддати	LG.02	05-хр.	JESPR224_175-TMB0131_240	58.90-69.91	3.64	Тола микронейри (25-хр.)	Wang <i>et al.</i> , (2017); Shi <i>et al.</i> , (2019).
<i>Морфобиологик белгилар билан ассоциацияланган QTL-локуслари</i>									
4	<i>qHS</i>	Симподиал шоҳлар сони	LG.04	11-хр.	JESPR296_135-TMB0064_200	21.20-22.40	3.71	Тола микронейри (25-хр.) Тола узунлиги (11-хр.)	Wang <i>et al.</i> , (2017); Shi <i>et al.</i> , (2019).
5	<i>qNS</i>	Симподиал шоҳлар сони	LG.06	16-хр.	BNL1064_150-TMB0016_250	48.30-56.40	4.2	Толанинг бир хиллиги (25-хр.)	Sun <i>et al.</i> , (2012)

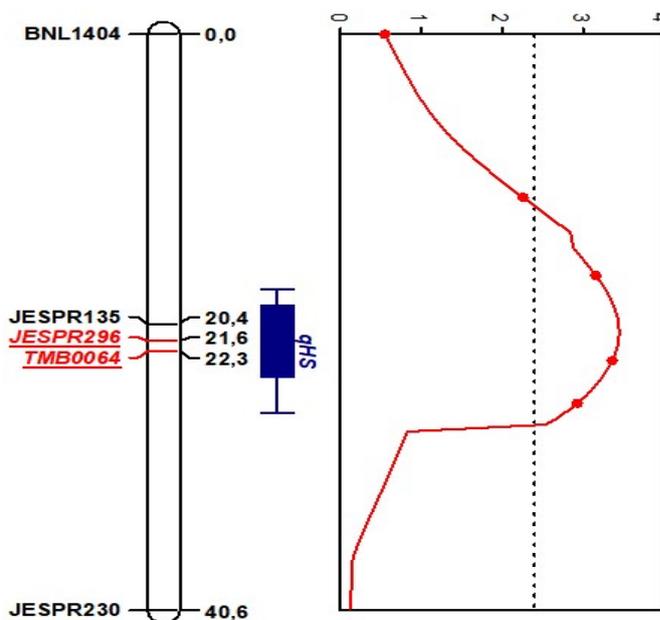
*Эслатма: q – QTL маъносини билдириб, ундан кейин ўрганилган белгиларнинг шартли қисқартмалари келади; FT - гуллаш муддати; HS - биринчи ҳосил шохининг баландлиги; NS - симподиал шоҳлар сони; NOB - очилган кўсақлар сони; PH - ўсимликнинг баландлиги;

Умумий ҳисобда, тадқиқ қилинган 6 та морфоҳўжалик белгилар билан жами 5 та QTL-локусларнинг генетик бирикканлиги аниқланди (4-жадвал). Ўз навбатида, композицион интервал хариталашга кўра, 5 та QTL дан 3 таси айнан ғўзадаги эрта гуллаш (эртапишарлик) хусусияти билан бевосита ва билвосита алоқадор бўлган (гуллаш муддати – FT, биринчи ҳосил шохининг баландлиги – HS ҳамда очилган кўсақлар сони - NOB) белгиларга генетик бирикканлиги аниқланди ($p \leq 0,05$). Ушбу локуслар 2-бирикканлик гуруҳига (LG.02) тўғри келди.

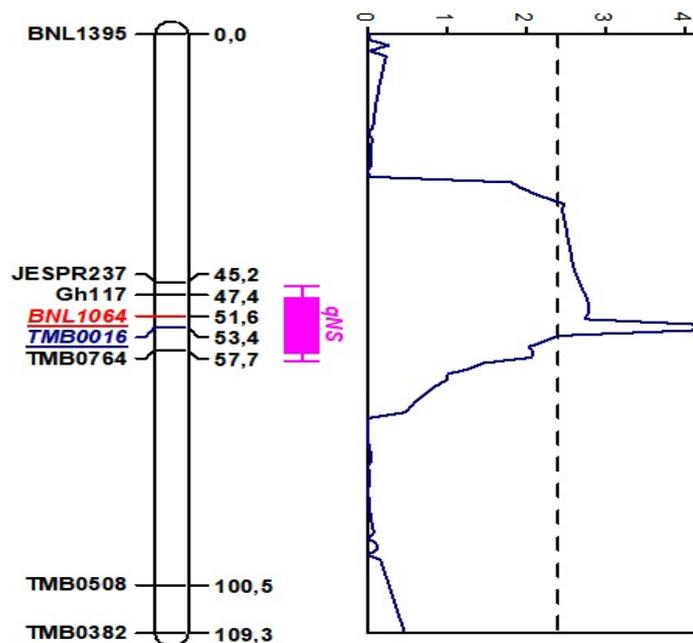
Шуни алоҳида таъкидлаш жоиз-ки, индуцирланган мутагенез носпецифик ҳисобланиб, тасодифий равишда мутант генотиплар геномида гуллаш муддати билан боғлиқ ёки боғлиқ бўлмаган кўплаб мутацияларни келтириб чиқариши мумкин. LG.04 (11-хр.) бирикканлик гуруҳида ҳосил шохи баландлиги (HS, height of sympodia) белгиси билан ассоциацияланган QTL-локуси ($LOD \geq 3.7$) аниқланди (4- расм ва 4-жадвал). Шунингдек, симподиал шохлар сони (Number of sympodia -NS) белгисига юқори LOD-балл (4,2) билан генетик бириккан QTL-локуси LG.06 (16-хр.) бирикканлик гуруҳида идентификация қилинди (6- расм ва 4-жадвал).



4-расм. LG.02 (5-хр.) бирикканлик гуруҳидаги гуллаш муддати (FT, Flowering time), ҳосил шохи баландлиги (HS, height of sympodia) ҳамда очилган кўсақлар сони (NOB, Number of bolls) белгилари билан ассоциацияланган QTL-локусларининг жойлашуви.



5-расм. LG.04 (11-хр.) бирикканлик гуруҳидаги ҳосил шохи баландлиги (HS, height of sympodia) белгиси билан ассоциацияланган QTL-локусининг жойлашуви.



6-расм. LG.06 (16-хр.) бирикканлик гуруҳидаги ҳосил шохлар сони (NS, Number of sympodia) белгиси билан ассоциацияланган QTL-локусининг жойлашуви.

Шунингдек, QTL таҳлилида биринчи ҳосил шохининг баландлиги (HS), очилган кўсаклар сони (NOB) каби ғўзанинг гуллаш ва/ёки пишиб етилиши билан ассоциацияланган локуслар ҳам идентификация қилинди. Ушбу QTL-локуслари ўрганилган белгиларнинг у ёки бу даражадаги (6% дан 85% гача) генетик вариациясини белгилади (4-жадвал). Шундай қилиб, “очилган кўсаклар сони” (NOB) ҳамда “биринчи ҳосил шохининг баландлиги” (HS) белгиларига ассоциацияланган QTL-локуслари $LOD \geq 3,6$ балл билан 5-хромосомада топилган бўлса (4-, 5-расмлар ва 4-жадвал), “симподиал шохлар сони” белгиси билан генетик бириккан QTLлар 5-, 11- ва 16-хромосомаларда жойлашганлиги аниқланди (6-расм ва 4-жадвал).

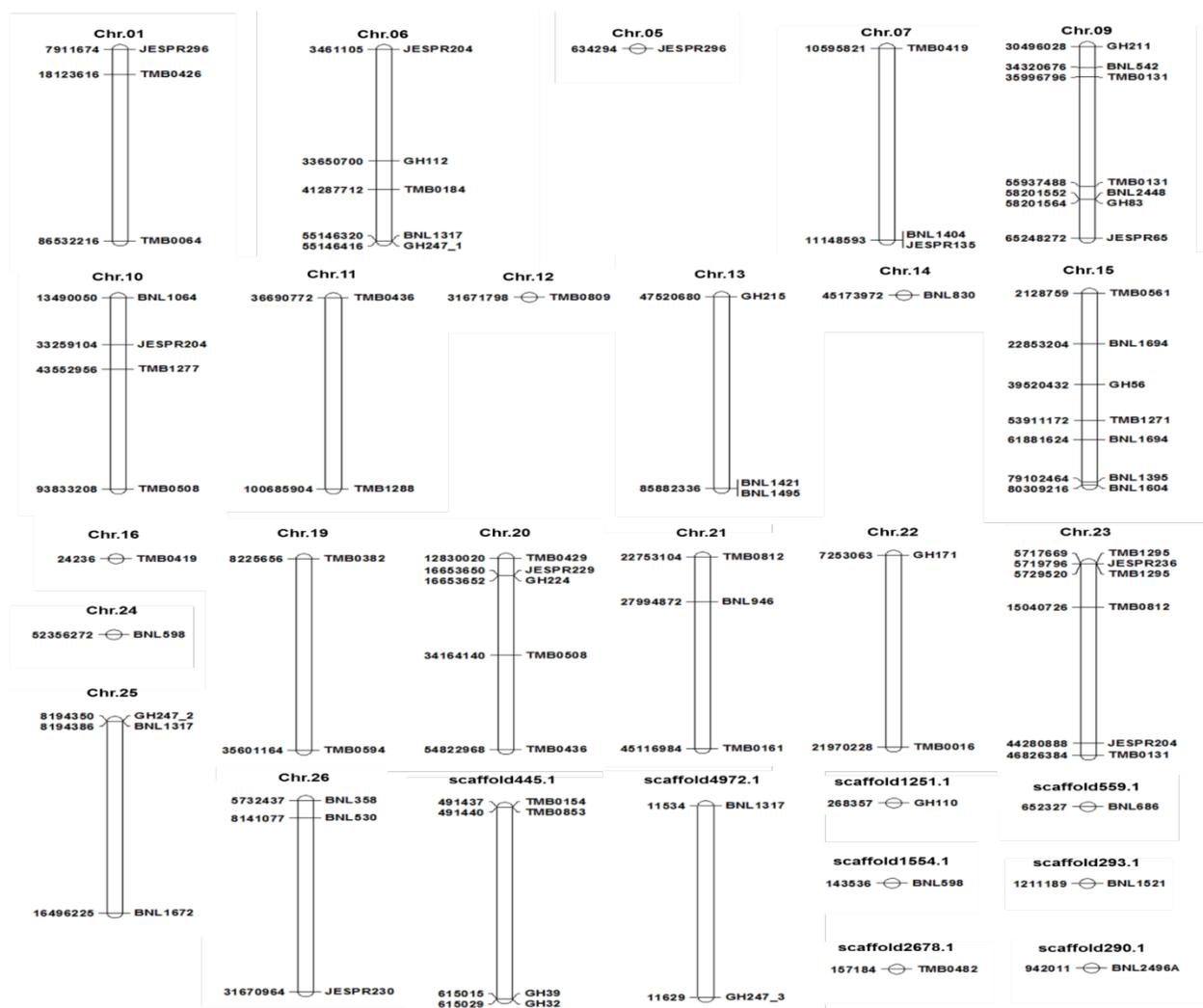
Диссертациянинг «**номзод генларни аниқлаш бўйича биоинформатик таҳлиллар олиб бориш**» деб номланган бешинчи бобида генларни аннотациялаш – яъни *in silico* усулларида фойдаланиб генларни идентификация қилиш, генлар ва оқсиллар кетма-кетлиги таҳлили асосида уларнинг функцияларини башорат қилиш ёки аниқлаш тўғрисида маълумотлар берилган.

Ugene дастуридан фойдаланиб *in silico* ПЗР ўтказиш деб номланган бешинчи бобнинг биринчи бўлимида қуйидаги натижаларга тўхталиб ўтилган: *in silico* ПЗР ўтказишда «*El-salvador*» ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» нави ўртасида генетик тафовут мавжудлигини намоён этган 69 та полиморфик маркерлардан фойдаланилди. Энг аввало UGENE 33.0 биоинформатик дастурлар пакети ёрдамида *in silico* ПЗР амалга оширилди.

Таҳлил натижаларига биноан *in silico* ПЗР учун фойдаланилган жами 69 та маркердан 59 таси иштирокида умумий миқдорда 75 дона виртуал ампликон маҳсулоти ишлаб чиқилган. Шундан, 63 таси ғўзанинг тартиблаштирилган 26 хромосомасига тўғри келган бўлса, қолган 12 та виртуал ПЗР маҳсулоти

хромосомаларнинг тартиблаштирилмаган бўлакларида (яъни scaffold деб аталувчи қисмларида) амплификацияланганлиги аниқланди.

G.hirsutum геном кетма-кетлиги асосида полиморфик маркерларни хариталаш ва уларнинг хромосомалардаги позицияларини аниқлаш деб номланган бешинчи бобнинг иккинчи бўлимида аввало ушбу виртуал ампликонларнинг *G.hirsutum* тури геномидаги, яъни хромосомалардаги локацияларини (жойлашган ўрниларини) тасвирлаш мақсадида MapChart 2.2 биоинформатик дастуридан фойдаланиб хариталаш амалга оширилди (7-расм). Бунда, маркер регионларининг ҳақиқий позицияси тўғри тартибдаги праймер кетма-кетлиги жойлашган координат бўйича аниқланди (7-расм).



7-расм. Маркер локусларининг *G.hirsutum* тури геномидаги, яъни хромосомалардаги локациялари бўйича карта.

AUGUSTUS веб-иловаси ёрдамида тахминий генларни аниқлаш деб номланган бешинчи бобнинг учинчи қисмида генларни структуравий жиҳатдан аниқлаш мақсадида геномдан ажратиб олинган ДНК кетма-кетликлари AUGUSTUS 3.1.0. веб-иловаси қидирув бўлинмасига жойланди ва эҳтимоллий генлар аниқланди. Бунда веб-илованинг маълумотлар базасида мавжуд бўлган модель-ўсимлик *Arabidopsis thaliana* геномидан

фойдаланилди. Таҳлил натижаларига кўра, 723 та эҳтимолий генлар ҳамда 838 та транскрипт вариантлар (1 геннинг 1 тадан ортиқ варианты) аниқланди.

BLAST таҳлили асосида номзод ген/оқсилларни аниқлаш деб номланган қисмида аниқланган тахминий генлар аминокислота кетма-кетликларига ўгирилиб NCBI BLAST маълумотлар базасидаги “protein blast” алгоритми ёрдамида қидирув амалга оширилди. Қидирув натижаларига мувофиқ, танлаб олинган маркерлар бир қатор белгиларнинг юзага чиқишида иштирок этиши мумкинлиги башорат қилинди. Масалан, TMB0561 маркер худуди иштирокида серин ёки треонин аминокислоталарининг ОН гуруҳларини фосфорлайдиган киназа ферментларига тегишли бўлган серин/треонин/треозин киназа оқсиллари аниқланди.

Шунингдек, TMB0561 микросателлит маркери жойлашган регионда LRR (leucine-rich repeat) рецептор-кўринишдаги серин/треонин-протеин киназа RCH1 оқсиллари учраши маълум бўлди. Илмий манбаларда LRR рецептор-кўринишдаги серин/треонин-протеин киназа RCH1 оқсиллари илдиз меристема қисмининг ўсишини бошқариши ҳақида маълумотлар келтирилади (Abdurakhmonov I.Y 2005).

Олинган таҳлиллар натижасида «*El-salvador*» ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» нави ўртасида полиморфизм намоён этган микросателлит маркерларнинг хромосомадаги позицияси аниқланди. Шунингдек, TMB праймерлар тўпламига мансуб баъзи маркерлар ёрдамида ғўзада учраши мумкин бўлган ген ва оқсиллар башорат қилинди. Келгусида аниқланган ушбу номзод генлар ёрдамида ген маркерлари дизайн қилиниши ҳамда маркерларга асосланган селекция технологиясидан фойдаланиб селекция жараёнларига тадбиқ этилиши мумкин.

ХУЛОСАЛАР

«*G.hirsutum* L. биохилма-хилликлари туричи дурагайларида морфобиологик белгилари ирсийланишининг молекуляр-генетик таҳлили» мавзуси бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари асосида қуйидаги хулосаларга келинди:

1. Дурагайлаш натижасида олинган биринчи (F_1) ва иккинчи (F_2) авлод дурагайлари морфологик белгиларнинг ўртача кўрсаткичлари статистик таҳлил қилинди.

2. F_2 авлод дурагай комбинациясидан фойдаланиб 857,2 сМ (сантиморган) узунликдаги 9 та бирикканлик гуруҳини ўз ичига олган генетик бирикканлик харитаси яратилди.

3. 5-хр. бирикканлик гуруҳидаги гуллаш муддати, ҳосил шохи баландлиги ҳамда очилган кўсаклар сони, 11-хр. ҳосил шохи баландлиги, 16-хр. ҳосил шохлар сони белгиси билан ассоциацияланган QTL-локуслари жойлашганлиги аниқланди.

4. Ugene дастуридан фойдаланиб *in silico* ПЗР натижалари таҳлил қилинганда, 4 та маркерда 3 тадан ампликон, 8 та маркер ёрдамида 2 тадан ҳамда 47 та маркер иштирокида биттадан ампликон синтезланганлиги аниқланди.

5. *G.hirsutum* геном кетма-кетлиги асосида полиморфик маркерларни хариталаш ва уларнинг хромосомалардаги позицияларини аниқлаш мақсадида MapChart 2.2 биоинформатик дастуридан фойдаланиб хариталаш амалга оширилди.

6. AUGUSTUS веб-иловаси ёрдамида тахминий генларни аниқлаш таҳлил натижаларига кўра, 723 та эҳтимолий генлар ҳамда 838 та транскрипт вариантлар (1 геннинг 1 тадан ортиқ варианты) аниқланди

7. TMB праймерлар тўпламига мансуб баъзи маркерлар ёрдамида ғўзада учраши мумкин бўлган ген ва оқсиллар башорат қилинди.

8. F₁ ҳамда F₂ авлод дурагайларида морфобиологик белгиларнинг ирсийланиши ва уларнинг статистик таҳлили асосида яратилган F₂ авлод дурагай популяцияси келгусида ғўзадаги муҳим морфобиологик ҳамда хўжалик белгиларни молекуляр генетик хариталашда қимматли манба сифатида хизмат қилади.

ТАВСИЯЛАР

G.hirsutum тури *purpurascens* кенжа тури *El-salvador* ёввойи шакли ҳамда «Кўпайсин» навлари иштирокида яратилган экспериментал (F₂ авлод дурагай) популяция келгусида ғўзанинг қимматли хўжалик белгиларини янада ёрқинроқ (fine mapping) хариталаш бўйича молекуляр генетик тадқиқотларда фойдаланилиш тавсия этилади.

Идентификация қилинган QTL маркерлари ҳамда ажратиб олинган донор намуналар Маркерларга асосланган селекция (МАС) дастурида зараркунанда ҳашаротларга чидамли, ҳосилдор ҳамда эртапишар навларни яратиш мақсадида олиб бориладиган селекция ишларида бошланғич манба сифатида ишлатилиши мумкин.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.29.08.2017.В.53.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ ГЕНЕТИКИ И
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ _ _**

ЦЕНТР ГЕНОМИКИ И БИОИНФОРМАТИКИ

КОМИЛОВ ДОНИЁР ДЖУРАЕВИЧ

**«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ
МОРФОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ У ВНУТРИВИДОВЫХ
 ГИБРИДОВ БИОРАЗНООБРАЗИЯ *G.HIRSUTUM L.*»**

03.00.14 – Геномика, протеомика и биоинформатика

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент - 2022

Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан под номером B2022.1.PhD/B380.

Диссертационная работа выполнена в Центре геномики и биоинформатики Академии наук Республики Узбекистан.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещён на сайте Научного совета (www.namdu.uz) и на Информационно-образовательном портале «Ziyonet» (www.ziyonet.uz).

Научный руководитель : **Кушанов Фахриддин Нематуллаевич**
Доктор биологических наук, старший научный сотрудник

Официальные оппоненты: **Бозоров Тохир Ахмадович**
Доктор биологических наук, старший научный сотрудник

Макамов Абдусалом Хасанбоевич
PhD, старший научный сотрудник

Ведущая организация: **Научно-исследовательский институт селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка**

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2022 г. на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.B.53.01 по присуждению ученых степеней при Институте генетики и экспериментальной биологии растений (Адрес: 111208, Ташкентская область, Кибрайский район, Юкори-Юз п/б, конференц-зал Института генетики и экспериментальной биологии растений. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-22-30; электронная почта: igebr@academy.uz, генетика@uzsci.net, gen@inst.gov.uz).

С диссертационной работой можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института генетики и экспериментальной биологии растений (зарегистрированы под номером №___). Адрес: 111208, Ташкентская область, Кибрайский район, Юкори-Юз п/о, конференц-зал Института генетики и экспериментальной биологии растений. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-22-30.

Автореферат диссертации разослан «_____» _____ 2022 г..
(реестр протокола рассылки № «_____» от _____ 2022 г.).

А.А. Нариманов
Председатель Научного совета по
присуждению ученых степеней
д.с.х.н., профессор

С.К. Бабоев
ученый секретарь Научного совета по
присуждению ученых степеней
д.б.н., профессор

Ш. Юнусханов
Председатель Научного семинара при
Научном совете по присуждению ученых степеней
д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской диссертации)

В настоящее время увеличение населения земли, помимо источников продовольствия, приводит к увеличению спроса на хлопковую продукцию, основную сельскохозяйственную культуру во многих странах. Улучшение высокоурожайных и ценных хозяйственных признаков в мировой хлопковой отрасли является актуальным. Использование дикорастущих форм семейства *Gossypium* L., содержащих гены, отвечающие за уникальные признаки и свойства, при создании новых сортов хлопчатника резко повышает эффективность селекции. В частности, применение молекулярно-биологических и биотехнологических методов в процессах исследования селекции хлопчатника при создании высоковолокнистых, высокоурожайных сортов хлопчатника имеет важное значение.

В мире проводятся научное исследование по выявлению и эффективному использованию генов контролирующих качества волокна хлопчатника. Создание сортов хлопчатника, способных удовлетворить современные потребности хлопково-текстильных кластеров и фермерских хозяйств страны (высокое качество волокна, высокая урожайность, устойчивость к различным болезням и вредителям) и дальнейшее совершенствование существующих разновидностей, изучение ценных хозяйственных признаков у диких видов на молекулярном уровне, в частности большое внимание уделяется на выявление локусов количественных признаков (QTL) и генов, связанных с важными с хозяйственно-промышленной точки зрения признаками.

После обретения независимости страна добилась высоких результатов в создании сортов хлопчатника, подходящих для почвенно-климатических условий. В частности, в Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы² поставлены задачи «увеличить доходы фермеров не менее чем в 2 раза за счет интенсивного развития сельского хозяйства на научной основе, довести ежегодный прирост сельского хозяйства не менее чем до 5%». Исходя из этих задач, идентификация локусов количественных признаков (QTL) и генов, ассоциированных со значимыми с хозяйственно-промышленной точки зрения признаками, и их использование при выявлении генов, контролирующих ценные хозяйственно-промышленные признаки, имеет большое научное и практическое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, изложенных в Указе Президента № ПФ-60 28 января 2022 года «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы», Постановление «О дополнительных мерах по дальнейшему развитию семеноводства сельскохозяйственных культур» от 22 января 2022 года ПП-106, Постановление КМ Республики Узбекистан № 985 от 12 декабря 2019 года «О прогнозных объемах посева сортов хлопчатника и выращивания

²Указ Президента Республики Узбекистан № ПФ-60 от 28 января 2022 года «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы»

хлопчатника в 2020 году», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере

Соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологии республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан: - V «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. На сегодняшний день во всем мире эффективно используется технология ДНК-маркеров при изучении генома хлопчатника. Зарубежными учеными J. Kohel (2001), David M. Stelly (2015), Andrew H. Paterson (2009), David D. Fang (2015-2017), Wangzhen Guo (2013-2016), Tianzhen Zhang (2015) и Johnie N. Jenkins (2012-2013) проводились исследования по идентификации локусов количественных признаков (QTL), генетически связанных с качеством волокна хлопчатника.

Американские ученые DeJoodie и Wendel (1992) изучали восприимчивость к фотопериодизму диких и рудеральных форм, относящихся к видам *G.tomentosum*, *G.darwinii* и *G.hirsutum*. Кроме того, род *G.mustelinum* использовался для обогащения генетического разнообразия хлопчатника, а ценные хозяйственные признаки в нем переносились на существующие сорта на основе методов селекции.

Также, в нашей стране, при изучении генома хлопчатника над выявлением ДНК-маркеров, которые генетически связаны со многими ценными сельскохозяйственными признаками хлопчатника, работали такие ученые, как А.Ю. Абдурахмонов, А. Абдукаримов, З.Т. Буриев (2010-2011), Ф.Н. Кушанов (2016, 2017), А.А. Абдуллаев (2015–2017 гг.). Также, в результате воздействия радиоактивных веществ на дикие и полудикие формы, относящиеся к некоторым видам, Ф.Джаникуловым (2002) получено около 200 мутантных линий с измененными свойствами фотопериодической зависимости.

Однако дикая форма хлопчатника *G.hirsutum* spp. *purpurascens* var. *El-salvador* мало изучена. Самое главное, что исследований по изучению морфохозяйственных признаков на основе внутривидовой гибридизации в этой форме не проводилось.

Соответствие исследования исследовательским планам научно-исследовательского учреждения, в котором выполняется диссертация. Диссертационная работа выполнена в Центре геномики и биоинформатики в рамках биоинформатики в рамках прикладного проекта «Генетическая кластеризация локусов качества хлопкового волокна и устойчивости к увяданию с использованием ДНК-маркеров» (2015-2017).

Целью исследований является определить наследование морфохозяйственных признаков у гибридов первого (F_1) и второго (F_2) поколений, полученных путем скрещивания дикой формы *El-salvador* относящийся к подвиду *purpurascens*, вид *G.hirsutum* и с сортом «Купайсин», полученный путем индуцированного мутагенеза из этой формы.

Задачи исследования:

отбор морфобиологических и контрастных (резко отличающихся) форм по хозяйственно-ценным признакам и свойствам из коллекций хлопчатника, принадлежащих к семейству *Gossypium*, в качестве первичного материала;

получение первого (F_1) и второго (F_2) поколения с участием отобранных образцов методом гибридизации и изучение наследования у них морфобиологических признаков на основе статистического анализа;

определение уровней молекулярного полиморфизма с использованием SSR (Simple Sequence Repeats) маркеров в родительских генотипах;

генотипирование гибридов F_2 поколения использованием отобранных полиморфных маркеров;

конструирование карты сцепления и ЛКП (QTL) на основе генотипического анализа гибридов F_2 поколения;

идентификация генов/белков-кандидатов, связанных с морфобиологическими, а также хозяйственно-ценными признаками и свойствами с использованием биоинформатических программ.

Объектом исследования являются дикая форма хлопчатника *el-salvador*, относящаяся подвиду *purpurascens*, подроду *Karpas*. Raf рода *Gossypium* L., и сорт «Купайсин», полученный методами индуцированного мутагенеза и самоопыления.

Предмет исследования. Морфо-биологические и хозяйственно-ценные признаки *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* и сорта «Купайсин», геномные мутации сорта «Купайсин» от дикой формы *El-salvador* под влиянием мутагенеза, морфо-биологическая и генетическая изменчивость гибридов, полученных путем скрещивания.

Методы исследования. В диссертации использованы традиционные методы генетики и селекции хлопчатника (гибридизация, сравнительная морфология, фенологические наблюдения), молекулярно-генетические подходы (выделение геномной ДНК, гель-электрофорез, ПЦР), методы и приемы геномики и биоинформатики (*in silico* ПЦР анализ, предсказание генов), а также современные статистические программы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые определена степень генетического полиморфизма между *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* и полученным из него в результате методов индуцированного мутагенеза и самоопыления сортом «Купайсин» с использованием определенного количества молекулярных маркеров;

создана панель ДНК-маркеров для картирования QTL/генов, относящихся к хозяйственно-ценным и -морфобиологическим признакам;

генотипирован гибриды второго (F_2) поколения на основе генетически полиморфных маркеров;

построены карты сцепления и ЛКП (QTL) с использованием генотипического анализа;

определено расположение (регионы) полиморфных маркерных участков в хромосомах на основе генома вида *G.hirsutum* методом *in silico*- ПЦР анализа;

выявлены гены/белки-кандидаты, которые, вероятно, будут участвовать в развитии некоторых морфобиологических признаков с помощью NCBI BLAST и веб-приложений Augustus.

Практические результаты исследования, следующие:

Создана ценная экспериментальная (гибридная) F₂ популяция хлопчатника для молекулярно-генетических исследований с участием дикой формы *El-salvador* вида *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* и сорта «Купайсин»;

идентифицированы QTL маркеры, которые можно использовать для программы маркер-ассоциированной селекции (MAS);

выявлены образцы-доноры, которые могут быть использованы в качестве первичного материала в селекционных работах для создания устойчивых к вредителям и насекомым, продуктивных и скороспелых сортов.

Достоверность результатов исследований подтверждается использованием в работе современных, взаимодополняющих молекулярно-генетических, биоинформатических и статистических методов и подходов, проведением многолетних методологически верных исследований, сопоставлением результатов с результатами мировых и зарубежных ученых, опубликованием результатов на локальных и международных научно-практических конференциях на и в ведущих научных журналах.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования хлопчатника заключается в том, что по результатам молекулярно-генетического анализа морфобиологических и ценных хозяйственно-ценных признаков объяснено получение ценной экспериментальной (гибридной F₂) популяции для молекулярно-генетических исследований с участием дикой формы вида *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *el-salvador* и сорт «Купайсин». Это объясняется созданием панели ДНК-маркеров для молекулярного картирования морфохозяйственных признаков на основе представителей видовой разновидности дикой формы *El-salvador* вида *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* и сорта «Купайсин».

Практическая значимость результатов исследований объясняется тем, что применение методов видовой гибридизации при создании сортов хлопчатника, молекулярной доказанности того, что формы, полученные на основе привлечения дикорастущих форм и сортов хлопчатника, могут быть использованы в качестве первичного материала в селекционных исследованиях.

Внедрение результатов исследования. По наследованию морфобиологических признаков гибридов F₁ и F₂ поколений, полученных в результате скрещивания образцов хлопчатника:

F₂, созданной на основе гибридизации дикорастущей формы *El-salvador* вида *G.hirsutum* подвида *purpurascens* и сорта *Купайсин*, как ценный

источник для дальнейшего молекулярно-генетического картирования важных морфобиологических и хозяйственные свойства хлопка . Семенной материал этих гибридов второго поколения (семена) представлен в коллекции уникального объекта «Генофонд хлопчатника» Института генетики и экспериментальной биологии растений. (Справка АН РУз № 4/1255-150 от 20 января 2021 г.). В результате, помимо дальнейшего обогащения фонда коллекции средневолокнистого хлопчатника, эти гибридные семена второго поколения были использованы в качестве исходного материала в фундаментальных и практических проектах по приоритетному направлению «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды» и позволил сформировать информационно-аналитическую систему электронной базы данных.

В результате молекулярно-генетических анализов сорта хлопчатника «Купайсин» выделены гибридные линии со стабильными признаками, такими как скороспелость, устойчивость к болезням и плодовитость, важные для хозяйств и внедрены в селекцию (Совета фермерских, дехканских хозяйств и владельцев приусадебных земель Узбекистана от 15 января 2021 г. № 03/01). -0144). В результате появление у гибридов второго поколения ценных хозяйственных признаков, воплощенных в дикой форме Сальвадора, позволило выделить донорные линии для селекции.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования обсуждались на 7 конференциях, в том числе на 2 международных и 5 республиканских.

Публикация результатов исследования. Всего по теме диссертаций опубликованы 14 научных работ. Из них 6 статей в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, в том числе 5 в республиканских и 1 в зарубежных журналах.

Структура и объем диссертации. Содержание диссертации состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы и приложений. Объем диссертации составляет 120 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **«Введении»** обосновывается актуальность и востребованность исследования, цели и задачи, объекты и предметы исследования, соответствие исследования приоритетным направлениям науки и техники республики, научная новизна и практические результаты исследования, научная и практическая значимость результатов, сведения об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **«Анализ молекулярно-генетических исследований в категории *GOSSYPIMUM L.*»** представлена информация об исследованиях, проведенных зарубежными и отечественными учеными в рамках диссертации: история, систематика и таксономический статус, морфо-биологическое значение рода *Gossypium L.*, история МАС

технологии, типы ДНК-маркеров и их наименование, а также их использование в исследованиях.

Также выявлены методы составления карт сцепления и предлагаемые на их основе ДНК-маркеры, сцепленные с экономически-важными признаками, а также генетическое картирование QTL, контролирующих морфобиологические и хозяйственно-ценные признаки хлопчатника. Приведены обзоры исследований по выявлению генов-кандидатов и белков с помощью *in silico* ПЦР и биоинформатических анализов в хлопчатнике.

Во второй главе диссертации под названием **«Место и условия исследования, источники и методы»** подробно описаны место, условия, источники и методы проведения эксперимента.

Приведено краткое описание растительного материала, использованных реагентов и оборудования, методов выделения ДНК, ПЦР, гель-электрофореза и генотипирования, статистического анализа, молекулярно-генетического картирования локусов количественных признаков (QTL) и методов биоинформатического анализа.

Опыты проводились в 2010-2021 гг. в лаборатории Центра геномики и биоинформатики и в Специальном семеноводческом хозяйстве при этом центре.

В третьей главе диссертации под названием **«Внутривидовая гибридизация и изучение наследования морфобиологических признаков в F₁ и F₂ поколениях»** представлены следующие результаты. В первой части этой главы представлен подбор первичных источников и изучение их морфобиологических признаков и особенностей, результаты фенотипического наблюдения. Во второй части этой главы, называемой **«Наследование морфобиологических признаков у гибридов F₁ и F₂ поколений и их статистический анализ»**, описано высаживание на опытном участке гибридов F₂ поколения вместе с родительскими образцами (по 5 растений) и проведение фенотипических наблюдений по изучению некоторых морфобиологических и хозяйственных признаков хлопчатника (таблица 1).

У гибридов первого и второго поколений по признакам количество коробочек, количество створок в коробочке доминировал сорт «Купайсин». По признакам число симподиальных ветвей, антоциановый загар, тип ветвления и форма куста дикая форма «*El-salvador*» доминировала над гибридами первого поколения. Можно заметить, что среднее число симподиальных ветвей выше у гибридов второго поколения, чем у родительских генотипов и гибридов первого поколения. Это позволяет отбирать рекомбинантные растения с большим количеством симподиальных ветвей среди гибридов второго поколения.

На основе статистического анализа изучены средние значения морфологических признаков гибридов первого (F₁) и второго (F₂) поколений, полученных при скрещивании. Также был обнаружен высокий полиморфизм среди родительских образцов. Это, в свою очередь, важно при картировании QTL-локусов этих полиморфных маркеров, генетически сцепленных с

упомянутыми выше морфобиологическими и хозяйственно-ценными признаками.

Таблица 1.

Средние показатели некоторых морфохозяйственных признаков изучаемых родительских образцов и гибридов F₁ и F₂ поколений, установленные на основании фенотипических наблюдений.

№	Признаки	Сорт "Купайсин"	Дикая форма <i>El-salvador</i>	F ₁ поколения	F ₂ поколение
1.	Высота растения, см	80	175	120	110
2.	Количество моноподиальных ветвей, шт.	0	7	5	4
3.	Количество симподиальных ветвей, шт.	15	5 (короткий и слабый)	5	17
4.	Количество междоузлий, шт.	18	26	21	25
5.	Форма коробочки	яйцевидная	яйцевидная	яйцевидная	конусовидная-23, шаровидная-1, яйцевидная-112
6.	Количество створок в коробочке, шт.	4-5	3-4	4-5	4-5
7.	Количество коробочек, шт.	15/7 *	-	13/0	15/1
8.	Ветвление	неограниченно	неограниченное	неограниченно	Неограниченное
9.	Тип ветвления	Тип 1	2-3 вида	2-3	1-3
10.	Антацианное пятно	сильное	среднее	среднее	интервал
11.	Опущение стебля	сильное	редкое	среднее	сильное - 13%, среднее - 40%, редкое - 47%
12.	Форма стебля	компактная	раскидистая	раскидистая	компактная- 12,3%, раскидистаяразбросанная - 87,7%
13.	Высота первой плодовой ветви -hs	4	13-14	17	8,5

В первом разделе под названием «Выявление генетического полиморфизма между родительскими образцами» четвертой главы диссертации под названием «Генотипический анализ исследовательских образцов с использованием молекулярных маркеров и QTL картирование» приведены следующие результаты: процесс определения

молекулярного полиморфизма между родительскими генотипами с использованием микросателлитных маркеров GH, TMB, BNL, JESPR; генотипирование гибридов поколения F₂ проводили с использованием выявленных полиморфных маркеров.

С целью определения полиморфизма родительские генотипы были проанализированы с использованием 336 микросателлитных (или SSR - простые повторяющиеся последовательности) маркеров методом ПЦР. По результатам амплификации среди родительских генотипов 69 из 336 SSR-праймеров показали полиморфизм (рис. 1).

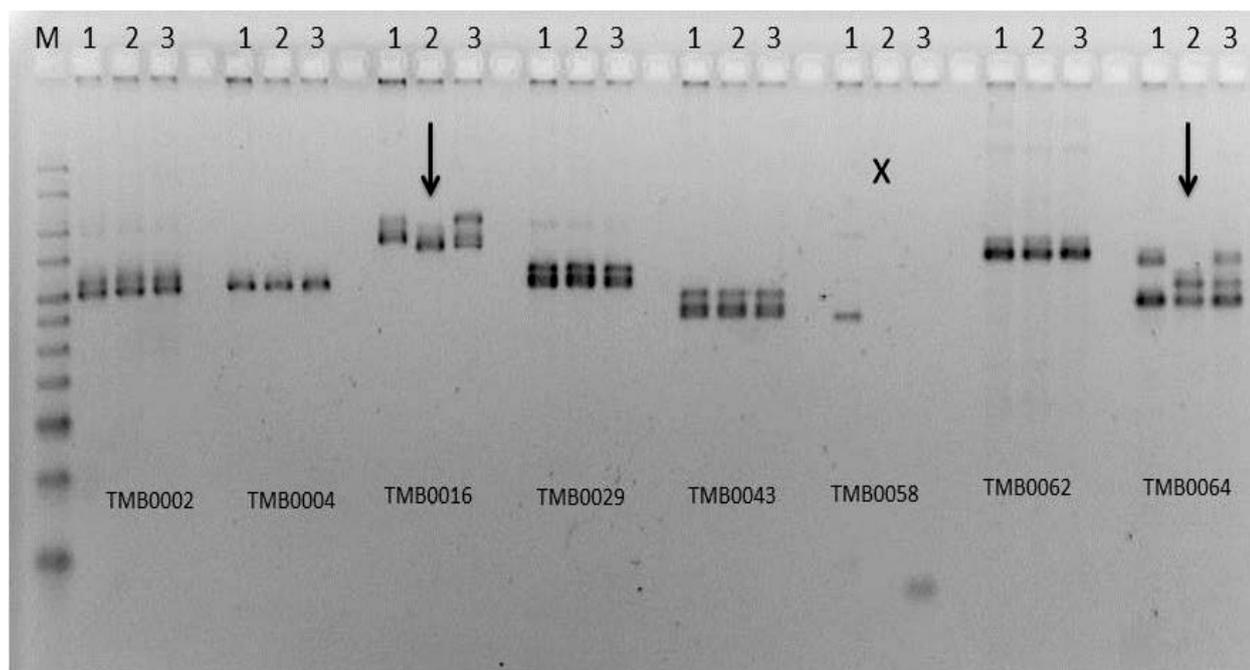


Рисунок 1. ПЦР-анализ родительских гибридов F₁ с использованием праймеров TMB. При этом; 1 — *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador* 2) сорт «Кўпайсин»; 3) Гибрид F₁ поколения. Стрелками показаны полиморфные маркеры.

Во втором разделе главы, названном «**Молекулярно-генотипический анализ гибридов F₂ поколения**» для ПЦР-скрининга гибридов F₂ поколения использовали ДНК-маркеры, демонстрирующие полиморфизм между *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador*, взятом в качестве родительского образца, и сортом «Купайсин» (рис. 2).

В результате молекулярного анализа 82 маркерных локуса были амплифицированы с использованием 69 полиморфных пар праймеров. Из полиморфных праймеров 48 обеспечивали амплификацию одного локуса, 13 — двух и 8 пар праймеров — 3 локусов (рис. 3). Всего было амплифицировано 265 аллелей в присутствии этих 69 пар полиморфных SSR-праймеров, используемых для молекулярных исследований.

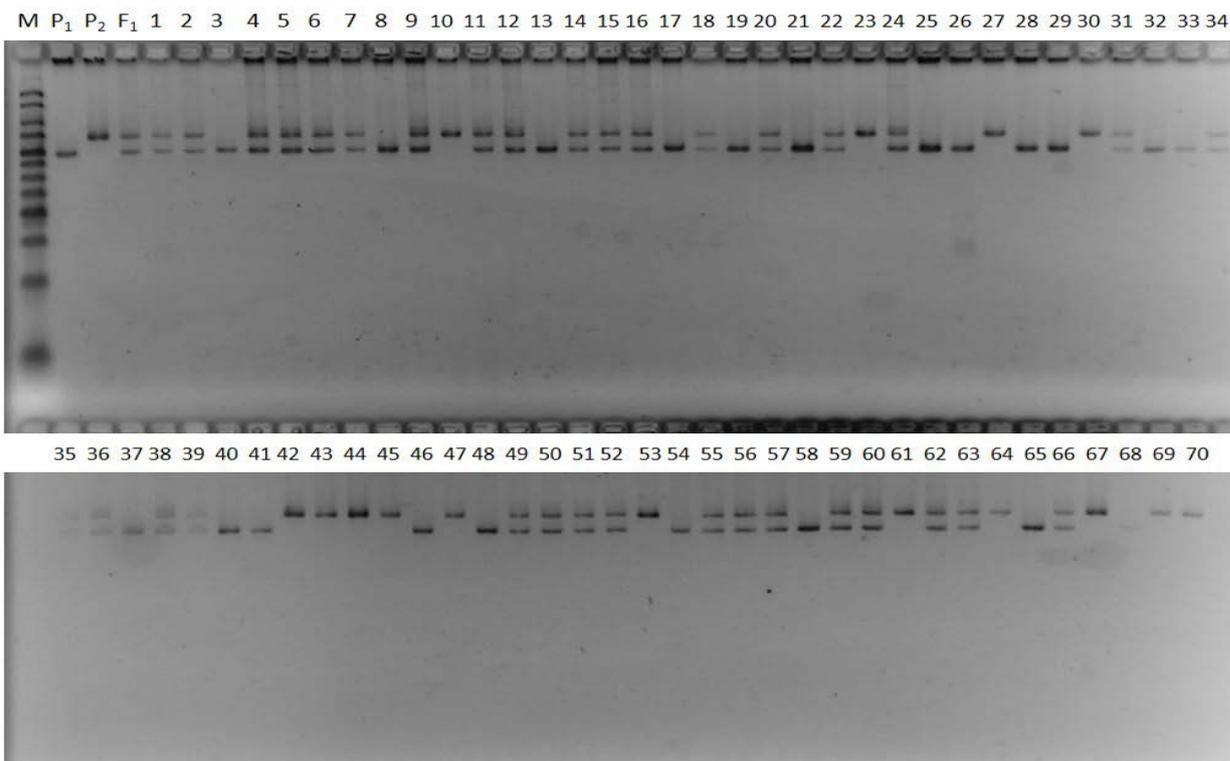


Рисунок 2. Ко-доминантный маркер (TMB1271). М - Маркер молекулярного веса. P₁ - сорт «Купайсин»; P₂ - дикая форма *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *El-salvador*; F₁ - гибрид первого поколения; 1-70 - гибридные образцы F₂ второго поколения.

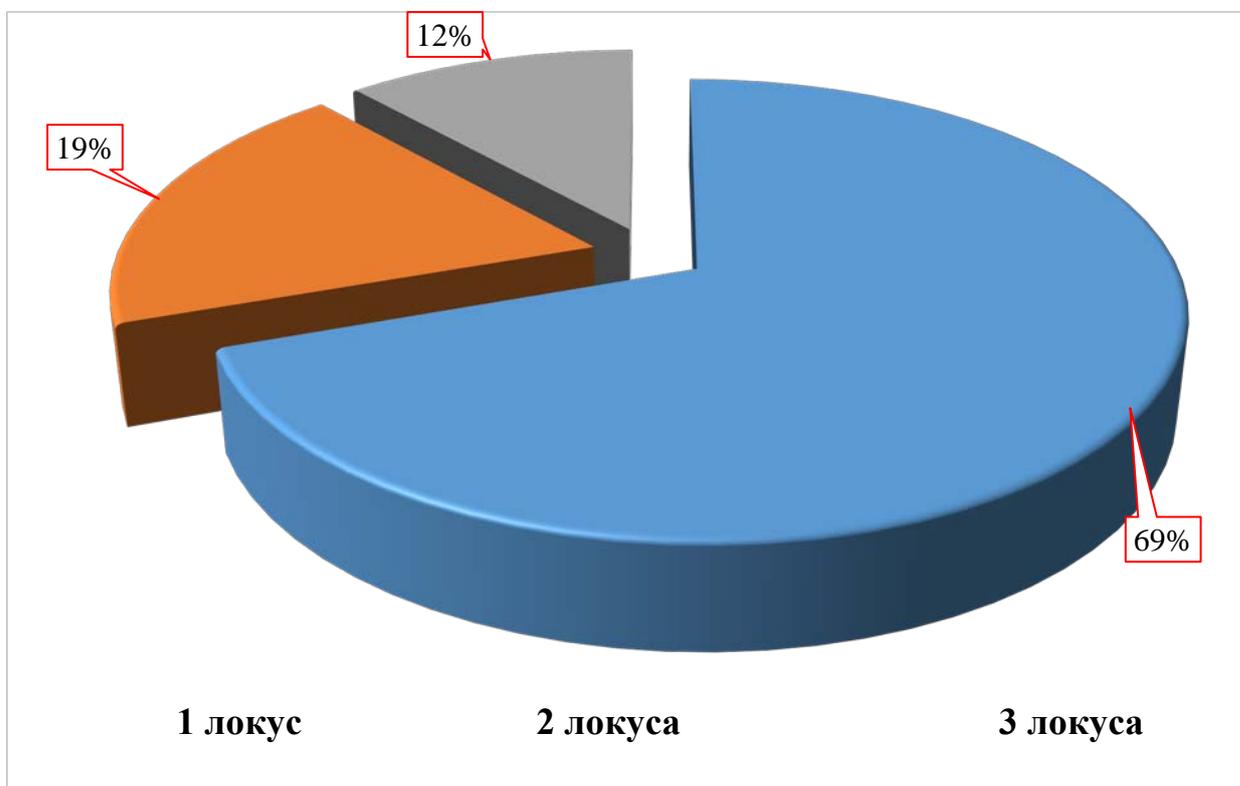


Рисунок 3. Процент амплифицированных локусов в геноме по SSR-маркерам

Таблица-2.

Сведения о картированных и некартированных SSR маркерах.

№	Набор использованных SSR маркеров	Кол-во картированных маркеров	Кол-во некартированных маркеров
1	BNL SSR	19	2
2	GH SSR	11	1
3	JESPR SSR	9	1
4	TMB SSR	24	2
	Итого:	63	6

Таблица-3.

Сведения об комбинированных группах.

№	Группы сцепления	Вероятная хромосома	Кол-во маркированных локусов	Общая длина карты (сМ)	Среднее расстояние карты/маркер
1	LG.01	03-хр.	8	121,7	15,2
2	LG.02	05-хр.	15	144,8	9,7
3	LG.03	07-хр.	4	88,3	22,1
4	LG.04	11-хр.	5	40,6	8,1
5	LG.05	12-хр.	6	59,9	10,0
6	LG.06	16-хр.	8	109,3	13,7
7	LG.07	19-хр.	12	129,8	10,8
8	LG.08	23a-хр.	7	108,6	15,5
9	LG.09	23b-хр.	4	54,2	13,6
	Жами:		63	857,2	13,6

В третьем разделе этой главы под названием «Создание карты соответствия генов» на основе данных, полученных в результате генотипирования, была создана карта генетического сцепления длиной 857,2 сМ (сантиморган) для гибридной комбинации F₂ поколения. Гибридная комбинация F₂ поколения включала 9 групп маркеров из 63 маркеров с показателем LOD (logarithm of odds) ≥ 5 на карте генетического сцепления. На этой карте сцепления среднее генетическое расстояние между двумя маркерами составило 13,6 сМ. По сравнению с предыдущими генетическими картами, опубликованными мировыми учеными, эта карта сцепления имеет 8 (3-й хр., 5 хр., 7 хр., 11 хр., 12 хр., 16 хр., 19 хр. и 23-хр.) вероятных хромосом хлопчатника. Эта карта сцепления включала только две группы сцепления на 23 хромосоме и на остальных по одной (табл. 2 и табл. 3).

Таким образом, на основании исследований с использованием 63 SSR-маркеров и научных статей, опубликованных в этом направлении к

настоящему времени, было определено примерное расположение этих маркеров на хромосомах хлопчатника.

В четвертом разделе этой главы, названном «**QTL картирование количественных признаков**», был проведен QTL анализ с участием 130 гибридов второго (F₂) поколения, с разными периодами цветения, для определения ассоциации между полиморфными маркерами SSR и некоторыми морфологическими и хозяйственно-ценными признаками.

Всего 5 локусов QTL были генетически ассоциированы с 6 изученными морфохозяйственными признаками (табл. 4). В свою очередь, согласно композиционно-интервальному картированию, выявлено, что 3 из 5 QTL (время цветения - FT, высота первой плодовой ветви - HS и количество раскрытых коробочек - NOB) оказались непосредственно генетически сцепленными с признаком раннего цветения (раннеспелостью) хлопчатника ($p \leq 0,05$). Эти локусы соответствовали 2-й группе сцепления (LG.02).

Таблица 4.

Информация об идентифицированных QTL локусах и SSR маркерах

№	QTL	Признак	Группа сцепления (Xr.)	Примерная хромосома	Сцепленные маркеры	Позиция (см)	LOD	Ссылки и публикации	
								Ассоциация маркера с другими признаками и его хромосомная локализация	Ссылки
<i>QTL-локусы, ассоциированные с признаками периода цветения (раннеспелости)</i>									
1	<i>qHS</i>	Высота первой плодовой ветви	LG.02	05-хр.	JESPR224 _175- TMB0064 _180	60.20- 69.72	3,64	Микронейр (25-хр.) Длина волокна (11-хр.)	Wang <i>et al.</i> , (2017); Shi <i>et al.</i> , (2019).
2	<i>qNOB</i>	Количество раскрытых коробочек	LG.02	05-хр.	GH110 _130- TMB0809 _205	135,90- 141,20	3,24	Количество симподиальных ветвей (5-хр.)	Li <i>et al.</i> , (2014)
3	<i>qFT</i>	Период цветения	LG.02	05-хр.	JESPR224 _175- TMB0131 _240	58,90- 69,91	3,64	Микронейр (25-хр.)	Wang <i>et al.</i> , (2017); Shi <i>et al.</i> , (2019).
<i>QTL-локусы, ассоциированные с морфо-биологическими маркерами</i>									
4	<i>∂GC</i>	Количество симподиальных ветвей	LG.04	11-хр.	JESPR296 _135- TMB0064 _200	21.20-22.40	3,71	Микронейр (25-хр.) Длина волокна (11-хр.)	Wang <i>et al.</i> , (2017); Shi <i>et al.</i> , (2019).
5	<i>∂HC</i>	Количество симподиальных ветвей	LG.06	16-хр.	BNL1064 _ 15 0- TMB0016 _2 50	48.30-56.40	4.2	Однородность волокна (25-хр.)	Sun <i>et al.</i> , (2012)

* Примечание: q - обозначает значение QTL, за ним следуют условные сокращения изучаемых символов; FT - период цветения; HS – высота первой плодовой ветви; NS - количество симподиальных ветвей; NOB- количество раскрытых коробочек; PH – высота растения;

Следует отметить, что индуцированный мутагенез неспецифичен и может случайным образом вызывать множество мутаций в геноме мутантных генотипов, связанных или не связанных со сроками цветения. В группе сцепления LG.04 (11-хр.) был обнаружен QTL локус ($LOD \geq 3,7$), сцепленный с признаком высоты первой плодовой ветви (HS, height of sympodia) (рис. 4 и

табл. 4). Также, в LG.06 (16-я хр.) группе сцепления был идентифицирован QTL-локус, который был генетически сцеплен с признаком количества симподиальных ветвей (Number of sympodia -NS) с высоким LOD-баллом (4,2) (рис. 6 и Таблица 4).

Также идентифицированы локусы, связанные с цветением и/или созреванием хлопчатника, такие как высота первой плодовой ветви (HS) и количество раскрытых коробочек (NOB). Эти QTL-локусы определяли в той или иной степени (от 6% до 85%) генетическую изменчивость изученных признаков (табл. 4). Так, QTL локусы, ассоциированные с «количеством раскрытых коробочек» (NOB) и «высотой первой плодовой ветви» (HS), были обнаружены на хромосоме 5 с показателем $LOD \geq 3,6$ (рис. 4, 5 и табл. 4), генетически сцепленные QTL, ассоциированные с «количеством симподиальных ветвей» идентифицированы на хромосомах 5, 11 и 16 (рис. 6 и табл. 4).

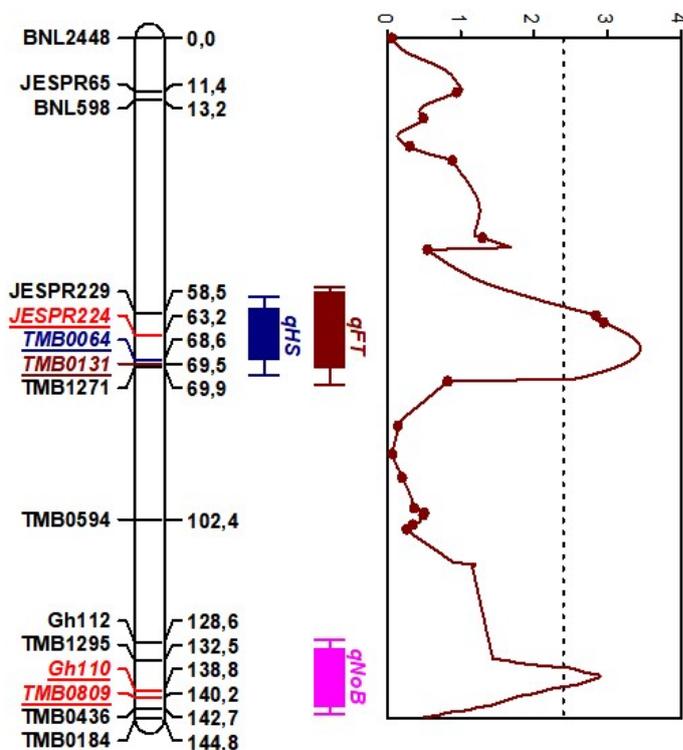


Рисунок 4. Расположение QTL-локусов, сцепленных со временем цветения (FT, Flowering time), высотой первой плодовой ветви (HS, height of sympodia) и количеством раскрытых коробочек (NOB, Number of bolls).

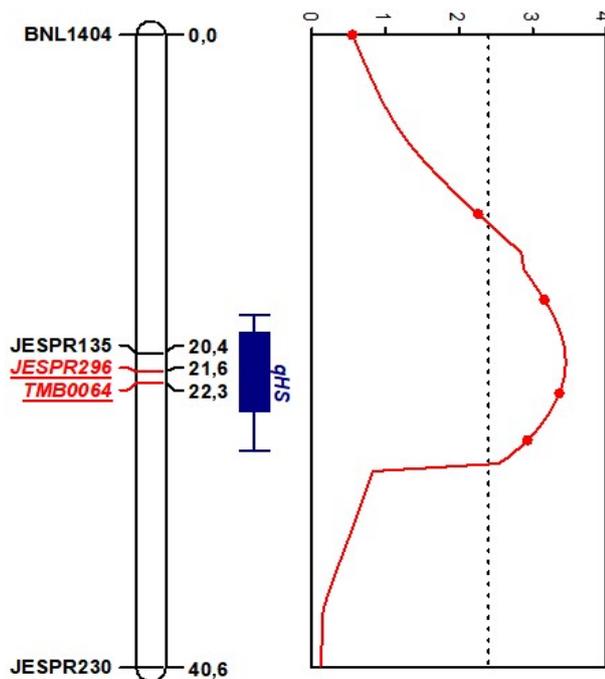


Рисунок 5. Расположение QTL локуса, сцепленного с признаком «высота первой плодовой ветви (HS, height of sympodia)» в группе сцепления LG.04 (11-я хр.).

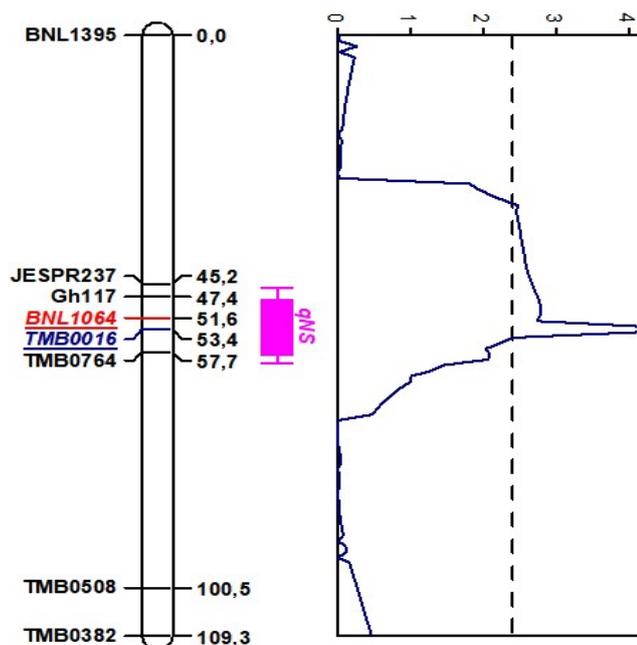


Рисунок 6. Расположение QTL-локуса, сцепленного с признаком «количество симподиальных ветвей» (NS, Number of sympodia) в группе сцепления LG.06 (16-я хр.).

В пятой главе диссертации, под названием «Проведение биоинформатического анализа для определения генов-кандидатов», представлена информация об аннотации генов: идентификации генов с использованием методов *in silico* для прогнозирования или определения их функций на основе анализа последовательностей генов и белков.

В первом разделе пятой главы, озаглавленном «Проведение *in silico* ПЦР с использованием программы Ugene» основное внимание уделяется следующим результатам: 69 пар полиморфных маркерных праймеров,

В третьем разделе пятой главы под названием **Идентификация вероятных генов с помощью веб-приложения AUGUSTUS**, с целью структурной идентификации генов, последовательности ДНК, выделенные из генома, были размещены в блоке поиска веб-приложения AUGUSTUS 3.1.0. и выявлены потенциальные гены. При этом использовался геном модельного растения *Arabidopsis thaliana*, доступный в базе данных веб-приложения. Анализ выявил 723 возможных гена и 838 вариантов транскриптов (более 1 варианта 1 гена).

В разделе под названием **Идентификация генов/белков-кандидатов на основе анализа BLAST** выявленные вероятные гены были преобразованы в аминокислотные последовательности и найдены с помощью алгоритма «protein blast» в базе данных NCBI BLAST. По результатам поиска было предсказано участие отобранных маркеров в появлении ряда признаков. Например, белки серин/треонин/треозинкиназы, принадлежащие к киназным ферментам, фосфорилирующим ОН группу серина или треонина, были идентифицированы в присутствии маркерной области TMB0561.

LRR (leucine-rich repeat) рецептороподобные серин/треонин-протеинкиназы и белки RCH1 также были обнаружены в области, где находится микросателлитный маркер TMB0561. В научных источниках имеется информация о том, что белки RCH1 серин/треонин-протеинкиназы рецепторного типа LRR контролируют рост меристемы корня (Abdurakhmonov I.Y 2005).

На основе анализа полученных результатов определено положение микросателлитных маркеров на хромосоме, что свидетельствует о полиморфизме между дикой формой «*El-salvador*» и сортом «Купайсин». Также, гены и белки, которые возможно могут быть встречаться в геноме хлопчатника, были предсказаны с использованием некоторых маркеров, принадлежащих набору праймеров TMB. В будущем эти идентифицированные гены-кандидаты могут быть использованы для разработки генных маркеров и применения их в процессах селекции с использованием технологии маркер-ассоциированной селекции.

ВЫВОДЫ

По результатам исследования «Молекулярно-генетический анализ наследования морфобиологических признаков у внутривидовых гибридов биоразнообразия *G.hirsutum* L.» сделаны следующие выводы:

1. Статистически проанализированы средние показатели морфологических признаков гибридов первого (F_1) и второго (F_2) поколений, полученных в результате гибридизации.

2. С помощью комбинации гибридов F_2 поколения была создана генетическая карта сцепления, включающая 9 групп сцеплений длиной 857,2 сМ (сантиморган).

3. Определено расположение QTL-локусов, ассоциированные с признаками; «период цветения», «высота плодовых ветвей и «количество раскрытых коробочек» - в группе сцепления LG.02 (5-хр.); «высота плодовых

ветвей» - в LG.04 (11-хр.); и «количество симподиальных ветвей в группе сцепления LG.06 (16-хр.).

4. При анализе *in silico* ПЦР с использованием программы Ugene было установлено, что синтезировано 3 ампликона по 4 маркерам, 2 по 8 маркерам и по одному ампликону в присутствии 47 маркеров.

5. Для картирования полиморфных маркеров на основе последовательности генома *G.hirsutum* и определения их положения на хромосомах было выполнено картирование с использованием биоинформатической программы MapChart 2.2.

6. Определены вероятные гены с помощью веб-приложения AUGUSTUS. Анализ выявил 723 возможных гена и 838 вариантов транскриптов (более 1 варианта 1 гена).

7. Гены и белки, которые возможно могут встречаться в геноме хлопчатника, были предсказаны с использованием некоторых маркеров, принадлежащих к набору праймеров TMB.

8. Гибридная популяция F₂ поколения, созданная на основе наследования морфобиологических признаков у гибридов F₁ и F₂ поколений, и их статистическая обработка послужат ценным ресурсом для молекулярно-генетического картирования важных морфобиологических и хозяйственных признаков у хлопчатника в будущем.

РЕКОМЕНДАЦИИ

Дикая форма *El-salvador* вида *G.hirsutum* подвида *purpurascens* и экспериментальная (гибриды F₂ поколения) популяция, созданная с участием сорта «Купайсин» в будущем могут быть использованы в молекулярно-генетических исследованиях.

Эта генотипически проанализированная панель маркеров полиморфной ДНК может в будущем служить структурно-функциональным исследованием генов, ответственных за генетическое картирование QTL, которые контролируют морфобиологические признаки и характеристики хлопчатника.

Идентифицированные маркеры QTL и отобранные донорные образцы можно использовать в качестве первичного материала в селекционной работе для создания устойчивых к вредителям и насекомым, продуктивных и скороспелых сортов в программе маркер-ассоциированной селекции (MAS).

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC DEGREE
DSc.29.08.2017 B.53.01 AT THE INSTITUTE OF GENETICS AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY OF PLANTS**

CENTER FOR GENOMICS AND BIOINFORMATICS

KOMILOV DONIYOR DJURAEVICH

**MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF HERITAGE OF
MORPHOBIOLOGICAL CHARACTERISTICS IN SOME *G. HIRSUTUM*
L. SUBSPECIES.**

03.00.14 – Genomics, proteomics and bioinformation

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)
OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2022

The title of the doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2022.1.PhD/B380

The doctoral dissertation is carried out at the Center for genomics and bioinformatics.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian and English) on the website of the Scientific Council www.namdu.uz and on the website of «Ziyonet» information-educational portal www.ziyonet.uz.

Scientific supervisor:	Kushanov Fakhriddin Nematullaevich doctor of biological sciences, Senior researcher
Official opponents:	Bozorov Tokhir Akhmadovich doctor of biological sciences, Senior researcher
	Makamov Abdusalom Khasanboyevich doctor of philosophy in biological sciences, Senior researcher
Leading organization:	Cotton Breeding, Seed Production and Agrotechnologies Research Institute

Defense will take place on _____ 2022 year ___ at the meeting of the Scientific Council DSc.02/30.12.2019.B.53.01 on award of scientific degrees at the Institute of genetics and experimental biology of plants at the following address: 111208, Tashkent region, Qibray, Yukori-Yuz.p/b, Conference hall of the Institute of genetics and experimental biology of plants. Phone: (+99871) 264-23-90, Fax: (+99871) 264-22-30).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of genetics and experimental biology of plants at the following address: 111208, Tashkent region, Qibray, Yukori-Yuz.p/b, Conference hall of the Institute of genetics and experimental biology of plants. Phone: (+99871) 264-23-90, Fax: (+99871) 264-22-30).

Abstract of the dissertation is distributed on «_____» _____2022.
(protocol at the register No _____ dated _____ 2022).

A.A. Narimanov,
Chairman of Scientific council
on award of scientific degrees,
Doctor of biological sciences, professor

S.K. Baboev,
Acting Scientific secretary of scientific council
on award of scientific degrees,
Doctor of biological sciences, professor

Sh. Yunuskhonov,
Chairman of Scientific seminar at Scientific council
on award of scientific degrees,
Doctor of biological sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the research work. Determine the inheritance of morphological and economic traits in hybrids of the first (F₁) and second (F₂) generations obtained by crossing the wild form of *El-salvador* from the subspecies *purpurascens*, the species *G.hirsutum* and the variety "Kupaysin" obtained from this form by induced mutagenesis.

The object of research: are the wild form of cotton *El-salvador* belonging to the subspecies *Purpuracens*, subgenus *Karpas*. Raf of the genus *Gossipium* L and variety "Kupaysin" obtained by induced mutagenesis and self-crossing.

The scientific novelty of the research is as follows:

G.hirsutum ssp using a certain number of molecular markers as a result of research *purpurascens* var. the degree of genetic polymorphism between the *Salvador* variety and obtained from this variety the Kupaysin variety was determined as a result of the methods of induced mutagenesis and self-crossing;

a panel of DNA markers was created for mapping QTL/genes related to valuable economic and morphobiological traits;

genotyped hybrids of the second (F₂) generation based on genetically polymorphic markers;

aggregation and MBL (QTL) maps were constructed using genotypic analysis;

Silico-PCR was used to determine the location (regions) of polymorphic marker regions on chromosomes based on the *G.hirsutum* type genome;

Using the NCBI BLAST and Augustus web applications, candidate genes/proteins were identified that are likely to be involved in the development of some morphobiological markers.

Implementation of the research results. According to the inheritance of morphobiological traits of F₁ and F₂ hybrids of generations obtained as a result of crossing cotton samples:

F₂, created on the basis of hybridization of the wild-growing form *El-salvador* of the species *G.hirsutum* subspecies *purpurascens* and the variety *Kupaisin*, as a valuable source for further molecular genetic mapping of important morphobiological and economic properties of cotton. The seed material of these second-generation hybrids (seeds) is presented in the collection of the unique object "Cotton Gene Pool" of the Institute of Genetics and Experimental Plant Biology (Reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-150 dated January 20, 2021). As a result, in addition to further enrichment of the collection of medium staple cotton, these hybrid seeds of the second generation were used as starting material in fundamental and practical projects in the priority area "Agriculture, biotechnology, ecology and environmental protection" and made it possible to form an information and analytical system of electronic Database.

As a result of molecular genetic analysis of the *Kupaisin* cotton variety, it was identified that such economically valuable traits as early maturity, disease resistance and productivity, stability and introduced into breeding (Reference Council of

Farmers, Dekhkan Farms and Owners of Homestead Lands of Uzbekistan dated January 15, 2021 No. 03/01). -0144). As a result, the appearance of valuable economic traits in hybrids of the second generation, embodied in the wild form of El Salvador, made it possible to identify donor lines for breeding.

Approbation of the research results. The results of the study were discussed at 7 conferences, including 2 international and 5 national ones.

The structure and volume of the thesis. The structure of the thesis consists of the introduction, four chapters, conclusion, and the list of used literature. The volume of the thesis is 120 pages.

ЭЪЛОН КИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ

Список опубликованных работ

List of published works

I бўлим (I часть; Part I)

1. Komilov. D.; Kushanov. F.; Komilov. E.; Abdulkhakova. G. A Study of the Heredity of some Morphobiological Traits of the Species *Gossypiumhirsutum* L. // Journal of Research on the Lepidoptera, Издатель: The Lepidoptera Research Foundation. ISSN: 0022-4324E-ISSN:2156-5457 May, 2020, Volume 51 (2): -P 368-378. In Scopus IF= 0,1
2. Комилов.Д; О.С.Тураев; Р.С.Аманбаева; Ф.Н.Кушанов. *G.hirsutum* L. Турининг баъзи морфобиологик белгилари ирсийланишини ўрганиш. // НамДУ илмий ахборотномаси. 2019, № 2, - Б. 86-91. (03.00.00. №17)
3. Комилов.Д.Ж; Ф.Н.Кушанов. Ғўзанинг *el-salvador* ёввойи шакли морфобиологик ва хўжалик белгиларини молекуляр маркерлар ёрдамида ўрганиш. // НамДУ илмий ахборотномаси 2019. 4-сон, -Б. 84-91. (03.00.00. №17)
4. Комилов Д.Ж., Бахрутдинова Н.З., Орипова Б.Б. , Кушанов Ф.Н. Ғўзанинг *el-salvador* ёввойи шаклида морфобиологик ва қимматли хўжалик белгиларини назорат қилувчи номзод генларни аниқлаш. // НамДУ илмий ахборотномаси 2019.11-сон –Б. 72-79. (03.00.00. №17)
5. Комилов Д.Ж., Кушанов Ф.Н. Ғўзада маркер регионларидан фойдаланиб уларнинг хромосомадаги локацияларини аниқлаш ҳамда номзод генларни башорат қилиш. НамДУ илмий ахборотномаси 2020. 5-сон –Б. 79-87. (03.00.00. №17)
6. Комилов Д.Ж., Мўминов Х., Нуриддинов А., Эраназарова Д., Кушанов Ф. Ғўзанинг *G. hirsutum* турига мансуб *purpurascens* кенжа тури айрим морфо хўжалик белгилари ирсийланишини ўрганиш. // НамДУ илмий ахборотномаси 2020. махсус-сон, –Б. 146-154. (03.00.00. №17)

II бўлим (II часть; Part II)

7. Комилов Д.Ж. Беккросс – дурагайларида ғўза генетик коллекцияси линияларининг тола узунлиги ва тола чиқимини ўрганиш. 14 Международная научно практическая интернет конференция // Проблемы и перспективы развития науки в начале третьего тысячелетия в странах Европы и Азии. Переслав-Хмельницкий. Украина. 2015 год, 30 июн-1. -С 7-10
8. Комилов.Д.Ж, Ф.Н.Кушанов, О. С.Тураев, Долимов А. А. Ғўзанинг баъзи турларида морфобиологик ҳамда қимматли хўжалик белгиларининг ирсийланишини ўрганиш. // Ўзбекистон манзарали гуллари хилма-хиллиги: муаммолари ва ютуқлари мавзусидаги халқаро миқёсидаги илмий-амалий анжумани 2019. -Б 304-308
9. Д. Ж. Комилов.; Ф.Н. Кушанов Ғўзанинг морфобиологик ҳамда хўжалик белгиларининг ирсийланишини молекуляр генетик тахлили.

- // III международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире: вызовы XXI века» Нур-султан – 2019 III том. –Б. 361-363
10. Д.Комилов, Д.Усмонов. М.Дарманов. А, Макамов.Ф, Кушанов, З. Буриев, И.Абдурахмонов. Ғўза тола пишиқлиги белгисининг ДНК маркерларига асосланган селекцияси. // Андижон Давлат университети. Ўзбекистон биокимёгарлар жамияти. Илмий-амалий анжуман. Андижон 2012. –Б. 130 бет
 11. Д.Комилов. А.Рахматуллаев. Ғўзанинг *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *el-salvador* кенжа тури билан кўпайсин нави ўртасида генетик хилма-хилликни баҳолаш. Табiiй фанлар ва экологияга оид айрим муаммолар. Наманган 2019. –Б. 246 бет
 12. Д.Комилов. И. Ҳабибхонов. Ғўза линияларининг беккросс –дурагайларида тола узунлигини ўрганиш. // Физиология ва валеология асослари фанларининг долзарб муаммолари республика онлайн илмий конференцияси материаллари тўплами 2020. 19 – 20 июнь. –Б. 255
 13. Д. Комилов. Б. Усмонов. Наследование некоторых морфобиологических признаков типа *Gossypium hirsutum* L. // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари Республика илмий анжуманининг тезислар тўплами 18 май 2022. –Б. 214
 14. Д. Комилов. Б. Усмонов. Оценивания генетического разнообразия между подвидами хлопчатника *G.hirsutum* ssp. *purpurascens* var. *el-salvador* С сортом купайсин. // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари Республика илмий анжуманининг тезислар тўплами 18 май 2022. –Б. 216