

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ҚИШЛОҚ ВА
СУВ ХЎЖАЛИГИ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ДАВЛАТ АГРАР УНИВЕРСИТЕТИ

қўлёзма хуқуқида
УДК: 576.8+633.41

Мирзоёқубов Комронбек Эркинбой ўғлининг

“Вўза ўсимлигининг хўжалик қимматли белгиларини
молекуляр маркерлар ёрдамида QTL карталаштириш”

Мутахассислик: 5A410401 - “Селекция ва уруғчилик(ғўза)”

Магистр
академик даражасини олиш учун ёзилган
диссертация

Илмий рабар:
биология фанлари номзоди, доцент: М.С.Рахмонқулов.
биология фанлари номзоди, к.и.х: Ф.Н.Кушанов

Тошкент- 2014

МУНДАРИЖА.	
Шартли белгилар ва қисқартмалар рўйхати.	3
КИРИШ.	5
I-БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ.	12
1.1. ДНК маркерларининг турлари.	12
1.2. ДНК маркерлари ёрдамида ғўзанинг қимматли хўжалик белгиларини молекуляр-генетик карталаштириш.	15
1.3. Маркерларга асосланган селекция (МАС) усулининг Ўзбекистон ғўза селекциясидаги тадбиқи.	22
II-БОБ.ТАДҚИҚОТ ОБЪЕКТЛАРИ ВА УСЛУБЛАРИ.	32
2.1. Реактивлар.	32
2.2. Ускуналар.	32
2.3. Ўсимлик материаллари.	32
2.4. Ўсимлик тўқимасидан геном ДНКси ажратиш.	33
2.5.Электрофорез усули ёрдамида ДНК ва ПЗР маҳсулотларини текшириш.	38
2.6. Полимераза занжир реакцияси.	43
2.7. Генотиплаш ва компьютар таҳлиллари.	45
III-БОБ.НАТИЖАЛАР ВА МУҲОКАМА.	47
3.1. Тола узунлиги белгиси бўйича яратилган F ₂ авлод дурагайларида фенотипик кузатувлар ҳамда техник таҳлиллар натижалари.	47
3.2. F ₂ авлод дурагайларида генотиплаш натижалари.	56
3.3. Молекуляр маркерлар ёрдамида ғўзада тола узунлиги белгисини QTL карталаштириш.	60
ХУЛОСА.	64
Фойдаланилган адабиётлар рўйхати.	66
ИЛОВА.	74

КИРИШ

Селекция ёки карталаштириш лойиҳалари учун ДНК маркерлар синфининг афзалликларига эътибор қаратган ҳолда мос келувчи ДНК маркерини танлаб олиш зарур. Миқдорий ва сифат белгиларини карталаштириш, белгиларни бир индивиддан иккинчи индивидга интрогрессия қилиш, гермоплазмани таҳлил қилиш каби тадқиқотлар турли хил услубий ёндашувни (турли маркерлар тизими қўлланилишини) талаб этади. Тадқиқот учун бир нечта маркерлар турларининг қўлланилиши ва уларнинг самара бериши уларнинг икки хил хусусияти билан баҳоланади: биринчиси, маркернинг популяциядаги индивидлар ўртасидаги тафовутни намоён қила олиши; иккинчиси, геномдаги маркер частотаси (яъни битта реакцияда маркер томонидан бир нечта локус таҳлил қилиниши мумкин). Оддий такрорланувчи кетма-кетликлар (ингл. SSR—simple sequence repeat, м-н: икки нуклеотид такрорланувчи кетма-кетликлар **CGCGCGCGCG**; **TATATATA**; уч нуклеотид такрорланувчи кетма-кетликлар **ACTACTACTACT**) маркерлари бошқа маркерларга нисбатан юқори гетерозиготалилиги сабабли улар индивидлар ўртасидаги тафовутни аниқлаш каби мақсадлар учун кенг қўлланилади ва бирмунча самарадор маркер синфи ҳисобланади. [4].

Бугунги кунда молекуляр маркерлар технологияси геноми мураккаб ҳисобланувчи ғўза ва шунга ўхшаш бошқа ўсимликлар генетик ҳариталарини тузишда асосий усуллардан ҳисобланади. Генетик ҳариталар тайёр сиквенслар билан физик ҳариталар тузишда ҳамда генларни позицион клонлашда муҳим ўрин тутаяди ва натижада эса бутун геном сиквенс қилинади. Ғўза тетраплоид (AADD) $2n = 4x = 52$ хромосома наборига эга бўлиб, гаплоид геномининг ўлчами тахминан 2200-3000 Mb (мегабайт) ва у умумий ҳисобда 5200 cM (сантиморган), ўртача бир сантиморганга эса 400kb тенг келувчи 26 хромосомларда жойлашган [55]. Бундай улкан геном учун кидирилаётган генга яқин турувчи маркерлардан иборат бўлган ҳарита

яратишда кўп миқдорда ДНК маркерлари талаб этилади. Бу эса ҳар 1 сМ ни коплаш учун қарийиб 3000 маркер талаб этади [55]. RFLP маркерлари ғўза геном ДНК-маркерларини идентификациялашда ва полиморфизмни характерлашда “бошланғич нуқта” бўлган. Reinisch 1994-йили 705 RFLP маркерларидан фойдаланиб *G.hirsutum* “palmeri” ҳамда *G.barbadense* K101 линияси билан туричи чатиштириш натижасида олинган 57 та F₂ авлод дурагайларида 41та бирикканлик гуруҳини ташкил этувчи ҳарита яратди. Шунингдек бошқа олимлар томонидан ҳам RFLP маркерлари ёрдамида бир нечта генетик ҳариталар яратилган [67].

Бундан ташқари олимлар томонидан ғўзада Миқдорий белгилар локусларини (МБЛ, ингл. QTL – Quantitative trait loci) карталаштириш бўйича бир қатор илмий тадқиқот ишлари олиб борилган. Бундай ишларга тола чиқими, сифати каби муҳим агрономик белгилар устида олиб борилган илмий изланишлар яққол мисол бўла олади. АҚШлик олим Ulloa ғўзанинг NM2401 ва TM1 линияларини чатиштиришдан олинган F₂ авлод дурагайлари устида олиб борган тадқиқотлари натижасида ғўза геномининг 1058сМ масофасини қамраб олувчи 28та бирикканлик гуруҳини ўзида мужассам этган генетик ҳарита яратди. Мазкур ҳаритада F₃ авлод индивидларидан олинган маълумотлардан ҳам фойдаланилган ва шу асосда ҳаритада 7та QTL топилган. Шундан иккитаси 7 ва 25 бирикканлик гуруҳларида жойлашган бўлиб тола узунлигига жавоб берувчи QTLлар ва улар ушбу белгининг 19% вариациясини намоён этган. Иккита QTL тола ингичкалигига тегишли бўлиб 22% вариацияни ташкил этган бўлса бор йўғи биттагина QTL тола мустаҳкамлигига бириккан қарийиб 6% вариацияни ташкил қилганлиги аниқланган [66].

Хитойлик тадқиқотчилар томонидан ҳам тола сифати ва пишиқлиги белгиларига бириккан QTL топиш мақсадида илмий изланишлар олиб борилган [30]. Генетик таҳлиллар ва молекуляр карталаштиришга асосланиб тола сифати анча юқори бўлган 7235 Upland (*Gossypium hirsutum* L.) гермоплазма линиясида асосий тола пишиқлигига бириккан QTL

аниқланган. Ушбу тадқиқот ишларида олиб борилган илмий изланишлар натижаларига кўра QTL локуслари билан бириккан иккита SSR ва олти RAPD маркерлари топилган.

Тадқиқот объекти ва предметининг белгиланиши: Тадқиқот объекти – ғўза экини бўлиб, тадқиқотда қуйидаги намуналардан фойдаланилди: а) ғўзанинг *G.barbadense* L. ва *G.hirsutum* L. турларини ўзаро чатиштириб олинган, F₁ авлод дурагай ўсимлиги б) ота-она шакллари в) F₂ авлод дурагай ўсимликлари. Тадқиқот предмети – JESPR, TMB, GH, BNL, CIR, NAU микросателлит маркерлар тўплами.

Тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари: Ушбу магистрлик ишидан кўзда тутилган асосий мақсад, ғўзада тола узунлиги белгисини бошқарувчи ген/локусларни ҳариталаш билан боғлиқ барча усулларини ўрганиш ва ўзлаштиришдан иборат.

Илмий иш мақсадидан келиб чиққан ҳолда қуйидаги вазифаларни ўз ичига олади:

1. Мазкур тадқиқотнинг бошланғич материаллари сифатида олинган ғўза намуналари ва уларни ўзаро чатиштиришдан олинган иккинчи авлод дурагайларини экиш ва уларда морфо-биологик кузатув ишларини олиб бориш;

2. СТАВ усулидан фойдаланиб тажриба бошланғич материаллари ва иккинчи авлод дурагайларидан геном ДНКлар ажратиш;

3. Ғўза геномига асосланиб яратилган бир нечта ДНК маркерлар оилалари билан тажрибанинг ота-она ўсимликларини ПЗР (полимераза занжир реакция) усули билан текшириш ва полиморф маркерларни аниқлаш;

4. Аниқланган полиморф маркерлар билан тажрибанинг иккинчи авлод дурагайларининг геном ДНКларини ПЗР скрининг қилиш ва олинган натижаларни генотипик таҳлил қилиш;

5. Тадқиқот намуналарида тола узунлиги кўрсаткичларини аниқлаш;

6. Тўпланган морфо-биологик маълумотлар (ўсимлик бўйи, моноподиал ва симподиал шохлар, шохланиш типи, кўсак шакли, чаноқлар сони, биринчи ҳосил шохининг баландлиги (hs), тола узунлиги, тола чиқими ва мингта чигит оғирлиги) билан ПЗР скрининг натижасида олинган генотипик маълумотларни ўртасидаги генетик муносабатларни аниқлаш учун MapQTL (Миқдорий белгилар локусларини ҳариталаш) дастурида таҳлил қилиш;

7. Тола узунлигига алоқадор бўлган QTL локусларини хромосомалардаги ўрнини тасвирлаш.

Тадқиқотнинг асосий масалалари ва фаразлари: Тадқиқотнинг асосий масаласи ғўза ўсимлигининг тола узунлиги белгисига жавоб берувчи ген/локусларни аниқлашдир. Ген/локуслари аниқланган тизмалар келажакда маркерларга асосланган селекция усули ёрдамида толаси узун бўлган янги навларни яратишда қўлланилади.

Мавзу бўйича қисқача адабиётлар таҳлили: Ғўзанинг қимматли хўжалик хусусиятлари миқдорий белгилари локусларини (QTL) карталаштириш борасида мамлакатимиз олимлари томонидан кўпгина тадқиқотлар амалга оширилган. Жумладан, “Баргнинг табиий тўкилиши” А.А. Абдуллаев (2005), “Тола чиқими белгиси” З. Т. Буриев (2005), “Ғўзада фотопериодик генларни QTL карталаштириш” Ф.Н. Кушанов (2005) ва дунёда биринчи марта И.Ю.Абдурахмонов бошчилигида ёввойи ғўза гермоплазмасининг турли географик жойларидан келиб чиққан ғўзанинг *G.hirsutum* L. авлодига мансуб мингга яқин нав ва нав намуналарини Ўзбекистон ва Мексика иқлим шароитида ДНК маркерлари ёрдамида ўрганиб толанинг сифат белгиларидан тола узунлиги, пишиқлиги, элонгацияси ва тола микронейрига алоқадор бўлган QTL локуслари аниқланди ҳамда уларнинг нотенг бирикканлик ҳариталари тузилди [23]. Дунёда биринчи марта Генетика ва Ўсимликлар Экспериментал Биологияси Институти қошидаги Геном технологиялари маркази (ҳозирги Геномика ва биоинформатика маркази) олимлари томонидан тола чиқими, тола сифатлари

(тола узунлиги, пишиқлиги, элонгацияси, микронейр) каби ғўзанинг қимматли хўжалик белгиларини тадқиқ қилиб мамлакатимизда биринчилардан бўлиб ДНК маркерларига асосланган селекция дастурини яратди ва унинг тажрибалари муваффақиятли амалга оширилмоқда. И.Ю.Абдурахмонов ва унинг жамоаси томонидан фитохром А (PHYA) генига хос бўлган CAP маркерларидан фойдаланиб ғўзада тола узунлигига жавобгар QTLни ($LOD > 4.0$) аниқлашган. Бошқа тадқиқотларда индуцирланган мутагенез оқибатида фотопериодик гуллаш хусусияти ўзгартирилган мутант линияларнинг бошланғич манбадан геноми қанчалик даражада ўзгарганлиги (генетик масофаси) ҳамда филогенетик дивергенциясинини баҳолашда 40та полиморфик SSR дан фойдаланилган [17]. Ўртача ҳисобда юқоридаги 40 SSR 141та локусни амплификациялаган. Ғўзанинг барча ўрганилган генотиплари ўртасида 141 информатив аллеллар асосида аниқланган генетик масофа 0.09 дан 0.60 гачани ташкил этган. Юқорида келтирилган маълумотларга асосланиб шуни айтиш мумкинки, ғўза фотопериодик гуллашини QTL карталаштириш ҳам ғўза геномини тадқиқ қилишда муҳим ўрин тутаяди. Шуни алоҳида таъкидлаб ўтиш жоизки нафақат Ўзбекистонда қолаверса дунёда биринчи марта ғўзанинг фотопериодик гуллашга жавоб берувчи локусларини QTL карталаштиришга қўл урилган. Шунингдек EST-SSR маркерларидан фойдаланиб тола ривожланиши инициацияси билан боғлиқ QTL регионлари аниқланган [18,25]. Бундан ташқари SSR маркерларидан фойдаланиб табиий барг тўкилиши каби ғўзанинг ноёб хусусияти билан ассоциацияланган QTL аниқланган [5].

Ғўза фотопериодик гуллашини QTL карталаштириш ҳам ғўза геномини тадқиқ қилишда муҳим ўрин тутаяди. Ўзбекистонда қолаверса дунёда биринчи марта ғўзанинг фотопериодик гуллашга жавоб берувчи локусларини QTL карталаштиришга қўл урилган. Келажакда ушбу ишлар натижаси Маркерларга Асосланган Селекция (МАС) дастурига донор линиялар ва улардаги қимматли хўжалик белгиларга генетик боғланган ДНК маркерларини тақдим этади. Жумладан И.Ю.Абдурахмонов бошчилигида

амалга оширилган ғўза гермоплазмасидаги мингга яқин ғўзанинг нав ва нав намуналарини ДНК маркерлари ёрдамида ўрганилиши натижасида ўзида маркер белгисини тутган донор линиялардан фойдаланиб 2009 йилда МАС дастурини биринчи тажрибалари амалга оширилиб 2013 йилда тола узунлиги, пишиқлиги, элонгацияси ва тола микронеёри сезиларли даражада яхшиланган ғўзанинг янги Равнақ-1 ва Равнақ-2 навлари Давлат Нав Синаш комиссиясига топширилди. Геномика ва биоинформатика маркази олимлари томонидан ёввойи ғўза гермоплазмаси коллекциясидаги 300 га яқин ингичка толали ғўзанинг нав ва нав намуналарини SSR маркерлар ёрдамида ассоциацион ва нотенг бирикканлик ҳариталаштириш ишлари яқунлаш арафасида эканлиги ҳам юртимизда ғўза геномини тадқиқ қилиш ишлари нақадар жадаллик билан ривожланаётганлигини кўрсатади. Юқорида таъкидлаб ўтилган тадқиқотлар қатори мазкур илмий иш ҳам толанинг сифат белгиларига алоқадор миқдорий белгилар локусларини топишга ва уни МАС дастурига тадбиқ қилишга қаратилган.

Тадқиқотда қўлланилган услубларнинг қисқача тавсифи:

Ўсимлик тўқимасидан геном ДНКсини ажратиш.

Электрофорез усули ёрдамида ДНК ва ПЗР масулотларини текшириш.

Полимераза занжир реакцияси (ПЗР).

Генотиплаш ва компиютер таҳлиллари.

Тадқиқот натижаларининг назарий ва амалий аҳамияти: Танлаб олинган линиялардан ва ДНК маркерларидан селекция ишларида молекуляр биология соҳасидаги таълим жараёнларида фойдаланиш мумкин.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги: Ушбу дисертация иши Ўзбекистонда Геномика ва биоинформатика маркази олимлари томонидан ўрганилган.

Дисертация таркибининг қисқача тавсифи: Ушбу дисертация иши 3та боб, хулоса ва фойдаланилган адабиётлардан иборат. 1боб Адабиётлар шарҳи бўлиб 3та режадан иборат, 2боб Тадқиқот объектлари ва услублари бўлиб бу 7та режадан иборат, 3боб Натижа ва муҳокамалар бўлиб 3та

режадан иборат. Дисертацияда 70 та адабиёт, журнал ва чет ел мақолаларидан фойдаланилган ҳамда илова сифатида 8 та фотосурат келтирилган.

I-БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ.

1.1. ДНК маркерларининг турлари

ДНК маркерлари ўзининг юқори информативлиги, спецификлиги, полиморфиклиги ва фойдаланиш қулайлиги сабабли молекуляр-генетик тадқиқотларда мустаҳкам ўрин эгаллаб келмоқда. Қуйида уларнинг баъзилари ҳақида мисоллар келтирилган.

RFLP – Restricted Fragment Length Polymorphism (Бўлакланган Фрагментлар Узунликлари Полиморфизми - БФУП). RFLP таҳлили илк бор Жеффрис томонидан 1985 йил олиб борилган [34].

Бу усулда рестриктазалар ДНКни маҳсус участкаларда, одатда палиндром кетма-кетликларда парчалайди. Мутация натижасида шундай кетма-кетликларнинг асосларидан бири ўзгариб қолган бўлса бу участкалар рестриктазалар ёрдамида парчаланмайди. Аксинча мутация натижасида рестриктазаларга чидамли бўлган бошқа янги участкалар пайдо бўлиши мумкин. Холбуки гипервариабел участкалар геномнинг транспозиция, нотенг рекомбинациялар ва ДНК-полимераза комплексининг "сирғалиши" каби

анчайин мураккаб таркиб топишидан келиб чиққан. Натижада эса икки генетик ноўхшаш индивидлардан келиб чиққан бир-бирига мос келувчи ДНК фрагментлари тез-тез ҳар хил узунликда рестрикция фрагментларни юзага келтиради. Бу маркер тизимининг бир қанча камчиликлари мавжуд, жумладан юқори меҳнат, қимматлилиги шунингдек ирсийланишнинг доминант кўриниши (гетерозигота генотипини аниқлаш имконияти йўқ).

RAPD маркерлари (Random Amplified Polymorphic DNA - Тасодифий Амплификацияланган ДНКлар Полиморфизми) ПЗРга (Полимераза Занжир Реакцияси) асосланган бўлиб, усулнинг асосий моҳияти ДНК регионларининг қисқа (10 нуклеотидгача) эркин олигонуклеотидлар томонидан тасодифий амплификацияланиши билан белгиланади. Праймерларнинг керакли участкаларга бориб (гибридизация) жуда юмшоқ шароитда амалга оширилади. RAPD праймерлари ДНКнинг ўзига комплементар бўлган участкаси билан боғланади ва амплификация иккала занжирда икки йўналиш бўйлаб амалга ошади. Праймерланиш ўртача ҳолда ҳар бир миллион жуфт асосга бир марта тўғри келади [36]. Битта праймер тегишли тур ёки индивидум ДНК ўхшаш учаскасига боғлиқ ҳолда бир неча ПЗР маҳсулотлари бериши мумкин. RAPD маркерлар одатда популяциянинг генетик структурасини ўрганишда ёки генетик карталаштиришда фойдаланилиши мумкин.

RAPD-маркерлари бошқа тип маркерларига нисбатан анча арзон, содда ва қулайлиги билан ажралиб туради. Бу усулда радиоактив моддалар ишлатилмайди, пробаларни тайёрлаш учун маҳсус таёргарлик талаб қилинмайди ва ҳаттоки ДНК кетма-кетлигини ҳам олдиндан билиш шарт эмас. Бироқ бу маркерлардаги камчилик уларнинг доминатлигида ва бу гетерозиготани гомозиготадан фарқлашда ва бунинг натижасида эса аллеллар частотасини аниқлашда анча қийинчиликлар келтириб чиқаради.

AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism (Амплификацияланган Фрагмент Узунлиги Полиморфизми). Бу усул амплификация ва рестрикция этапларидан ташкил топган бўлиб энг аввало

геном ДНКси рестриктазалар набори (одатда, 2, 4 ва 6 нуклеотидлар кетма-кетлигини танийдиган рестриктазалар жуфтлиги) билан ишланади. Ҳосил бўлган фрагментларга адаптерлар уланади. Сўнгра адаптер праймерлари ёрдамида амплификацияланади ва ундан кейин эса 3' ичида рестрикциясига тегишли бўлган уч эркин нуклеотид тутувчи адаптер кетма-кетлигига мос праймерлар ёрдамида селектив амплификация ўтказилади. Триплетлар амплификацияни рестрикцион фрагментларнинг баъзи қисмлари билан таъминлайди. Бу усул ёрдамида нуклеотид кетма-кетлигини билмасдан туриб ҳам катта миқдордаги SNPларни таҳлил қилиш мумкин [70]. AFLP маркерларини қўллаб Генетика ва ЎЭБ институтутида [19] бир неча ўзбек навларининг молекуляр-генетик паспорти яратилган.

Микросателлитлар ёки SSR (SSR – Simple Sequence Repeat - Оддий такрорланувчи кетма-кетликлар). SSR маркерлари ўзининг юқори полиморфлилиги билан бошқа маркерлардан ажралиб туради. Микросателлитлар ҳаттоки яқин қариндош бўлган индивидумлар локусарида ҳам юқори полиморфизм намоён этади. [20]. Микросателлит кетма-кетликлари одатда динуклеотид (AC)_n, (AG)_n, (AT)_n; тринуклеотид (CGG)_n, (GCC)_n, (TCT)_n, (TTG)_n; тетрануклеотид (TATG)_n ва ҳ-о бўлиб, “n” – микросателлит локуслар ичидаги кетма-кетликликлари такрорларининг миқдорини билдиради. Ўсимликларда энг кўп учрайдиган микросателлит такрорлар (AT)_n, ҳайвонларда эса (AC)_n эканлиги олимлар томонидан қайд этилган [21,22] и (GT)_n [60]. Микросателлитлар генлар экспрессияси регуляциясида, рекомбинциясида, ген конверсиясида ва жинснинг аниқланишида иштирок этиши тахмин қилинади.

Баъзи олимларнинг таъкидлашича микросателлитларнинг юқори стабиллиги сабаб уларни генетик маркерлашда, популяцион тадқиқотларда ва ҳаттоки геном дактилоскопияси усулидан фойдаланиб шахснинг идентификациясида ишлатилиши мумкин [24, 31]. Микросателлит маркерлардан фойдаланиб тадқиқотчи ва олимлар томонидан бир қанча илмий тадқиқотлар олиб борилган. Хусусан геномни карталаштириш,

Ўсимликларда қимматли хўжалик белгиларга жавоб берувчи QTL локусларини аниқлаш, турларнинг бир-бирлари билан филогенетик қардошлигини аниқлаш каби ишлар бунга мисол бўла олади. Мамлақтимиз олимлари томонидан ҳам ушбу маркерлар тизимидан фойдаланиб бир қанча халқаро даражадаги тадқиқотлар амалга оширилган. Жумладан ғўзанинг табиий ҳолдаги барг тўкиши, тола чиқими, сифат кўрсаткичлари, фотопериодик гуллаш каби белгилари SSR маркерлари томонидан тадқиқ қилинган [6].

CAPs - (Cleaved Amplified Polymorphism - Парчаланган Ампликонлар Полиморфизми) ва **dCAP** (ишлаб чиқилган CAP). Полиморфик рестрикция сайтини RFLP усули билан аниқлаш керакли фрагментни ва парчалаш учун унга мос келадиган фермент томонидан ПЦР-амплификациясида амалга оширилади. CAP маркерлари ген-специфик маркерлар ҳисобланиб керакли ген амплификация маҳсулотида мавжуд битта нуклеотид полиморфизмига асосланган. Энг аввал ўрганилаётган белги учун жавоб берувчи ген клонланади ва сиквенс қилинади. Ундан сўнг кетма-кетлиги аниқланган участка интернет маълумотлар базасида мавжуд SNPга ва ушбу SNP рестрикция сайтини аниқлаш учун текшириб кўрилади. Назарий томондан ёввойи тип ёки мутант кетма-кетлиги SNP туфайли эндонуклеазаларга таъсирчанлиги билан фарқланиши ва шу сабабли специфик эндонуклеазалар (рестриктазалар) томонидан парчаланиши (кесилиши) мумкин. Агарда SNP мавжуд рестриктазалар билан кесилдиган бўлса маркер яратиш мумкин [35]. Аксинча рестрикция сайти маҳсулотда мавжуд бўлмаса у ҳолда SNP ёнига сунъий равишда рестрикция сайти киритилади ва бу dCAP деб аталади [53]. Гарчи биров камчиликлари бўлсада, ўзининг оддийлиги ва ишончлилиги билан бу метод анча кенг тарқалган ва оммабопдир.

STS – (Sequence Tagged Site – сиквенс қилинган сайтлар). STS – бу ДНКнинг калта (200-500 ж.а.), ноёб кетма-кетликларидир. STS кетма-кетликлари генетик полиморфизмни топиш йўлида ишлатилдиган

фрагментлар рестрикцияси, ДНК фрагментларининг, зондларнинг клонланиши каби анализларда фойдаланилади. [31].

1.2. ДНК маркерлари ёрдамида гўзанинг қимматли хўжалик белгиларини молекуляр-генетик карталаштириш

Хромосомаларнинг генетик харитаси деб муайян хромосомада бирикиш гуруҳидаги бириккан генларнинг маълум тартибда ва бир биридан муайян масофада жойлашганлигини ҳамда генларнинг номларини ифодаловчи символлар акс эттирган схемага айтилади. Генлар хромосомада маълум тартибда чизик бўйлаб жойлашганлиги сабабли кросинговер частотаси бу генлар орасидаги масофани кўрсатади. Шунинг учун олинган далилларга асосланиб, геннинг хромосомада жойлашган ўрнини аниқлаш мумкин. Биринчи бўлиб генетик бирикканлик харитани 1913-йилда Стуртэвент томонидан тузилган бўлиб, бу генетик олимларда генларни аниқлаш ва уларни генетик хариталарга жойлаштириш қизиқишни уйғотди. Бошланғич давр давомида олимлар эътибори ирсийланишни алоҳида шаклини кўрсатувчи морфологик белгиларда эди. Бироқ тиббиёт, кишлоқ-хўжалик ва ҳайвонларни тадқиқ қилувчи олимларга қизиқарли бўлган белгиларнинг кўпчилиги доим ўзгариб туришини кўрсатади. Бундай белгилар миқдорий белгилар деб номланади. Кўп омилли ёки полиген хусусиятли мураккаб белгиларнинг ирсийланишини тушуниш билан биолог олимлар бундай белгиларни ўрганиш қийинчилигини англаб етди. Биринчи бўлиб 1923-йили Карл Сакс морфологик маркерлар билан миқдорий белгиларни бирлаштирди. 1975-йили Гелдерман миқдорий белгилар локуси атамасини ўйлаб топди ва бу “миқдорий белгилар таъсири билан бириккан геномнинг бир бўлаги” деган маънони англатади. Морфологик белгиларни ўзидан фойдаланиб, юқори даражада генотип, атроф-муҳит ва эпистатик ўзаро таъсирларни намоён қиладиган бундай локусларни аниқлаш жуда қийин, морфологик белгилар тўлиқ геномнинг атиги 5% ни ташкил қилади, бундан ташқари экспрессия босқичига боғлиқ ҳисобланади. 1953 йилда

Уотсон ва Крик томонидан ДНК структураси кашф қилингандан сўнг молекуляр биология соҳасида қатор кашфиётлар, жумладан, генлар ва генетик хариталар тузилишига олиб келди. Янги ДНКга асосланган маркерлар: RFLP, RAPD, AFLP, SSR ва SNP каби маркерлар генетик бирикканлик анализларини ва кўпинча QTL тадқиқотларини олиб боришда фойдаланилди. Дастлаб миқдорий белгилар локусларини (МБЛ/QTL) ўрганишда F₂ авлод ва бэккросс (BC) популяциялардан кенг фойдаланилган. Бироқ, бундай популяцияларнинг генетик қурилиши ўзига хос гетерозиготалик табиатига эга бўлганлиги учун QTL карталаштиришда ноқулайлик қилади. Бу QTL анализларда улардан кенг фойдаланишга тўсиқлик қилади. Бу тўсиқларни бартараф этиш учун бугунги кунда биологлар рекомбинант инбред линиялар (RILs), бэккросс инбред линиялар (BILs) кўш гаплоидли линиялардан (DH) кенг фойдаланиб келмоқдалар [64]. Бу манбаалар орасидан бир-биридан фарқ қилувчи икки хил гомозиготали ўсимликларни дурагайлашувидан олинган F₂ авлод индивидларининг ягона уруғини такрорий кўпайтиришдан олинган рекомбинант инбред линиялар (RILs/*RIL*) QTL анализларда энг кўп фойдаланилади [39, 41].

Генларнинг хромосомада жойлашган ўрнини яъни локусларини аниқлашдан олдин мазкур ген қайси хромосомада жойлашганлигини аниқлаш лозим. Битта хромосомада жойлашган ва бириккан ҳолда ирсийланадиган генлар бирикиш гуруҳларини ҳосил қилади. Бирикиш гуруҳларининг сони ҳар бир турнинг гаплоид сондаги хромосомалар тўпламининг сонига тенг бўлиши керак. Ҳамма гаплоид сондаги хромосомалар бирикиш гуруҳларининг тартиб рақамлари билан белгиланади.

Генетик харита тузиш учун даставвал ҳар қайси хромосома энг камида битта ген билан маркерланган бўлиши керак. Генетик харита тузиш учун кўп сондаги генларнинг ирсийланиш қонуниятларини тадқиқ қилиш керак.

Селекция ёки карталаштириш лойиҳалари учун маркерлар тизимининг афзалликларига эътибор қаратган ҳолда мос келувчи тизимни

танлаб олиш зарур. Миқдорий ва сифат белгиларини карталаштириш белгиларни бир индивиддан иккинчи индивидга интрогрессия қилиш, гермоплазмани таҳлил қилиш каби тадқиқотлар турли хил услубий ёндашувни (турли маркерлар тизими қўлланилишини) талаб этади. Тадқиқот учун маркерлар тизимининг қўлланилиши ва унинг самара бериши уларнинг икки хил хусусияти билан баҳоланади: биринчиси, маркернинг популяциядаги индивидумлар ўртасидаги тафовутни намоён қила олиши; иккинчиси, геномдаги маркер частотаси (яъни битта реакцияда маркер томонидан бирваракайига нечта локус таҳлил қилиниши мумкин). SSR маркерлари қолган маркерларга нисбатан юқори гетерозиготалиги сабабли бу тизим индивидумлар ўртасидаги тафовутни аниқлаш каби мақсадлар учун кенг қўлланилади ва бирмунча самарадор маркер тизими ҳисобланади [4].

Бугунги кунда молекуляр маркерлар технологияси геноми мураккаб ҳисобланувчи ғўза ва шунга ўхшаш бошқа ўсимликлар генетик ҳариталарини тузишда асосий усуллардан ҳисобланади. Генетик ҳариталар тайёр сиквенслар билан физик ҳариталар тузишда ҳамда генларни позицион клонлашда муҳим ўрин тутди ва натижада эса бутун геном сиквенс қилинади. Ғўзанинг тетраплоид (AADD) $2n = 4x = 52$ хромосома наборига эга бўлиб геномининг ўлчами тахминан 2200-3000 Мб (миллион жуфт асос) ва у умумий ҳисобда 5200 сМ, ўртача эса 400kb сантиморганга тенг келувчи 26 хромосомларда жойлашган. Бундай улкан геном учун қидирилаётган генга яқин турувчи маркерлардан иборат бўлган ҳарита яратишда кўп миқдорда ДНК маркерлари талаб этилади. Бу эса ҳар 1 сМ ни қоплаш учун қарийиб 3000 маркер талаб этилади [55]. Бироқ ғўзада бошқа ўсимлик турилари жумладан; шоли [65], помидор [26], жавдар ва буғдой [62] кабиларга нисбатан белгилар билан бириккан маркерлар жуда ҳам камчиликни ташкил этади. RFLP маркерлари ғўза геном ДНК-маркерларини идентификациялашда ва полиморфизмни ҳар актеризациялашда “бошланғич нуқта” бўлган. 705 RFLP маркерларидан фойдаланиб *G.hirsutum* “palmeri” ҳамда *G.barbadense* K101 линияси билан туричи чатиштириш натижасида

олинган 57 та F₂ авлод дурагайларида 41та бирикканлик гуруҳини ташкил этувчи ҳар ита яратди. Шунингдек бошқа олимлар томонидан ҳам RFLP маркерлари ёрдамида бир нечта генетик ҳар италар яратилган [67].

Ҳозирги кунда тадқиқотчилар томонидан қишлоқ хўжалик экинларининг қимматли хўжалик белгиларини карталаштириш учун турли хил ДНК маркерларидан фойдаланилмоқда. Zhang ва бошқ. генетик бирикканлик ҳаритаси яратишда соянинг (*Glycine max* L. Merr.) 184та рекомбинант инбред линияларини таҳлил қилишди [37]. Бу тадқиқотчилар гуруҳи 452та RFLP, SSR ва EST SSR маркерлари ёрдамида соя геномидаги 3595.9 сМ қамраб олувчи 21та бирикканлик гуруҳини яратишди. Протеин ва мойлилик даражаси, пишиш даври ва ўсимлик бўйи каби 9та қимматли хўжалик белгиларининг 63та миқдорий белгилар локуслари - QTLни (LOD>3) бўлганда аниқлашган. Маълум бўлишичи бу локусларнинг ҳар бири камида 5та фенотипик белгига таъсир қилиб ушбу QTLларнинг плейотроп эффеқтини намоён этган.

Brondani ва бошқ. 157та микросателлит маркерларга асосланган молекуляр ҳарита ёрдамида шолининг (*Oryza sativa*) 11та агрономик белгиларини ўрганиб чиқишган. Белгиларнинг 14.5 – 72.9% фенотипик вариациясига жавоб берувчи маркер регионлар шолининг 12та хромосомасидан 9тасида жойлашганлиги аниқланган.

Mokrani ва бошқ. кунгабоқарнинг (*Helianthus annuus* L.) икки инбред линиясини чатиштириб яратилган F₃ авлод дурагайларида QTL локусларини ўрганиш бўйича тадқиқотлар олиб борди. Тадқиқот ишларида олимлар ота-она ҳамда F₃ авлод ўсимликларини 276 AFLP ва микросателлит маркерлари билан таҳлил қилишиб 170 та маркердан иборат бирикканлик гуруҳларини яратишди. Умумий уруғ сони, ёғлилик даражаси, гуллаш вақти каби белкилари таҳлили қилиниб, ҳар бир QTLнинг фенотипик ўзгарувчанлик фоизи 2.6% дан 70.9% гачани ташкил қилганлиги қайд этилган [51].

Ғўза ўсимлигида ҳам олимлар томонидан QTL карталаштириш бўйича бир қатор илмий тадқиқот ишлари олиб борилган. Бундай ишларга тола

чиқими, сифати каби муҳим агрономик белгилар устида олиб борилган илмий изланишлар яққол мисол бўла олади. АҚШлик олим Ulloa NM2401 ва TM1 линияларини чатиштириб олинган F₂ авод дурагайлари устида олиб борган тадқиқотлари натижасида ғўза геномининг 1058 сМ масофасини камраб олувчи 28 та бирикканлик гуруҳини ўзида мужассам этган генетик харита яратган. Мазкур харитада F₃ авлод индивидларидан олинган маълумотлардан ҳам фойдаланилган ва шу асосда харитада 7 та QTL топилган. Шундан иккитаси 7 ва 25 бирикканлик гуруҳларида жойлашган бўлиб тола узунлигига жавоб берувчи QTLлар ва улар ушбу белгининг 19% вариациясини намоён этган. Иккита QTL тола ингичкалигига тегишли бўлиб 22% вариацияни ташкил этган бўлса бор йўғи биттагина QTL тола мустаҳкамлигига бириккан қарийиб 6% вариацияни ташкил қилганлиги аниқланган [66].

Хитойлик тадқиқотчилар томонидан ҳам тола сифати ва пишиқлиги белгиларига бириккан QTL топиш мақсадида илмий изланишлар олиб боришган [30]. Генетик таҳлиллар ва молекуляр карталаштиришга асосланиб тола сифат анча юқори бўлган 7235 Upland (*Gossypium hirsutum* L.) гермоплазма линиясида асосий тола пишиқлиги QTL аниқланган. Ушбу тадқиқот ишларида олиб борилган илмий изланишлар натижаларига кўра иккита SSR ва олти RAPD маркерлари QTL билан бириккан.

Толаси жуда калталиги билан ажралиб турувчи *Ligon lintless* (*Li*₁) моносомик доминант ғўза мутанти TM-1 нави билан SSR маркерлари ёрдамида таққосланди. Мутант фенотипи *Li*₁ билан бириккан маркерлар (LOD \geq 3.0 га тэнг бўлганда) ва уларнинг қайси хромосома жойлашганлиги аниқланган [40].

Шунингдек, олимлар TM-1 (*G.hirsutum*) линияни 3-79 (*G.barbadense*) кўш-гаплоидли линия билан турлараро чатиштириш натижасида яратилган популяция устида олиб борган тадқиқотларида тола ингичкалигига бириккан 13 RFLP ва RAPD маркерларини аниқлашган [41].

Илмий манбаларда фақат фотопериодизмнинг молекуляр асосини ўрганишда қилинган уринишлар ҳақида баъзи маълумотлар келтирилган. Жумладан, *G.hirsutum* L. турининг иккита фотопериодик-ўзгартирилган линиялари ва тўққизта маданий навлар улар ўртасидаги генетик масофани аниқлаш мақсадида ўрганилган. Gutiérrez ва бошқ., маълумотларига кўра SSRs маркерлардан фойдаланиб аниқланган бу навлар ва фотопериодик-ўзгартирилган линиялар ўртасидаги генетик масофа 0.26 дан 0.34 гача эканлиги кўрсатилган [28].

Генетик масофанинг энг юқори кўрсаткичи ($GD=0.34$) АҚШнинг ST474 ғўза нави ва *G.hirsutum* L. примитив турининг фотопериодик-ўзгартирилган линиялари ўртасида аниқланган бўлса, энг кичик генетик масофа эса ($GD=0.06$) Австралиянинг икки ғўза нави ўртасида кузатилган. *G.hirsutum* L. примитив турининг фотопериодик-ўзгартирилган линиялари генетик хилма-хиллигини SSRs маркерлари ёрдамида ўрганган ҳолда фотопериодик-ўзгартирилган материал ва стандарт ғўза нави TM1 ўртасида юқори генетик ўхшашликни (>0.75) топишган. [46]

Бу борада мамлакатимиз олимлари томонидан ҳам бир қанча муваффақиятларга эришилган. Генетика ва ЎЭБ институти Геном Технологиялари Маркази олимлари томонидан тола чиқими, сифати (узунлиги, пишиқлиги) каби ғўзанинг қимматли хўжалик белгиларини тадқиқ қилиб мамлакат иқтисодиётини яхшилашда қолаверса дунё миқёсда юксак натижаларга эришиб келинмоқда. И.Ю.Абдурахмонов ва бошқ. томонидан фитохром А (PHYA) генига специфик бўлган CAP маркерларидан фойдаланиб ғўзада тола узунлиги QTLни ($LOD>4.0$) аниқлашган. Бошқа тадқиқотларда индуцирланган мутагенез оқибатида фотопериодик гуллаш хусусияти ўзгартирилган мутант линияларнинг бошланғич манбадан геноми қанчалик даражада ўзгарганлиги (генетик масофаси) ҳамда филогенетик дивергенциясинини баҳолашда 40 та полиморфик SSR дан фойдаланилган [7]. Ўртача ҳисобда юқоридаги 40 SSR 141та локусни амплификациялаган. Ғўзанинг барча ўрганилган генотиплари ўртасида 141 информатив аллеллар

асосида аниқланган генетик масофа 0.09 дан 0.60 гачани ташкил этган. Фотопериодизми ўзгартирилган мутантлар ва уларнинг бошланғич намуналари ўртасидаги генетик масофа 0.29 дан 0.50 гачани ташкил қилган. *G.barbadense* ssp.darwinii ва унинг фотопериодизм ўзгартирилган мутантлари ўртасида генетик масофа 0.50 ни ташкил этиб, радиоактив мутация натижасида юз берган генетик дивергенциянинг бирмунча юқорилигини кўрсатган. Шунингдек, геномнинг генотипланган регионлари бўйлаб 29 % ўзгариш юз берганлигидан далолат берувчи *G.hirsutum* ssp.purpurascens var.el-salvador ва унинг мутанти ўртасидаги генетик масофа ҳам сезиларли даражада (ГМ=0.29) эканлиги маълум бўлган.

Шунингдек EST-SSR маркерларидан фойдаланиб тола ривожланиши инициацияси билан боғлиқ QTL регионлари аниқланган [18,25] Бундан ташқари SSR маркерларидан фойдаланиб табиий барг тўкилиши каби ғўзанинг ноёб хусусияти билан ассоциацияланган QTL аниқланган [42]. Илк бор дунёда биринчи марта И.Ю.Абдурахмонов бошчилигида ғўза гермоплазмасининг мингга яқин нав ва нав намуналаридан фойдаланиб ғўзада “нотенг бирикканлик”ни карталаштириш амалга оширилган.

1.3. Маркерларга асосланган селекция (МАС) усулининг Ўзбекистон ғўза селекциясидаги тадбиқи

Ќўзанинг хўжалик қимматли бўлган белгиларига асосан ҳосилдорлик, эртапишарлик, зараркунанда ва касалликларга чидамлилиқ, толанинг технологик кўрсаткичлари (тола узунлиги, ингичкалиги, пишиқлиги, эластиклиги, буралувчанлиги, узилиш узунлиги, микронейр, тола чиқими), чигитни сермой бўлишлиги каби белгилар киради.

Толанинг узунлиги. Маданий ғўзаларда толанинг узунлиги 18—20 мм дан 45—50, ҳатто 55—60 мм гача бўлади. *G.barbadense* тури ғўза формаларига мансуб Си-Айленд ғўзасининг пахта толаси энг узун бўлади. Бундан кейин эса толасининг узунлиги жихатдан ғўзанинг маданий турлари куйидаги тартибда боради: ўрта толали (*G.hirsutum*), Африка-Осиё ғўзаси (*G.herbaseum*), Ҳинди-Хитой ғўзасининг (*G. arboreum*) толаси энг қисқа

бўлади. Республикамиз навларда пахта толасининг узунлиги 30—33 мм, баъзиларида бундан кўра узунроқ, ингичка толали ғўза навларида эса 38—40 мм гача боради. Толанинг бошқа хусусиятлари яхши бўлиши билан бирга, тола анча узун бўлса, қиммати шунча ортади.

Толанинг ингичкалилиги. Куруқ тола диаметри (эни) микрон ҳисобида белгиланади. Маданий ғўза навларида толанинг диаметри 7—10 микрондан 30 микронгача, кўпинча 15—20 микрон бўлади. Тола ингичкалигини кўпинча метрик номер билан ифодаланади, метрик номер 1 г толанинг метр ҳисобидаги ёки 1 мг толанинг миллиметр ҳисобидаги умумий узунлигини билдиради. Тола қанча ингичка булса, унинг метрик номери шунча катта, аксинча тола қанча йўғон бўлса, унинг метрик номери шунча кичик бўлади. Энг йўғон, дағал толанинг метрик номери 2500, энг ингичка толанинг метрик номери 12000 атрофида бўлади. Ўрта толали ғўзаларида толанинг метрик номери 5000-5500, ингичка толали ғўза навларида эса 6500-8000, кўпинча 7000-7500 га тенг . Тола қанчалик ингичка бўлса (тола деворчалари нормал ривожланганда), у шунчалик яхши ҳисобланади.

Толанинг пишиқлиги деб, унинг ўқи бўйлаб йўналган узувчи кучга қаршилиқ кўрсатиш қобилиятига айтилади. Битта толанинг пишиқлиги граммлар билан кўрсатилади. Битта етилган толанинг пишиқлик даражаси ғўза навларига қараб ҳар хил ўртача 4-7 г/тексга тенг .

Ҳозирги ўрта толали ғўза навларида толанинг пишиқлиги 4-4,9 г гача, кўпинча 4,5-5 г; ингичка толали ғўза навларида эса бироз кўпроқ 4,6—5,2 г, кўпинча 4,6-5,0 г.

Тола пишиқлиги ундаги деворчаларнинг қалинлигига боғлиқ. Шунинг учун клетчатка қатламлари тола деворчаларида анча кўп бўлса, яъни тола қанча яхши етилса, у шунча пишиқ бўлади. Ўз-ўзидан маълумки, кузги совуқ тушгунча нормал пишиб очилган кўсакдаги пахта толаси яхши етилган толага ва кўсак пахта толасига қараганда пишиқ бўлади.

Толанинг эластиклиги. Толанинг эластиклиги, яъни чўзилувчанлик хусусияти унинг пишиқлиги билан боғлиқ. Ингичка ва пишиқ тола ҳамма

вақт эластик бўлади. Шунинг учун ингичка толали ғўза турига мансуб ҳамда ингичка толали бошқа баъзи бир ғўза формаларининг пахта толаси пишиқ ва эластик бўлади. Бундай толалардан баъзи техник мақсадларда, масалан, автомобил шиналари учун астар (прокладка) қилишда, парашют қилинадиган газмоллар тайёрлашда фойдаланилади ва ҳоказо.

Толанинг буралувчанлиги. Толанинг энг муҳим хусусиятларидан яна бири, унинг буралувчанлигидир. Бундай толалардан ип йигирилганда улар ўзаро яхши бирикиб, ипнинг пишиқлиги, яъни тўқима пишиқлиги ортади. Тола қанчалик буралувчан бўлса, у шунчалик яхши ҳисобланади.

Толанинг буралувчанлик даражаси унинг бир миллиметрининг қанчалик буралиши билан белгиланади. Нормал ривожланиб пишган толада буралиш даражаси ғўзанинг тур ва навига қараб турлича бўлади. Одатда, тола қанча яхши буралса, шунча ингичка бўлади. Масалан, толаси нисбатан дағал жайдари ғўзанинг ҳар 1 мм толаси тахминан 6—8 марта, ўртача ва ингичка толали ғўзалариники эса 10—12 марта буралади.

Бунда кейингисиники одатда биринчисиникига қараганда бир неча марта, кўп буралган бўлади.

Толанинг неча марта буралишидан ташқари, бу буралишларнинг тола бўйига бир текисда жойлашишининг ҳам аҳамияти катта. Тола қанчалик бир текисда буралса, у шунчалик яхши ҳисобланади.

Толанинг узилиш узунлиги. Толанинг метрик номерини пишиқлик (грамм ҳисобидаги) кўрсаткичига кўпайтириб 1000 га тақсим қилинса, узилиш узунлиги келиб чиқади. Толанинг бу хилда ҳисоблаб чиқилган узилиш узунлиги назарий жиҳатдан шундай узунликки, агар толалар бири-бири билан учма-уч уланаверса, у маълум узунликка етганда ўз оғирлиги билан узилиб кетади. Ҳозирги экилаётган ўрта толали ғўзанинг саноатбоп навлари толасининг узилиш узунлиги одатда 23—25 км/га, ингичка толали ғўза навлари толасининг узилиш узунлиги эса 33—36 км/га, баъзи навларда эса 36—37 км/га етади [2].

Толанинг етилганлиги. Толанинг етилганлиги унинг деворчаларида

клетчатка қаватларининг пайдо бўлиш даражасига қараб аниланади ва буни шартли равишда етилиш коэффициентини деб аталади. Этилиш коэффициентини аниқлаш учун 250 дона пахта толаси микроскоп остига қўйилиб, поляроид (ИТ-2) деб аталадиган махсус мослама билан махсус ишланган тола етилиш шкаласига солиштирилади. Шкалада толанинг етилганлиги 0 дан 5 гача 0,5 бирликда 11 даража (гредатсия) га бўлиб кўрсатилган. Шкаладаги 0 коэффициентини ўлик толани, 5 коэффициентини ўта етилган, яъни деворчалари жуда қалинлашиб кетиши натижасида буралувчанлиги бўлмаган толани кўрсатади. Деворчалари нормал ривожланиб, буралувчанлиги бир текисда яхши етилган тола етилиш коэффициентини шкаласида 2—2,5 рақами билан кўрсатилади [1].

Толанинг чиқими. Толанинг чиқиши маълум миқдордаги чигитли пахта массасидан олинган соф чигитсиз тола массасининг шу тола олинган чигитли пахта миқдorigа бўлган % ҳисобидаги нисбатидир. Бинобарин, толанинг чиқиши бир томондан соф толанинг массасига боғлиқ бўлса, иккинчи томондан чигит массасига (подпушкаси билан бирга), унинг пуч ёки тўлиғ ва йириклигига боғлиқ.

Чигит юзасидаги толаларнинг сони турли ғўза формалари доирасида бири-биридан кескин даражада фарқ қилиши билан бирга, битта турга мансуб бир неча нав доирасида ҳам турличадир. Масалан, ғўза турларида чигит сиртида 7 мингдан 15 мингтагача тола бўлади.

Маданий ғўза формаларида толанинг чиқиши 20 дан 50 фоиз атрофида ўзгариб туради. Ишлаб чиқариш амалиётида тола чиқиш хажмини уч категорияга бўлиш қабул қилинган: тола чиқиши 30 фоиздан кам бўлса паст, 30—33 фоиз бўлса ўртача ва 33 фоиздан юқори бўлса юқори деб ҳисобланади. Бундай уч категорияга бўлиш шартли равишда қилинган, лекин селекцияда эришилган ютуқлар ва саноатнинг талабига қараб у ўзгариши мумкин. Лаборатория шароитида ҳар бир чигитли пахта партиясидан тола чиқиши шу партия намунасини аррали жинда ишлаб чиқиб топилади [2].

Микронеёр. Бу ғўза толасининг технологик кўрсаткичлари ичида ип-йигирув ва тўқимачилик саноатида муҳим ўрин эгаллаб, микронеёр асбобларда, маълум вазнли тола орқали ўтадиган хаво оқими босимининг пасайиши билан аниқланадиган кўрсаткичдир. У толанинг чизиқли зичлиги билан ўзаро боғлиқ микрограммнинг дюмга нисбатини ифодалайди, лекин турли селекция навлари учун турлича бўлади. Тахминий чизиқли зичликни олиш учун микронеёр кўрсаткичини 39,37 гс га кўпайтириш керак, лекин хақиқий қийматга тўғри келишига кафолат бермайди. Ўрта толали ғўза навлари учун кўрсаткич қоида бўйича 2,0 дан 6,5 гача интервалда бўлади. Асосий интервал 3,5 дан 4,9 гача ҳисобланади. Бу қийматлардан паст ёки юқори кўрсаткичларда фарқ қилиш даражасига қараб нархи ўзгартирилади. Микронеёр қийматларини қуйидаги гуруҳлари кўрилади:

2,4 ва ундан паст;

2.5- 2,6; 2.6-2.7-2.9; 3.0-3.2; 3.3-3.4;

3.5-4.9 (асос)

5.0-5.2; 5,3 ва ундан юқори.

Микронеёр кўрсаткичи ошганда ҳам, камайганда ҳам пахта толасининг вазни ўзгармайди.

Республикамизда ғўза ўсимлигини хўжалик-қимматли бўлган белгиларини яхшилаш борасида МАС усулини жорий қилинганига ҳали кўп вақт ўтмаган бўлсада бир қанча ютуқларга эришилмоқда.

Тола пишиқлигини яхшилаш мақсадида Д.Ж. Комилов ва бошқалар тола пишиқлик кўрсаткичи юқори бўлган 37.9 гк/текс донор нав намунаси (Л-Н1) билан республикамиз маҳаллий нави ҳисобланган тола пишиқлик кўрсаткичи 29 гк/текс тенг Ан-Боёвут-2 навини чатиштириб F_1 авлод олинган ва F_1 ни ретсипиент Ан-Боёвут-2 нави билан қайта (бекросс) чатиштирилган. Олинган BC_1F_1 авлод дурагайларида тола пишиқлик кўрсаткичи ўртача 35,1 гк/текс ташкил этди. Бу эса донордаги тола пишиқлиги билан боғлиқ маркер локуснинг дурагайларга ўтганлигидан далолат беради [16].

Тола чўзулувчанлигини яхшилашда М.М. Дармонов ва бошқалар тола чўзилувчанлик кўрсаткичи 16.4% юқори бўлган Саенр пена-85 донор нав билан ушбу параметр бўйича кўрсаткичи 8.9 % нисбатан паст белгили маҳаллий нав Андижон-35 чатиштирилди. Олинган F_1 авлодни Андижон-35 нави билан қайта чатиштирилди ва олинган BC_1F_1 авлодни тола эластиклигига жавоб берувчи ДНК маркери БНЛ 3650 билан ПЗР қилиб текшириб 45 та шу белгили ўсимлик олган. Бу кўрсаткич бўйича ўртача натижа 11.8 % (мак.13.8 – мин. 10.4) ни ташкил қилган [9].

Махкамов А.Х. тола пишиқлиги 29.2 гк/текс ва эластиклиги 8.9% тенг маҳаллий Андижон-35 навида шу кўрсаткичларни яхшилаш мақсадида Л-141 тола пишиқлиги юқори 37.9 гк/текс ва эластиклиги 9.8% ҳамда Саенр пена-85 тола эластиклиги юқори 16.4% ва пишиқлиги 31.7 гк/текс тенг бўлган тизмаларидан донор сифатида фойдаланган. Бу икки донор тизмани ретсипент Андижон-35 билан чатиштириб F_1 авлодни олган ва $F_1 \times F_1$ авлодларини чатиштириб дурагай ўсимликлар олинган. Бу дурагайлар Андижон-35 билан қайта чатиштирилиб олинган дурагайлар шу тола кўрсаткичларига жавоб берувчи ДНК маркерлари БНЛ 1122 ва БНЛ 3650 билан ПЗР қилиниб текширган. Олинган 28 та BC_1F_1 авлодларда тола пишиқлиги ўртача 35.3 гк/текс ва эластиклиги 11% тенг бўлган [12].

Дармонов М.М. ва бошқалар тола пишиқлиги 29.2 гк/текс тенг маҳаллий Андижон-35 навида бу кўрсаткични ошириш мақсадида юқори тола пишиқлиги билан генетик боғланган ДНК маркерларини тутган Л-141 линияси билан қайта чатиштириб 120 та BC_3F_1 авлодларини олган. Уларни тола пишиқлигига жавоб берувчи БНЛ 1604 ДНК маркерлари билан ПЗР усули ёрдамида текширган ва ўсимликларнинг 46 таси донор тизма аллелини, 57 таси ота она аллеларини, 17 таси фақат ретсипент аллелларини тутганлигини аниқлаган [10].

Махкамов А. Х. ва бошқалар ғўзада тола пишиқлиги ва микронеёри кўрсаткичини ошириш мақсадида МАС технологиясининг пирамидалаш усулидан фойдаланиб тола сифат белгиларидан тола микронеёри ва

пишиқлиги юқори бўлган икки хил донор ғўза нав намуналари (КК-1795 ва Л-141) билан генетик полиморф бўлган ва тола сифати юқори бўлмаган маҳаллий АнБ-2 ғўза навини танлаб олиб, ўзаро чатиштирди. Улардан олинган икки хил F_1 (АнБ-2хКК-1795) ва F_1 (АнБ-2хЛ-141) дурагайлари бири бири билан чатиштирилиши орқали икки хил қимматли ххўжалик белгиларга эга бўлган мураккаб $F_1[F_1(АнБ-2 \times КК-1795) \times F_1(АнБ-2 \times Л-141)]$ дурагайларни олди ва уларни ретсипиент ўсимлик (АнБ-2) билан бекросс қилиниб 96 та BC_1F_1 ўсимликларини олган. Ниҳоллардан геном ДНК лари ажратиб, толанинг микронейр ва пишиқлиги белгиларига генетик боғланган ДНК маркерлари (НАУ2277, БНЛ1604) билан ПЗР усули ёрдамида таҳлил қилинди. ПЗР таҳлиliga кўра ўсимликларининг 20 таси (21%) ҳам тола микронейри ҳам тола пишиқлиги аллелларини тутган бўлса, 44 та (46%) ўсимликларда эса икки аллелдан бирининг мавжуд эканлиги маълум бўлди. Қолган 32 та (33%)ўсимликларда мазкур белгилар бўйича ҳеч қандай аллелларга эга бўлмаганлиги ва 100 % ретсипиент АнБ-2 ғўза нави билан ўхшаш эканлигини аниқлаган. [13].

Махкамов А. Х. ва бошқалар ғўзада тола пишиқлиги ва элонгатсия кўрсаткичини ошириш мақсадида МАС тенологиясининг пирамидалаш усулидан фойдаланиб мураккаб дурагайлаш йўли орқали F_1 (Андижон-35хЛ-141)х F_1 (Андижон-35хСаенр пена-85) авлодларини олди ва донор линияларга хос бўлган тола сифатларининг маркер белгиларидан ташқари бошқа салбий белгилардан холи бўлиш мақсадида Андижон-35 нави билан беккросс ишларини олиб борди. Олинган BC_1F_1 дурагайларнинг ниҳоллик даврида ажратиб олинган геном ДНКлари ўрганилаётган тола пишиқлиги ва элонгатсия белгиларига генетик боғланган БНЛ1604 ҳамда БНЛ3545 маркерлари билан ПЗР усули ёрдамида скрининг қилди. Олинган талил натижалари кўра 135 та дурагайдан 38 таси ижобий натижага эга бўлган. Тола сифат кўрсаткичлари ретсипиент Андижон-35 навининг тола пишиқлиги ўртача 32.1гр/текс ва элонгатсия 8.1%, донор Л-141 линияда тола пишиқлиги 39.3гр/текс, элонгатсия 8.6% ҳамда Саенр пена-85 донор линияда

тола пишиқлиги ўртача 28.4гр/текс, элонгатсияси 10.9% га тенг бўлганда 38 та BC2F1 ўсимликларида эса ўртача тола пишиқлиги 32.9гр/текс (мак./мин. 36.2-28.3гр/текс) ва элонгатсияси 9.2%га (мак./мин. 10.5-6.6%) тенг бўлган. [14].

Тола сифати юқори, серҳосил, қурғоқчиликка, турли хил касалликларга ва ташқи муҳитнинг ноқулай шароитларига чидамли бўлган ғўзанинг янги навларини яратиш бугунги кунда долзарб ҳисобланади. Замонавий молекуляр маркерлар технологияси амалий ўсимликлар селекциясида муҳим агрономик белгилар билан алоқадор бўлган миқдорий белгилар локусларини (QTL) карталаштириш, генетик ўзгарувчанликни аниқлаш, тавсифлаш ва манипуляция қилишни осонлаштиргани орқали ўзининг фойдали эканлигини кўрсатди. Ўтган йиллар давомида бир неча хил янги авлод молекуляр маркерларни яратилиши, ўсимликлар геномини кенг қамраб олган генетик бириккан ҳарталарни тузишга олиб келди. Бу генетик ҳариталар селекционерларга хўжалик учун қимматли бўлган белгиларга генетик боғланган маркерларни аниқлаш ва уларни маркерларга асосланган селекция (МАС) дастурида фойдаланиш имкониятини яратди. Ғўза селекциясида молекуляр маркерлардан фойдаланишнинг асосий сабабларидан бири уларнинг 100% ирсийланиши ва иқтисодий тежамкорлигидадир. Шунинг учун ғўза гермплазмасидан фойдаланиб ирсийланиши паст бўлган белгиларни танлаш, мураккаб бўлган тола ҳосилдорлиги ва сифат белгиларини аниқлаш ҳамда уларни МАС дастури орқали элита навларга интрогрессия қилишда молекуляр маркерлар кенг қўлланилмоқда. ДНК маркерларидан фойдаланиб қимматли хўжалик белгиларга алоқадор QTL локусларини аниқлаш ўсимликлар селекциясида полиген хусусиятга эга бўлган мураккаб белгиларни тавсифлашга катта ҳисса қўшади. Ўтган асрдан тўплаб, ривожлантириб ва сақлаб келинаётган Ўзбекистон ғўза гермплазмаси 43 авлодга мансуб А-геномдан К-геномгача бўлган ғўзанинг 17000 генетик хилма-хил намуналарига эга бўлиб, улардаги 335 та ғўзанинг нав ва нав

намуналарини иқлими жиҳатдан бир-биридан кескин фарқ қилувчи Ўзбекистон ва Мексика шароитида ўстириб 202 та SSR (Simple Sequence Repeat-оддий такрорланувчи кетма-кетликлар) праймерлари ёрдамида тадқиқ қилиши натижасида тола сифат белгиларига (микронеёр, тола узунлиги, пишиқлиги ва элонгация) генетик боғланган бир нечта ДНК маркерлари аниқланди. Ўзида толанинг сифат белгиларига (микронеёр, тола пишиқлиги, узунлиги ва элонгация) генетик боғланган ДНК маркерларини тутган линиялар юртимизда ДНК маркерларига асосланган селекция дастурини бошлашга замин яратди. Бундай донор линиялар ва ДНК маркерларидан фойдаланиб икки ва ундан ортиқ толанинг сифат белгиларини бир маҳаллий навга жамлашни генларни пирамидалаш деб номланиб, бундай усуллар МАС тадқиқотининг асосий тажрибаларидан бири қилиб белгиланди [3].

Мамлакатимиз олимлари томонидан ғўза генетикаси ва селекцияси соҳасида ҳосилдор, касалликларга чидамли ва тола сифат кўрсаткичлари юқори бўлган навларни яратиш борасида бир қанча илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Дунёда биринчилардан бўлиб Абдурахмонов ва бошқа., томонидан *G. hirsutum* турига мансуб қишлоқ хўжалик учун зарур ҳисобланган қимматли хўжалик белгиларни ўзида мужассам этган ғўза гермоплазмасидан фойдаланиб ғўзада “нотенг бирикканлик” усулини қўллаш билан тола сифати белгилари билан бириккан ДНК маркерлари идентификация қилинган ва бунинг натижасида ғўза геноми нотенг бирикканлик локуслари даражасини аниқлашга эришилган. Шунингдек, ушбу тадқиқотлар асосида *G. hirsutum* L. тури генетик коллекцияси асосида амалий селекция учун зарур бўлган юқори кўрсаткичли қимматли-хўжалик белгиларга эга бўлган 20 тага яқин донор линиялар ажратиб олинган. Ушбу линиялардаги юқори кўрсаткичли қимматли-хўжалик белгиларни (жумладан микронеёр, тола узунлиги, пишиқлиги, элонгацияси) идентификация қилинган ДНК ва ген-специфик маркерлар ёрдамида ғўзанинг янги истиқболли навларини яратишда Маркерларга

асосланган селекция (МАС) усули билан селекция жараёнига жалб қилиш имконияти яратилган. Реципиент генотип сифатида эса мамлакатимизда яратилган ва республика ёўза майдонларида экиб келинаётган 11 та нав танлаб олинган. Танлаб олинган реципиент навларнинг қимматли-хўжалик белгилари донор генотипларникига нисбатан паст бўлганлиги сабабли ушбу навларни яхшилаш учун 20 тага яқин комбинацияда чатиштириш ишлари олиб борилган. Олинган дурагай авлод ўсимликлари донор генотипларнинг яроқсиз белгиларини йўқотиш ва реципиент генотипларнинг қолган геномини тиклаш мақсадида ҳар йили реципиент ўсимлик билан бекросс (қайта) чатиштириш ишлари олиб борилган. Бунда, ҳар бир авлод ўсимликлари ҳар қайси белги учун тегишли бўлган ДНК маркерлар ёрдамида текшириб селекция қилиш асосида кейинги авлод дурагай ўсимлигини олиш учун танлаб олинган. Яъни, ҳар бир бекросс авлод ўсимликларидан ва ота-она линияларидан ниҳол давридаёқ лаборатория тадқиқотлари учун барглар намуналари йиғиб олинган ва намуналардан геном ДНКси ажратилиб ПЗР (Полимераза занжир реакцияси) усули ёрдамида тегишли ДНК маркерлар билан текшириб чиқилган. Танланган маркерлар бўйича ўзида донор локусларини тутган дурагай ўсимликлар қолдирилиб қолганлари юлиб ташланган. Бундан ташқари вегетация даврида ҳар бир индивиднинг морфо-биологик белгилари ҳам қайд этиб борилган. Ҳар бир ўсимликдан алоҳида-алоҳида териб олинган ҳосилнинг тола сифати кўрсаткичларини аниқлаш учун “СИФАТ” марказида таҳлил қилинган. Учинчи-тўртинчи авлод бекросс дурагайлари таҳлили қилинганда барча комбинациялардаги дурагайларнинг тола сифат натижалари анча юқори кўрсаткичларни намоён этган. Масалан, Андижон 35 навининг тола пишиқлиги 32,1 гк/тексни ташкил этган бўлса бекросс дурагайларида бу кўрсаткич ўртача 37,1 гк/текс ташкил этган. Бу эса донордаги тола пишиқлиги билан боғлиқ маркер локуснинг дурагайларга ўтганлигидан далолат беради. Натижалар асосида ушбу тола сифат кўрсаткичлари энг яхши деб топилган дурагайлари индивидуал танлаб олинган. Шундай қилиб

мамлакатимиз ғўза селекциясига илк бор МАС усули жорий қилиниб молекуляр ва якка танлов асосида Равнақ-1 ҳамда Равнақ-2 навлари яратилган ва ҳозирда бу икки нав давлат нав синаш комиссиясига топширилган. Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, замонавий МАС дастури бўйича бу ишни амалга ошириш ҳам иқтисодий, ҳам кам вақт талаб қилиши жиҳатидан бошқа усуллардан самаралироқдир.

II -БОБ.ТАДҚИҚОТ ОБЪЕКТЛАРИ ВА УСЛУБЛАРИ.

2.1. Реактивлар

Тадқиқот ишларида Sigma (АҚШ) фирмасидан келтирилган қуйидаги реактивлар ишлатилди: агароза, бор кислотаси, этидиум бромид, кўк рангли бромфенол, буқа зардоби албумини (БЗА), додецилсульфат натрий (ДСН), изоамил спирти, рестриктазалар, РНКаза, хлороформ, ЭДТА, этил спирти, трис, Тақ-полимераза, dNTPs, магний хлориди, натрий хлориди.

2.2. Ускуналар

Диссертация ишида қуйидаги лаборатория асбоб ва ускуналаридан фойдаланилди:

1. ПЦР-амплификатор (Applied Biosystems, США)
2. Дозаторлар (Pipetman, США)
3. Центрифуга (Eppendorf, Германия)
4. Термостатли сув ҳамоми (LKB, Швеция)
5. Вортекс (Genie Scientific Industries, Inc., США)
6. Автоблот (Bellco Glass, Inc., США)

7. Горизонтал електрофорез ускунаси (Stratagene, США)
8. Вертикал електрофорез ускунаси (CBS Scientific, США)
9. Термостатли миксер (Eppendorf, Германия)
10. Концентратор (Eppendorf, Германия)
11. Термостат (Heraeus, Германия)
12. Микротўлқинли печь (Ferette, Италия)
13. Тарозилар (Sartorius, США)
14. Суръат шаклида хужжатлаштирувчи ускуна Alpha Imager 3400 (Alpha Innotech Inc., США)

2.3. Ўсимлик материаллари

Мазкур тадқиқотнинг тажриба материаллари учун ингичка толали ғўзанинг Аш-143Б (*G.barbadense* L.) ва ўрта толали ғўзанинг All-in-one (*G.hirsutum* L.) линиялари танлаб олинди. Тадқиқот давомида ғўзанинг Аш-143Б ва All-in-one линиялари ўртасида турлараро чатиштириш натижасида олинган F₂ авлодни 108 та индивид дурагай ўсимликларидан фойдаланилди. Ингичка толали Аш-143Б (*G.barbadense* L.) ғўза линияси Туркменистонда яратилган бўлиб, ўзининг юқори тола сифат белгилари билан ажралиб туради ва тола узунлиги 44,0 мм ни ташкил этади. Ғўзанинг ўрта толали All-in-one (*G.hirsutum* L.) линияси эса АҚШда яратилган ва тола узунлиги 24 мм бўлиб, Аш-143Б линиясидан сезиларли даражада паст ҳисобланади.

2.4. Ўсимлик тўқимасидан геном ДНКсини ажратиш.

Биологик тирик ашёлардан ДНК ажратишнинг бир неча усуллари мавжуд бўлиб улар қуйидагилардир:

1. Фенол-хлороформ усули. Бу эски бироқ, фойдали усул ҳисобланади. Ёмон томони фойдаланиладиган реагентлар инсон саломатлиги учун анчагина хавфли ҳисобланиб ПЗР реакцияси ва секвенс (ДНК кетма-кетлигини ўқиш) учун ДНК сифати бирмунча яроқсиз.

2. СТАВ усули. Бу усулни қўллаб ўсимлик тўқимасидан геном ДНКси ажратиш анчагина самарали ва сифатлидир. Барча ўсимлик турларидан ДНК

ларини ажратиш мумкин. Ишлатилаётган реагентлар инсон саломатлиги учун хавфсиз ва бошқа усулларга қараганда арзон. Ёмон томони вақт кўп талаб қилади.

3. КИТ (наборлардан фойдаланиб ажратиш) усули. Бу усул қолган усулларга қараганда бир неча босқичлар реагентларнинг бир-бирига мос равишда қўшилиши ҳисобига қисқартирилган. Яхши томони ДНК сифатли ва жуда тез ажратилади. Ёмон томони жуда қиммат.

Биз тадқиқот ишида ғўзани ёш баргидан геном ДНК сини ажратиш учун анча фойдали ва оммавий бўлган СТАВ усулидан фойдаландик. Қуйида ўсимликлар тўқималаридан геном ДНК ажратишнинг СТАВ усули батафсил келтирилган:

ДНК ажратиш учун тўқима танлаш.

Нуклеин кислотаси ҳар бир хужайрада мавжуд бўлиб, ДНКни хоҳлаган тўқимадан яни хужайралар кам бўлган жойлардан хатто хайвон суяклари, балиқ тангачалари ёки дарахт пўстлоқларидан ажратиш мумкин. Ҳар бир хайвон ёки ўсимлик организм тўқималарида ДНК бир ҳилда бўлади. Базиларида насил қолдириш хусусияти мавжуд бўлиб, бошқаларида эса суякли тўқимага ўхшаб ДНК миқдори кам. Бундан ташқари шундай тўқималар мавжудки, хужайраларида иккиланган хромосомалар бўлади, шу сабабли ДНК миқдори бошқа хужайраларга нисбатан икки баравар кўп бўлади. ДНК миқдори ёғочлашган даратхга нисбатан унинг ёш новдаларида, баргида ва ўсимлик уруғларида кўп бўлади. Агар тадқиқотчи олдига бирор-бир маҳсус вазифа қўйилмаган бўлса, у ҳолда ўзи учун шундай тўқима олиши керакки ўша хужайралари кам ва хужайрани ўзи кўп бўладиганларини, иложи борича тўқимадан осон ажраладиган, хужайралар эса оқсиллар (мушкул хужайралар), липидлар (ёғ хужайралар) ёки полисахаридлар (мия хужайралари) билан тўйинмаган бўлиши керак.

Тўқималарни хужайрага майдалаш.

Ажратиб олиниши керак бўлган ДНК тўқимасини хужайраларга майдалаш учун уни фарфор идишга солинади ва устига -80°C суяқ азот

кўйилиб уни чинни таёқ билан майдаланади. Механик ажратганда тўқима суёқ азот тасирида бошқа-бошқа хужайраларга ажралади. Натижада бир-бирига боғланишни механик ажратиш учун камроқ куч талаб этилади ва хужайралар кам жарохатланади. Юқоридаги усул учун жарохатланмаган хужайралар керак бўлади, яхшиси янги музлатилган тўқималар бўлгани мақул, фақат сақлаш даврида муздан эритилмаган бўлиши керак.

Йирик молекулалар ажралиши.

Азот тасирида бир-бирдан ажралган хужайралар мембранаси ва унинг органоидларини филтрлаш орқали ажратиб ташланади. Ҳосил бўлган хужайраларни биринчи навбатда лизирловчи буффер орқали қайта ишланади. Хужайра мембрана қобиғи ва унинг ядросини эритиш учун 65°C ҳароратда 45 дақиқа давомида 2х СТАБ буферида инкубатсия қилинади. Натижада хужайранинг барча органоидлари ташқарига чиқади ва аралашма ёпишқоқ, чўзилувчан, хужайранинг олдинги суёқлигига нисбатан анча шаффоф бўлади. Аралашманинг бундай ўзгариши лизис мувоффақиятли ўтганидан даракдир.

Оқсиллардан тозалаш.

ДНК ни оқсиллардан тозалаш учун пробиркага лизатом билан хлороформум изоамиловий спирт аралашмаси қўшилади. Бизга малумки ДНК билан оқсиллар бир-бирига жуда мустаҳкам боғланган. Оқсилларни аралашмадан олиб ташлашнинг бир неча этаплари мавжуд. Мисол учун ундан энг осони денатуратсия ва чўкма устига тузли аралашма қўшиш. Бизнинг шароитда ўсимлик ДНК сини оқсилардан ҳоли қилиш учун бир неча дақиқа пробиркаларни центрифуга қилинади. Бундан сўнг ҳамма ёки катта-кичик хужайра бўлаклари, парчаланган оқсиллар ва боша моддалар чўкма бўлиб пробирка тубига тушади. Таркибида асосан нуклеин кислоталар-ДНК ва РНК бўлган пробирканинг устки қатламидаги суёқлик (супернатант) ни бошқа пробиркага олиш керак. Лаборотория шароитида аралашмадаги керакмас қисмлар фенол хлороформ билан олиб ташланади. Органик аралашма оқсилни ўзига бириктириб олади кейин центрифугадан олдин оғир

сувли аралашма қисми суюқликни марказида қолади. Центрифугадан кейин хлороформ билан эриган оксил пробирка тубида, ДНКли сувли қисми юқорида жойлашган бўлади. Юқоридаги суюқлик (супернатант) ни бошқа пробиркага олинадиган ва устига суюқликдаги ДНК ни ивиши учун СТАБ пресипитацион буферидан қўшамиз ва $+65^{\circ}\text{C}$ ҳароратли сув ҳаммомида малум соат сақланади.

ДНК ни РНК дан тозалаш.

Бундан кейинги жараёнда супернатант таркибидаги суюқликни центрифугалаш йўли билан олиб ташланади. Кейин пробирка тубида тоза чўкма оламиз ва унга РНКазани қўшилган юқори тузли буфер билан қайта ишлаймиз. Бу босқич маллекуляр генетикада жуда ҳам зарур. Супернатант таркибидаги ДНК етарлича РНК лардан ҳоли бўлиши шарт.

ДНК ни чўктириш.

Пробиркадаги суюқлик устига 96% этанол ёки изопропанол қўшилади ва бу ҳолда ДНК кристал ҳолатига ўтади. Шу сабабли изопропанол қўшилган ДНКли суюқлик секин асталик билан -20°C ли музлаткичга малум соатга қўйилади. Бундай шароитда ДНК ни ажралиб чиқиши анча тезлашади. Музлаткичдан сўнг ДНКни центрифугада чўктириб оламиз. Пробиркани юқори қисмида ҳосил бўлган суюқликни олиб ташланади ва кейинги жараёнга ўтилади.

ДНК ни тузлардан тозалаш ва эритиш.

ДНК ни ҳар қил тузлардан тозалаш учун уни 70% ли спирт билан икки марта ювилади. Тузлардан тозаланган ДНК яшилаб қуритилади. Қуритилган ДНК ҳеч қандай сувда эритилмайди чунки сув таркибида нуклеазалар бўлиши мумкин. Бу ферментлар ДНК ни жароҳатлаб парчалаб юбориши мумкин. ДНК ни ТЕ буферда эритилади. Бундай РНК ва ҳар қил тузлардан тозаланган ДНК ни клонлаш, ПЗР ва боша мақсадларда ишлатиш мумкин.

1. Суюқ азот ёрдамида 0,2 г музлатилган ўсимлик намуналари барглари стирил фарфор идишларда гомоген ҳолатига келгунга қадар майдаланади.
2. Гомогенат устига 65°C қиздирилган ҳолдаги 2хСТАБ (100мМ Трис, 20мМ ЕДТА, 2% СТАБ, п 8.0) буферидан 2 мл қўшиб ва стирил шпател билан аралаштирилади.
3. Гомоген суспензиядан 700 мкл олиниб 2 мл ҳажмли Эппендорф стерил пробиркаларга солиб чиқилади ва яхшилаб аралаштирилади.
4. Гомогенат солинган пробиркаларни 60 дақиқа давомида 65°C иситилган сувли ҳамомда (Термостатис Сирсулатор 2219 Мултитемп ИИ, ЛКБ Бромма, Сведен), ҳар 5 дақиқада аралаштириб турган ҳолда инкубация қилинади.
5. Сўнгра ҳар бир пробиркага тенг ҳажмда (700 мкл) 24:1 нисбатдаги хлороформ/изомил спирт солиб чиқилади.
6. Пробиркалар қопоқлари яхшилаб ёпилиб вортекс ускунаси ёрдамида 5 дақиқа аралаштирилади ва 10000 мартта/да. тезлигида 5 дақиқага центрифугаланади (Эппендорф 5417С, АҚШ).
7. Пробиркаларнинг тепа қисмида ҳосил бўлган сувли қисми (супернатант) дан 600 мкл олиб янги 2 мл стерил пробиркага ўтказилади.
8. Ҳар бир супернатантнинг устига 0.1 ҳажмли (60 мкл) 65°C автоблотда иситилган 10хСТАБ/NaCl (0.7М NaCl, 10% СТАБ) буфери солиниб 5 дақиқа давомида термомиксерда яхшилаб аралаштирилади.
9. Яна бир бор ҳар бир пробиркага тенг ҳажмда (660мкл) 24:1 нисбатдаги хлороформ/изомил спирт солиб чиқилади ва яхшилаб аралаштирилади (Мини Вортехер ВМ-3000 945 301).
10. Сўнгра пробалар 10000 мартта/да. тезликда 5 дақиқа центрифугаланади.

11. Пробиркаларнинг тепа қисмида ҳосил бўлган сувли қисми (супернатант) дан 500 мкл олиб янги 2 мл стерил пробиркага ўтказилади.
12. Ҳар бир пробага 1:1 ҳажмда (500 мкл) СТАБ пресипитатион (50мМ Трис, 10мМ ЕДТА, 1% СТАБ, п 8.0) буферидан солиб яхшилаб аралаштирилади ва 65°C иситилган сувли ҳамомда 30 дақиқа давомида инкубация қилинади.
13. Инкубациядан сўнг 14000 мартта/да. тезлигида 15 дақиқа центрифугаланади ҳамда сувли қисми (супернатант) тўкиб ташланади.
14. ДНК чўкмасига эса 500 мкл юқори тузли ТЕ (1М /NaCl 10мМ Трис, 0.1М ЕДТА, п8.0) буферидан солиб чиқилади.
15. Пробалар чўкма эриб кетгунга қадар аралаштирилади ва аралашма устига 0.6 ҳажм изопропанол (Исопропанол; 2-пропанол) спиртидан қўшилиб 1-2 дақиқа аралаштирилади (Термомихер 5433, Еппендорф, АҚШ) ва 1 соатга -20°C ҳар оратли (Соол-Лаб Фреезер, ЛАБ-ЛИНЕ Инструментс Инс., АҚШ) музлаткичга қўйилади.
16. Сўнгра 15 дақиқа 14000 мартта/да. тезлигида центрифугаланади ва сувли қисми тўкиб ташланади.
17. ДНК чўкмасини 2 мартта 1 мл 70% этил спиртида тозалаб олинади. Ҳар сафар тозаланганда 14000 мартта/да. тезлигида 5 дақиқа центрифугаланади ва чўкма чўктириб олинади ва спирт тўкиб ташланади.
18. Чўкма вакум концентратор (Сонцентратор 5301, Еппендорф, АҚШ) да 45°C ҳар оратда қурилади ва қуриган ДНК чўкмаси 200 мкл ТЕ (10мМ Трис п 8.0, 1мМ ЕДТА п 8.0) буферда эритилади.
Ҳар бир намунадан ажратиб олинган геном ДНКлари 0,9% ли агароза гелида электрофорез қилинди ва уларнинг концентрацияси визуал тарзда аниқ концентрацияли λ фаг ДНКсига таққосланиб аниқланди. Уларнинг

концентрацияси ишчи концентрацияга (25 нг./мкл) олиб келинди ва музлатилган ҳолда -20°C ҳароратли музлатгичда сақланди.

2.5.Электрофорез усули ёрдамида ДНК ва ПЗР масулотларини текшириш.

Электрофорез усули жараёни. Билогик йирик молекулалар – булар оқсил, нуклеин кислота, полисахаридларнинг суёқликдаги зарра кўринишида бўлиб, улар ўзининг шакли жиҳатидан коллоид зарраларига мос бўлади. Уларда электролитик ажралиш хусусиятига эга бўлган гурупалар мавжудлиги сабабли улар маълум электр зарядига эга. Нуклеин кислотаси шаклида уларнинг зарядлари фосфор гуруҳларининг ажралиши (диссоцияланиш) ҳисобига бўлади. Шунинг учун ДНК нейтрал ва ишқорий муҳитда манфий зарядга эга бўлади.

Зарядланган зарралар электр майдон таъсирида катод ёки анод билан аралашishi, жами зарядланган зарраларнинг қандай белгили (+,-) зарядланганлигига боғлиқ бўлади. Бу ходиса электрофорез деб номланади. Зарраларнинг ҳаракатланиш тезлигига (см/с), 1в/см электр майдони таъсири натижасида гелда ДНК/РНКларнинг ҳаракатланиш юзага келади. Унинг ўлчами 2 см с-1 в-1 бўлади, а белгиси жами зарядланган зарраларнинг белгиси билан мос бўлади. Зарраларнинг ҳаракатидаги фарқ аналитик ёки препаратив мақсадлардаги қоришма моддаларининг бўлинишига ҳизмат қилади. Электрофорез ҳаракатланишни аниқлаш шунингдек моддаларнинг характеристикасини аниқлашда ҳам фойдаланилади. Электрофорез вақтида, анализ қилинаётган зарралар ҳаракат тезлиги, бўёвчи моддани силжишини кузатиш йўли билан аниқланади.

Ҳар қил турдаги электрофорез асбоблари 2 та электрон идиш ва асосини таминлаб турувчи асбоб (қоғоз, крахмал, агароза ва акриламид гел) имкон қадар икки идиш орасида бўлиши керак. Одатда электродлар сифатида пластина симлардан фойдаланилади.

Агароза гелидаги ДНК электрофорези. Агароза гелидаги ДНК электрофорези ДНК қисмларини тозалаш ва индентификациялаш,

бўлинишида ишлатиладиган стандарт усулдир. Сотувда мавжуд бўлган агар моддасини турли сув ўтларидаги хужайра мембранасидан ажратилади. Уни таркибида 2та полисахарид яни агароза ва агропектин мавжуд. Бу полисахаридларни бир биридан ацитирлаш орқали осон ажратиш мумкин. Агароза сувда қайнатилиши ёки микротўлқинли печда қиздирилишида суёқ аралашмада эрийди ва у суёқликнинг ҳарорати 40°C гача тушганда ҳам суёқ ҳолатда бўлади. Шундан сўнг тез суратда қуюқлашади ва у 38°C ҳароратга тушганда қотади. Шундан сўнг агароза гелини яна қиздириш орқали эритиш мумкин. Агароза гели механик бақувват, арзон, таксик бўлмаган модда. Агароза гели ҳар хил ўлчамдаги ғовакликлардан иборат бўлиб, уларнинг ўртача радиуси гелнинг концентратсиясига боғлиқ. ДНК ва РНК бўлинишида агароза гели молекуляр элак вазифасини ўтайди. У текширилаётган полинуклеотидларни ажралишида нафақат уларнинг оғирлигини балки полинуклеотид молекула ҳолати 1 ёки 2 занжирдан тузилганлиги, ДНК молекуласининг тўғри ёки ҳалқали шаклда эканлигини аниқлашда ёрдам беради. Гелда ДНК ни бўлиниш ҳолатини тўғридан-тўғри кузатиш мумкин. Бунинг учун гелда ДНК чизикларини кўриш учун паст концентрацияли этидиум бромид моддаси билан бўялади. Ҳозирги кунда агароза гели кўпинча горизантал кўринишида ишлатилади. Бу усулнинг 4 та қулайлиги мавжуд.

1 Агароза гелини паст концентрацияларини ишлатса бўлади. Чунки барча гел тагида таянч бўлади.

2 Гелни турли ўлчамдаги шакилда тайёрлаш мумкин.

3 Гелни ишлатиш ва сақлаш осон.

4 Гел электрофорезни қиммат бўлмаган қўлбола қурилмаларда ҳам ишлатса бўлади.

ДНК ни горизантал агароза гели пластинкаларида электрофорез қилиш усули молекуляр генетикада ва биокимёда кўп ишлатилади. Чунки бу усулдаги реагентларни топиш қулай, усулнинг оддийлиги ва қурилмаларнинг арзонлиги жуда кам мидордаги тозаланмаган ашёдан етарлича маълумот

олиш мумкин. Агароза гелидаги электрофорезда ДНК нинг кўчиш тезлиги куйдаги параметрларга боғлиқ.

а) ДНК молекуласи ўлчами. Кўш занжирли ДНК ни тезлиги унинг молекуляр оғирлиги логарифмига тескари пропорционал.

б) Агароза концентрацияси ДНК бўлакларининг катталигига қараб ҳар хил концентрациядаги гелларни ажратиш мумкин.

2.5.1. жадвал

Агароза миқдори	ДНК бўлинишини % даги эффективлиги, кб
0.6	20-1
0.7	10-0.8
0.9	7-0.5
1.5	4-0.2
2	3-0.1

в) электр майдоннинг кучланиши. Паст кучланиш ДНК қисимлари тезлигига қўйилаётган қувватга тўғри пропорционал. Лекин кучланиш кўпайтирилгани сайин электр майдонда ДНК таркибидаги оғирлиги катта қисмлар ҳаракатланиши дифференциал ошади ва агароза гелидаги ДНК бўлиниш фойдалилиги камаяди. 6 в/см кучланишда ДНК қисмлар ажралиши яхшироқ бўлади.

г) Ҳарорат. Одатда электрофорез хона ҳароратида ишлатилади, лекин 0.5% ли агароза гелида 4°C ҳароратда ишлаган маъқул.

Агароза гелини тайёрлаш.

1) 0.9 % ли агароза гелини тайёрлаш учун 0.9 грамм агароза кукуни 100 мл ўлчанган 0.5×ТВЕ буфериде эритилади.

2) Қоришмани микротўлқинли печда агароза эригунча қиздирилади.

3) Эриган эритмани 50°C ҳароратгача совитилади ва 5мкл этидиум бромид қўшилади. Электрофорез жараёнида этидиум бромид мавжудлиги учун кўш занжирли ДНК ҳаракатчанлиги 15 % камаяди, лекин бу жараённи

ўша вақтда ёки ажралиш тугаганда УБ (ультра бинафша) нурларида кўриш имкониятини беради.

ДНК ни этидиум бромидсиз электрофорез қилиш керак бўлса уни гелга олдиндан кўшилмайди. Бундай ҳолда ДНК ажралиши тугагандан кейин агароза гели пластинкасини этидиум бромидли сувга солиб бўяб олинади.

4. Агарозали илиқ эритмани иқтисослашган кўлбола ёки маҳсус шаклли идишларга қуйилади ва идишнинг юқори томонидан бошлаб уячалар ҳосил қилувчи маҳсус тароқ ускунаси гелга киритилади. Гел қотгандан сўнг тароқча олиб ташланади ва унинг ўрнида тешикчалар ҳосил бўлади. Кейинчалик шу тешикчаларга текширилаётган ДНК лар қуйилади. Тешикчаларнинг тубида 0.5-1 мм қалинликдаги агороза гели қолиши керак.

5. Гел буткул қотиши учун уни хона ҳароратида 20-30 дақиқа қолдирилади, сўнгра гел электрофорез камерасига солинади.

6. Электрофорез камерасига керакли миқдорда электрофорез буфтери қуйилади, буфтерни шундай қуйиш керакки гел юзаси 1 мм қалинликдаги буфтер билан қопланиши керак. Электрофорез учун одатда 50 Мм п- 7.5-7.8 концентрацияли муҳитга эга, таркибида трис ацетат, трис барат, трис фосфат мавжуд бўлган буфтердан фойдаланилади. Одатда уларни 5х-10х марта суюлтирилган кўринишида тайёрланади ва хона ҳароратида сақланади.

Бу тадқиқот ишида электрофорез жараёнини трис барат ЕДТА (ТБЕ) таркибли буфтеридан фойдаланилади. У катта буфтер сиғимига эга ва у ДНК қисмларини яхши ажралишини таминлайди. 5х мартта суюлтирилган 1 л ТБЕ тайёрлаш учун 54гр трис, 27.5 бор кислота, 20 мл 0.5 М ЕДТА керак.

7. ДНК ни ажралишини гелда кузатиш учун ДНКни гелга қуйишдан олдин уни ранг берувчи бром фенол кўки ёки кистосинол билан аралаштирилади. Унга уч юқори концентрацияли моддалардан глицирин, сахароза ёки фикол кўшилган бўлади. Буни электрофорез жараёнида гелга ДНК ни киритганда уни гелда қуйиқлигини ошириш мақсадида қилинади. Аралашма (ДНК + бром фенол кўки) асталик билан микро пипетман

ёрдамида гел чуқурчасига қуйилади. Юқоридаги барча ишлар бажарилгандан кейин электрофорез камерасини доимий ток манбаига уланади. ДНК молекуласи (-) зарядга эга эканлиги учун анод томонга юради.

Одатда буффер 6-10х мартта суюлтирилган шаклида бўлади. Тадқиқот ишида бром фенол кўкини ДНК билан аралаштириш учун қуйдаги таркибли буффер ишлатилди. 0.25% бром фенол кўки, 0.25% ксилолтсионол, 30% глитсерин ва H_2O . Бу тайёр буферни биз одатда 5мкл ДНК га 1мкл буффер кўшилди. Гел чуқурчаларига бир хил мидорда тушмаган ёки катта мидорда киритилган ДНК электрофорез жараёнида кучланишни камайтиради, натижада ҳосил бўлган ДНК чизигини нотекис кўринишда бўлади. Гел чуқурчасига максимал 5-10 мкл ДНК 200-500 нг бўлиши мумкин.

8. ДНК электрофорез жараёни давомийлиги турлича бўлади. Уни давомийлиги бромфенол кўки агароза гелида уни охириги томонига боргунча давом этади. Буни вақт билан ўлчаганда 30-40 дақиқа бўлиши мумкин.

9. Агароза гели пластинкасини электрофорез камерасидан олинадиган ва УФ нурлари остида кўриб чиқилади. Баъзида ДНК ни концентрацияси жуда камлиги туфайли у гелда хира кўриниши мумкин. Бундай ҳолатларда гелни такроран хона ҳароратида этидиум бромидли сувда 2-3 дақиқа қолдирамиз. Агароза гелида ДНК ни кузатишни қулай усули уни этидиум бромид билан бўяшдир. Этидиум бромиднинг молекуласи ДНК асосидаги бирикмалар орасида ясси гуруҳ ҳосил қилади. Бунинг натижасида ДНК билан боғланган ранг берувчи УВ нурларининг 590 нм спектри таъсирида қизғиш рангда кўринади. Тадқиқот ишида ДНК ни кўришда Alpha Imager T^M 3400 курилмасидан фойдаланилди.

Электрофорезда керак бўладиган буфер ва геллар, уларнинг тайёрланиши ва таркиби.

10x ТБЕ 1литр

800 мл D_2O
121 г Трис (Тризма) Басе

55 г Борис Асид

0.5xТБЕ 1литр

50мл 10X ТБЕ
1л га етгунча DH_2O

кўшилади.

7.44 г ЕДТА
30 дақиқа аралаштирилади.

10ХБўёвчи Кўк Бромфенол

0.42%	Бромфенол кўк	20мг Бромфенол кўк
49.9%	Глитсирин эритмаси	5мл Глитсирин
		5мл д ₂ О

Геллер.

0.9% Агароза - 200мл

1.8 гр	Агароза
200 мл	0.5X ТБЕ
8-10 μл	ЭБ

3.5% Агароза - 200мл

7 гр	Агароза
200 мл	0.5X ТБЕ
8-10 μл	ЭБ

2.6. Полимераза занжирли реакцияси

Ҳар бир намунадан ажратиб олинган геном ДНК лари 0.9% агороза гелида электрофорез усули ёрдамида текшириб олингандан сўнг, полимераза занжир реакцияси қўйилади. Полимераза занжирли реакцияси (ПЗР) биринчи марта 1983-йилда К. Мюлес мақолаларида ёзилган бўлиб, ДНК молекуласининг у ёки бу бўлақларини уларга комплиментар бўлган 21-24 та нуклеотид узунлигидан иборат бўлган олиго нуклеотид (праймер) ёрдамида кўпайтириш (амплификация) га хизмат қилади.

Генотиплаш учун микросателлит маркерлар библиотекасидан ҳамда ғўза генетик хариталаридан фойдаланиб 100 яқин SSR (10 JESPR SSR, 25 TMB SSR, 15 GH SSR, 20 BNL SSR, 10 CIR SSR, 15 NAU SSR) маркерлари ишлатилди. SSR праймер жуфтлари International DNA Technologies (IDT, АҚШ) фирмасидан олинган.

ПЗР реакцияси (хот-старт дастури) 10 мкл хажмда қуйдаги тартибда амалга оширилади:

10 x ПЗР буфер (магний хлоридли)	1 мкл
БЗА	0.2 мкл
25 мМ дНТФ аралашмаси	0.1 мкл

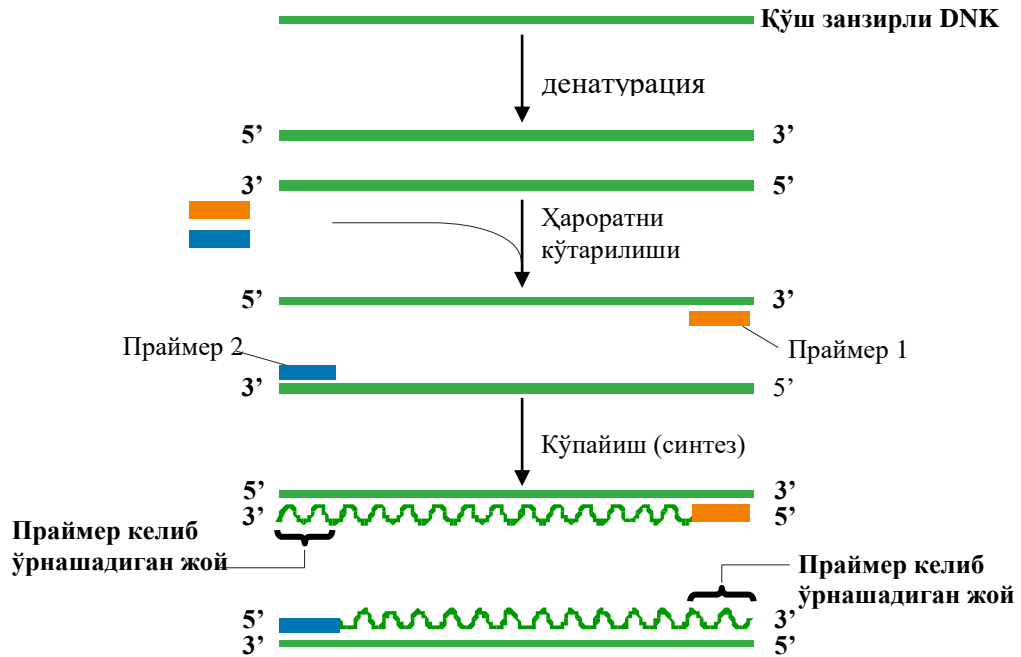
Тўғри йўналтирилган праймер	0.5 мкл
Тескари йўналтирилган праймер	0.5 мкл
Так полимераза -5 бирл./мкл	0.2 мкл
Геном ДНКси	1 мкл
Дистирланган сув	6.5 мкл

Амплификация 45 босқичдан иборат хот-старт дастурида қуйдаги ҳарорат режимларида амалга оширилади;

Биринчи денатуратция 95 °С 3 дақиқа бўлиб, бу босқич реакциянинг бошланишида бир марта амалга ошади, сўнг қуйдаги 3 жараён:

Денатуратция	94 °С 20 сония
Праймерларни ДНК боғланиш даражаси	±50 °С 30 сония
Элонгация	72°С 50 сония

45 босқич давомида такрорланади ва элонгация жараёнини тўлиқ кечишини таъминлаш учун қўшимча яқунловчи элонгация жараёни 72°С 5 дақиқа давом этиши билан ПЗР реакцияси яқунланади.



2.7. Генотиплаш ва компьютер таҳлиллари.

Микросателлит генотиплаш Редду ва бошқалар усулига мувофиқ амалга оширилади. Она ўсимлик генотипига ўшаш генотип – а, ота ўсимлиги генотипига ўшаш генотип – b, гетрозигота ҳолатидаги генотип – h деб белгиланади. SSR аллеллари ўлчами ҳар бир қадами 25 ж.а. бўлган молекуляр маркерларга асосланиб аниқланади [57].

Генотипик ва фенотипик маълумотлар корреляцияси «Kruskal-Wallis» MapQTL@4.0 дастурининг нопараметрик тести ҳамда интервал карталаштириш усули ёрдамида амалга оширилди. Маркерларнинг бирикканлик гуруҳларини аниқлаш таҳлиллари эса фақатгина LOC файллари киритилган JoinMap 3.0 дастури кўмагида бажарилди [69].

Тиббиёт, қишлоқ-хўжалик ва ҳайвонларни тадқиқ қиладиган олимларга қизиқарли бўлган асосий белгилар ҳар доим ўзгаришда ва мураккаб ирсийланиш хусиятига эга. Бундай мураккаб белгиларни ДНК га асосланган маркерлар билан анализ қилинади ва бу МБЛ (QTL) деб номланади. Анъанавий МБЛ анализиди, икки ота-она ўсимликдан олинган F_2 , бэккросс популяциялари, RILs, бэккросс инбред линиялар ва қўш гаплоидли линиялар кенг миқёсда фойдаланади. Шунингдек, интрогрессия ва изогеник

линиялар ҳам QTL анализларида фойдаланади. Бироқ, бундай популяциялар F_1 авлодида содир бўладиган асосан рекомбинация ҳодисаси асосида ётадиган катта чекловларга эга ва фақатгина ота-оналарда мавжуд бўлган жуфт аллелларни карталаштиради. QTL анализларда эпистазга ўхшаш кўпгина локусларни мураккаб ажралишини олдини олишда интрогрессия ва изоген линиялардан ҳам фойдаланилади. Бунда хромосоманинг кичик бир бўлаги донор линиядан реципиент она ўсимликка ўтказилади. Изоген линияларнинг рекомбинант инбред линияларлардан қулайлиги бу рекомбинант инбред линияларда аниқлаб бўлмайдиган кичик QTL ларни ҳам аниқлаш имкониятини мавжудлигидадир [48].

III-БОБ. НАТИЖА ВА МУҲОКАМАЛАР

3.1. Тола узунлиги белгиси бўйича яратилган F_2 авлод дурагайларида фенотипик кузатувлар ҳамда техник таҳлиллар натижалари

Тола узунлиги белгиси бўйича популяция яратиш ишлари 2011 йил Генетика ва ўсимликлар Экспериментал Биологияси (Г ва ўЭБ) институтида бошланган (илова-6). Тадқиқот мақсадларига кўра *G. barbadense* L. турининг Аш-143Б (Туркменистон) нави билан *G. hirsutum* L. All in one (АҚШ) навлари

Ўзаро чатиштириб F_2 авлод дурагайларида микросателлит маркерлари ёрдамида карталаштирилди. 2012 йили ушбу линияларни чатиштириб олинган уруғлар F_1 авлод ўсимликлари олиш учун ўстирилди ва ўз-ўзидан чанглатиш ишлари олиб борилди. F_1 авлод дурагайлари 2013 йил F_2 авлод дурагай ўсимликлари олиш мақсадида тажриба даласида ўстирилиб фенотипик кузатувлар ва генетик таҳлиллар олиб борилди (илова-7). Шунингдек, тажрибанинг тўлиқ бўлишини таъминлаш мақсадида назорат ўсимлиги сифатида бошланғич намуналари (ота-она шакллари) ҳамда биринчи авлод (F_1) дурагайлари ҳам комбинация ёнига экилди.

Ўтказилган агротехник тадбирлар. Тажриба ўтказилган майдонлардаги агротехник тадбирлар марказ олимлари томонидан ишлаб чиқарилган, Ўзбекистонда ғўза экинини етиштириш бўйича тавсияномаси асосида олиб борилди ва агротехник тадбирлар кўйидагича бажарилди. Тажриба майдонини 25-30 см чуқурликда кузги шудгорланди. Баҳорда ер чизел, борона, мола қилинди. Сифатли тозаланган ва сараланган уруғлар экилди. Экиш қўлда ўз вақтида муқобил муддатда ўтказилди. Селекция кўчатзоридagi экинлар икки ёки уч марта ягона қилинади. Бизнинг ажрибамизда ҳар бир уяга 2 тадан чигит экилди, униб чиққандан сўнг бирорта ўсимлик ҳам юлиб ташланмади фақат касаллангани юлиб олиниб тажриба майдонидан ташқарига чиқариб ташланди. Суғориш ишлари ўз вақтида ва меъёрида 2-маротаба бажарилди. Ўсимликларни бегона ўтлардан тозалаш учун 3 марта культивация қилинди. Минерал ўғитлар солинди ва ҳар бир муддат бўйича ўз вақтида чопиқ ишлари бажарилди. Пишиб етилган кўсакларни чатиштиришдан сўнг осилган қоғоз биркалардаги ёзувларга қараб алоҳида-алоҳида қилиб териб олинди. Чатиштирилмаган, касаллик тушган, ўсимликлар ҳосили алоҳида битта қопга териблиб, экишга яроқсиз деб браковка қилинди ва омборга топширилди. Омборда сараланган уруғлар алоҳида, браковка қилинганлари яни экишга яроқсизлари алоҳида сақланади. Ердаги ҳосил йиғиб олгандан сўнг кузги шудгорлаш ишлари бажарилади.

Тажрибалар ўтказилган далада минерал ўғитлар бир гектар ҳисобига N-60кг, P-120кг, K-80кг дан қилиб озиқлантирилди, кичик бўлакчаларга фосфор ва калий ўғити қўлда сепилди, (экишдан олдин йиллик меъёрдан 100% фосфор, 50% калий), қолган 50% азот минерал ўғити ўсимликнинг гуллаш фазасида берилди.

Ҳаводаги фойдали ҳаво ҳарорати йиғиндиси бўйича Ўзбекистондаги қишлоқ хўжалик экинларни суғориладиган минтақаларда етиштириш бўйича шартли равишда 3 та гуруҳга ажратилган (бунда 10 градусдан юқори суткалик ўртача ҳарорат ҳисобланган). Тошкент вилоятининг иқлими ҳам кескин континентал бўлиб, ёзи ниҳоятда иссиқ, қиши эса совуқ, ҳамда ҳавоси куруқ ва табиий ёғингарчиликлар ўсимликлар ўсиб ривожланиши учун ниҳоятда камлиги билан таърифланади.

Дурагай ўсимликлар кейинги авлодни олиш мақсадида ўз-ўзидан чанглатиб частиштирилди. Сентябрь бошларида ҳар бир ўсимлик устида алоҳида фенотипик кузатувлар олиб борилди. Бунда, асосан, кўсак шакли ва сони, барг шакли, поянинг туклангани ёки тукланмаганлиги, ўсимлик бўйи (паст, ўртача, баланд), антацион куйишнинг мавжудлиги, шохланиши (симподиал ва моноподиялар шохлар сони), биринчи симподиал шохнинг жойлашуви (hs), туп шакли каби белгилар қайд қилиб қўйилди (3.1.1. - жадвал).

3.1.1. - жадвал.

Танлаб олинган баъзи генотипларнинг фенотипик кузатув натижалари

Намуна лар	Туп шакли	Бўйи (см)	Моноподиалшохлар	Симподиал шохлар	hs	Шохланиш тип	Кўсак сони	Барг шакл	Кўсак шакли	Антацион куйиш	Тукланиш
Аш-	цилиндр	110	1	10	5	1-2	20	3-5	овалси	ўрта	кучл

143Б (G.barb.)	симон								мон	ча	и
All in one (G.hirs.)	конусси мон	95	2	14	6	1	28	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
F1	цилиндр симон	105	3	16	6	1-2	32	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
1	цилиндр симон	100	1	11	6	1-2	28	3-5	овалси мон	кучл и	ўрта ча
2	цилиндр симон	98	-	11	5	1-2	17	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
3	цилиндр симон	96	1	11	6	1-2	24	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
4	цилиндр симон	105	-	12	5	1-2	29	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
5	конусси мон	100	-	12	5	1	26	3-5	шарсим он	кучл и	ўрта ча
6	конусси мон	98	-	12	4	1	28	3-5	овалси мон	кучл и	ўрта ча
7	конусси мон	110	-	16	5	1	35	3-5	шарсим он	ўрта ча	ўрта ча
8	цилиндр симон	108	1	16	4	1-2	38	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
9	конусси мон	106	1	12	7	1	25	3-5	тухумс имон	кучл и	ўрта ча
10	цилиндр симон	104	-	14	6	1-2	28	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
11	конусси мон	102	1	13	6	1	25	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
12	конусси мон	105	1	15	5	1	34	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
13	конусси мон	97	1	13	6	1	30	3-5	шарсим он	ўрта ча	ўрта ча
14	цилиндр симон	102	1	14	4	1-2	29	3-5	шарсим он	ўрта ча	ўрта ча
15	конусси мон	98	3	12	4	1	17	3-5	тухумс имон	кучл и	ўрта ча
16	цилиндр симон	95	-	10	6	2	15	3-5	тухумс имон	кучл и	ўрта ча
17	конусси мон	105	-	13	6	1	18	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
18	цилиндр симон	102	1	14	5	1-2	19	3-5	овалси мон	кучл и	кучл и
19	цилиндр	100	-	11	5	1-2	14	3-5	овалси	кучс	кучл

	симон								мон	из	и
20	цилиндр симон	90	-	9	5	2	14	3-5	овалси мон	кучс из	кучл и
21	конусси мон	98	-	12	7	1	18	3-5	тухумс имон	кучс из	кучл и
22	цилиндр симон	108	-	14	6	2	28	3-5	шарсим он	кучс из	кучл и
23	цилиндр симон	102	-	10	4	1-2	17	3-5	шарсим он	ўрта ча	ўрта ча
24	цилиндр симон	103	1	12	4	1-2	20	3-5	овалси мон	кучс из	кучс из
25	цилиндр симон	105	-	14	5	1-2	29	3-5	тухумс имон	кучс из	кучс из
26	конусси мон	106	-	14	6	1	34	3-5	шарсим он	ўрта ча	ўрта ча
27	цилиндр симон	102	1	12	4	1-2	20	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
28	цилиндр симон	103	1	14	6	2	29	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
29	цилиндр симон	102	1	14	5	1-2	31	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
30	цилиндр симон	98	1	12	6	1-2	21	3-5	овалси мон	кучс из	кучс из
31	конусси мон	100	-	11	6	1	16	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
32	цилиндр симон	102	2	13	7	1-2	22	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
33	цилиндр симон	112	2	17	6	1-2	36	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
34	цилиндр симон	105	1	14	7	2	21	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
35	цилиндр симон	103	2	11	6	1-2	15	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
36	цилиндр симон	85	1	9	7	2	14	3-5	тухумс имон	кучл и	кучс из
37	конусси мон	101	-	11	6	1	15	3-5	тухумс имон	кучл и	кучл и
38	цилиндр симон	107	-	15	6	2	26	3-5	овалси мон	кучл и	кучл и
39	цилиндр симон	105	-	14	7	1-2	23	3-5	тухумс имон	кучл и	кучл и
40	цилиндр симон	80	-	8	6	1-2	12	3-5	овалси мон	кучл и	кучл и
41	цилиндр	95	-	11	7	1-2	15	3-5	овалси	ўрта	ўрта

	симон								мон	ча	ча
42	цилиндр симон	105	2	15	5	1-2	25	3-5	тухумс имон	кучл и	кучл и
43	цилиндр симон	90	-	9	6	2	16	3-5	овалси мон	кучс из	кучл и
44	цилиндр симон	98	-	10	7	1-2	18	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
45	цилиндр симон	100	1	10	6	1-2	20	3-5	тухумс имон	ўрта ча	ўрта ча
46	цилиндр симон	104	1	11	6	1-2	25	3-5	овалси мон	кучс из	кучс из
47	цилиндр симон	100	-	10	5	1-2	18	3-5	овалси мон	кучс из	кучс из
48	цилиндр симон	100	-	10	5	1-2	21	3-5	овалси мон	кучл и	кучс из
49	конусси мон	102	-	10	5	1	17	3-5	овалси мон	ўрта ча	ўрта ча
50	конусси мон	108	1	14	5	1	26	3-5	овалси мон	ўрта ча	кучл и

F₂ авлод дурагайлари, ота-она генотиплари ҳамда F₁ дурагай ўсимлигидан индивидуал териб олинган пахта толаси чигитидан ажратилиб 20 г дан тола толанинг сифат кўрсаткичларини аниқлаш мақсадида Ўзбекистон тола сифатини сертификатлаш “SIFAT” марказида таҳлил қилинди (3.1.2. – жадвал). Ҳар бир намунадан олинган тола сифати бўйича маълумотлар генотипик маълумотлар билан таққосланиб ўрганиб чиқилди.

Тадқиқот учун олинган ингичка толали ғўзанинг Аш-143Б (Туркменистон) ва ўрта толали ғўзанинг All in one (АҚШ) линиялари ҳамда уларни ўзаро чатиштириш натижасида олинган 50 та F₂ авлод ўсимликлари ва таққослаш учун олинган F₁ авлод ўсимликларининг тола сифатини аниқлаш мақсадида тола намуналари НVI ускунасида таҳлил қилинди (жадвал 3.1.2). Таҳлил натижасига кўра донор Аш-143Б (*G.barbadense* L.) линиясининг микронер кўрсаткичи 3,8 тола узунлиги (*len*) бўйича 1,32 дюйм реципиент All in one (*G.hirsutum* L.) линиясининг микронер кўрсаткичи 4,6 тола узунлиги (*lengis*) бўйича 0,97 дюйм га тенг бўлганди. 50 та F₂ авлод ўсимликларида эса ўртача микронер кўрсаткичи 4,1 (мак/мин 3,0-5,2) ва тола

узунлиги (len) бўйича 1,15 дюйм (мак/мин 1,28-1,08 дюйм)га тенг бўлди. Шу билан бирга F₁ авлод ўсимликларининг микронер кўрсаткичи 4,5 ва тола узунлиги (len) бўйича 1,12 дюйм га тенг бўлди. Олинган натижалардан кўриниб турибдики 50 та F₂ авлод ўсимликларида тола узунлиги кўрсаткичи бўйича ота-она ўсимликларига нисбатан юқорироқдир. Шулардан энг яхши кўрсаткич тола узунлиги (len) бўйича 14-рақамли ўсимликда, энг паст кўрсаткич эса 23-рақамли ўсимликда, микронер кўрсаткичи бўйича энг яхши кўрсаткич 22- рақамли ўсимликда, энг паст кўрсаткич эса 37-рақамли ўсимликда намоён бўлди.

3.1.2. - жадвал.

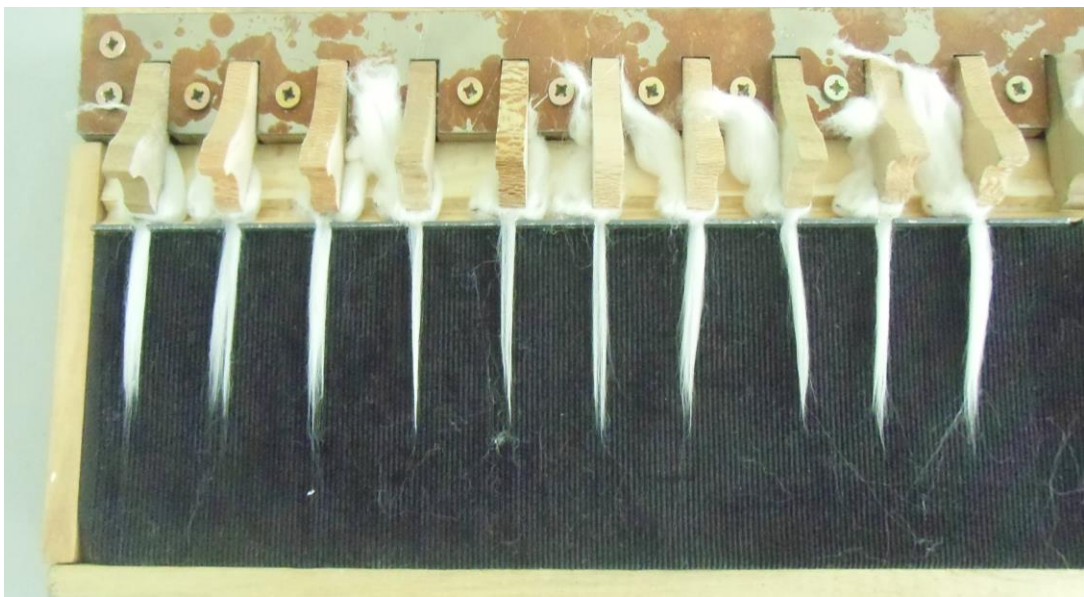
Танлаб олинган баъзи генотипларнинг тола сифат кўрсаткичлари натижалари

Намуна лар	Mi c	Str	Len	Unf	SFI	Elg	T	Cn t	Ar ea	CG	Rd	+b
Аш-143Б (<i>G.barbaldense</i> 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 (<i>G.hirsutum</i> L.)	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

Бундан ташқари F_2 авлод дурагайлари, ота-она генотиплари ҳамда F_1 дурагай ўсимлигидан индивидуал териб олинган пахта толасининг тола узунлиги маҳсус вилвет доскасида ўлчаб таҳлил қилинди. Ҳар бир намунадан тола сифати бўйича олинган маълумотлар генотипик маълумотлар билан таққосланиб ўрганиб чиқилди (3.1.3 – жадвал).



3.1.2 - расм. Тола узунлигини ўлчаш.

Олинган натижаларга кўра Аш-143Б (Туркменистон) линиясида тола узунлиги 44,0 мм ва All in one (АҚШ) линиясида 24,4 мм бўлди. Буларни ўзаро чатиштириш натижасида олинган F_2 авлод ўсимликларида эса ўртача тола узунлиги 32,3 мм (мак/мин 40,0-22,0 мм) га тенг бўлди. Шулардан энг яхши кўрсаткич тола узунлиги бўйича 38-рақамли ўсимликда, энг паст кўрсаткич эса 41-рақамли ўсимликда намоён бўлди. Ўртача тола узунлигидан

юқори бўлган ўсимликлар генотиби текширилди ва натижада донор аллелари бу ўсимликларда намоён бўлган деган хулосага келинди.

3.1.3 – жадвал.

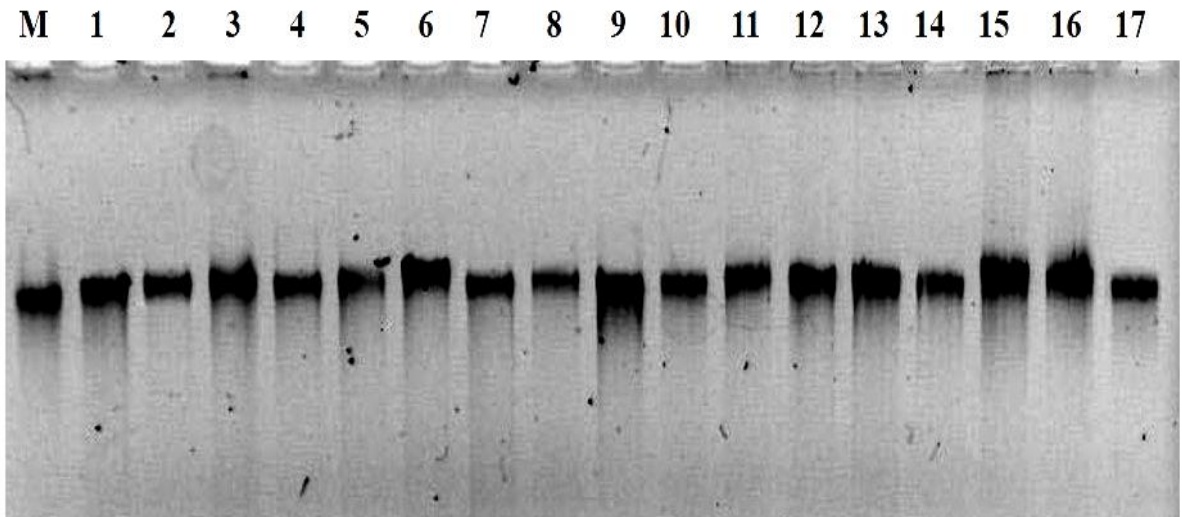
Танлаб олинган баъзи генотипларнинг тола узунлиги кўрсаткичлари натижалари

№	Намуналар	Ўртача тола узунлиги (мм)	№	Намуналар	Ўртача тола узунлиги (мм)
1	Аш-143Б (<i>G.barbadense</i> L.)	44	37	65	29,7
2	All in one (<i>G.hirsutum</i> L.)	24	38	66	36,0
3	F1 гибриди	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 авлод дурагайларида генотиплаш натижалари

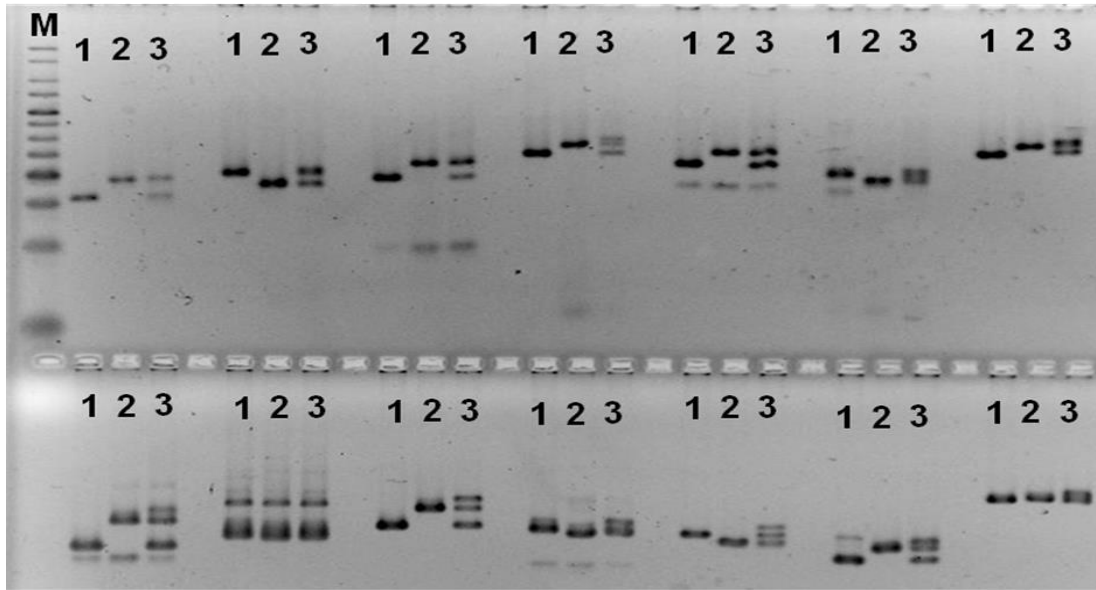
Униб чиққан ниҳоллардан геном ДНКси ажратиш учун ниҳоллик давридаёқ барг намуналари йиғиб олинди (илова-8). F₁ дурагай ўсимлиги, ота-она генотиплари ҳамда F₂ авлод дурагай ниҳолларининг ҳар биридан СТАВ усулида геном ДНКси ажратиб олинди. Геном ДНКлари электрофорез усули ёрдамида 0,9%ли Routine агароза гелида визуализация қилинди ва уларнинг концентрацияси ишчи концентрацияга олиб келинди (3.2.2 – расм). Энг аввало *G.barbadense* L. ва *G.hirsutum* L. турлараро чатиштириш учун танлаб олинган намуналарида, яъни ота-она ўсимликларида 100га яқин (10та JESPR SSR, 25та TMB SSR, 15та GH SSR, 20та BNL SSR, 10та CIR SSR, 15та NAU SSR микросателлит маркерлар коллекцияси) праймерлар билан ПЗР реакциялари ўтказилди. Микросателлитлар амплификацияси полиморфизми 3,5% ли Hi-Res агароза гелида 6 в/см электр кучланиши остида 0,5 х TBE буфериди амалга оширилди. Геллар этидиум бромли эритмада бўйлиб Alpha Imager 300 (Innotech Inc., АҚШ) ускунасида суратга олиб электрон ҳолда сақлаб қўйилди.



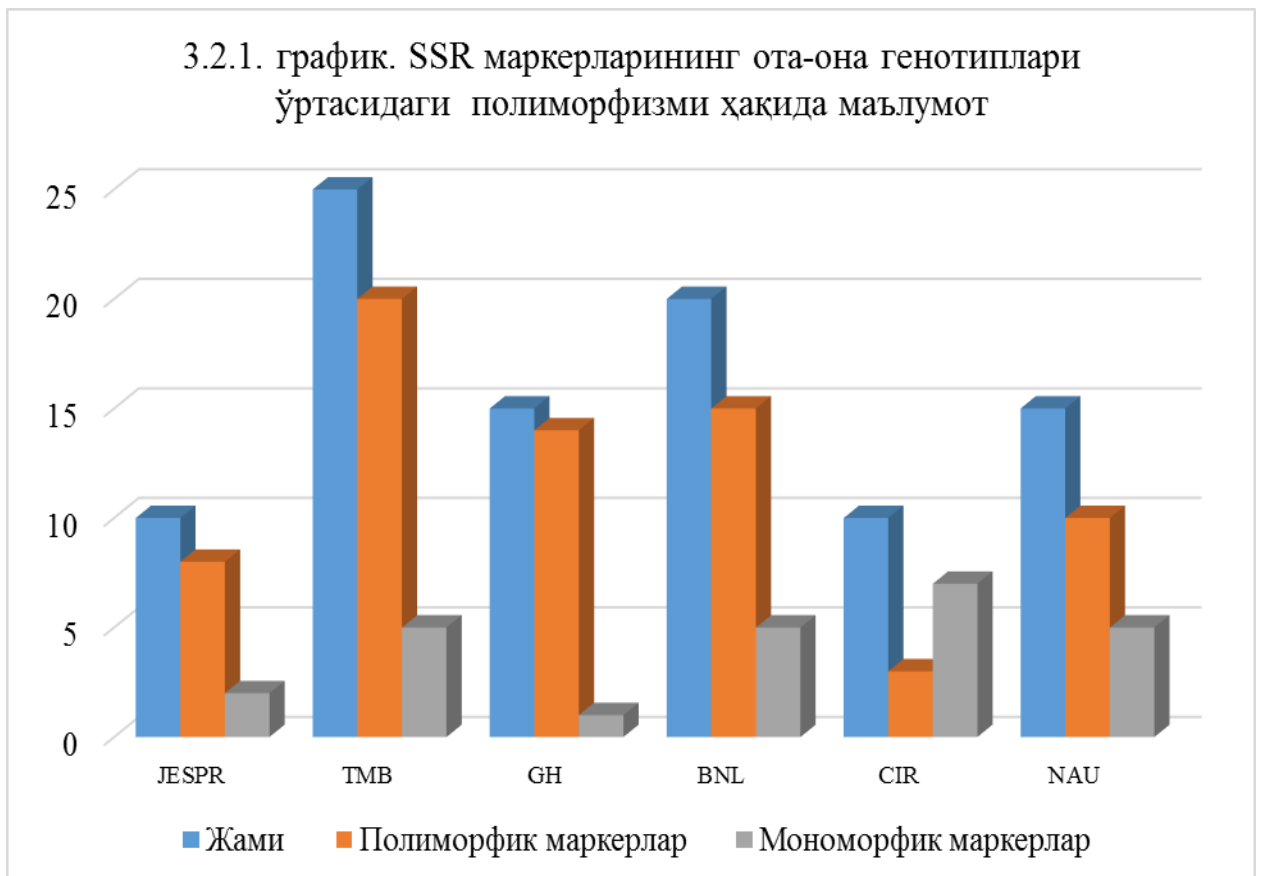
3.2.2 – расм. Электрофорез усули ёрдамида геном ДНКсини визуализация қилиш. М-Молекуляр маркер, 1-2, ота-она ўсимликлари; 3- F_1 авлод ўсимлиги; 4... 17- F_2 авлод ўсимликлари.

Дастлабки ПЗР реакцияларининг таҳлилига кўра ота-она ўсимликлари ўртасида полиморфизм намоён этган 72 та маркер аниқланди ва бу маркерлар F_2 авлод ўсимликларини скрининг қилиш мақсади учун танлаб олинди (3.2.3. расм).

Ҳар бир SSR маркерлар коллекцияси алоҳида-алоҳида таҳлил қилинганда GH SSR коллекцияси бошқа маркерлар коллекциясига нисбатан бирмунча полиморфлиги аниқланди. Бу коллекциядаги полиморф маркерлар сони 14 тани (93,3%) ва мономорф маркерлар сони 1 тани (6,7%) ташкил этди. Бундан фарқли ўлароқ CIR SSR коллекцияда мономорф маркерлар сони полиморф маркерлар сонига нисбатан кўпчиликни ташкил этди, яъни 7 та (70,0%) мономорф ва 3 та (30,0%) полиморф эканлиги кузатилди. Шунингдек 10 та JESPR SSR 8 таси полиморф 2 таси мономорф, 25 та TMB SSR 20 таси полиморф 5 таси эса мономорф, 20 та BNL SSRдан 15 таси полиморф ва 5 таси мономорф ҳамда 15 та NAU SSR коллекциясидан 10 таси полиморф ва 5 таси мономорф эканлиги кузатилди (3.2.1. график).



3.2.3. расм. SSR маркерларининг ота-она линиялари ўртасидаги полиморфизм. М-молекуляр оғирлик маркери; 1-2-ота-она линиялари; 3- F_1 авлод ўсимлиги.

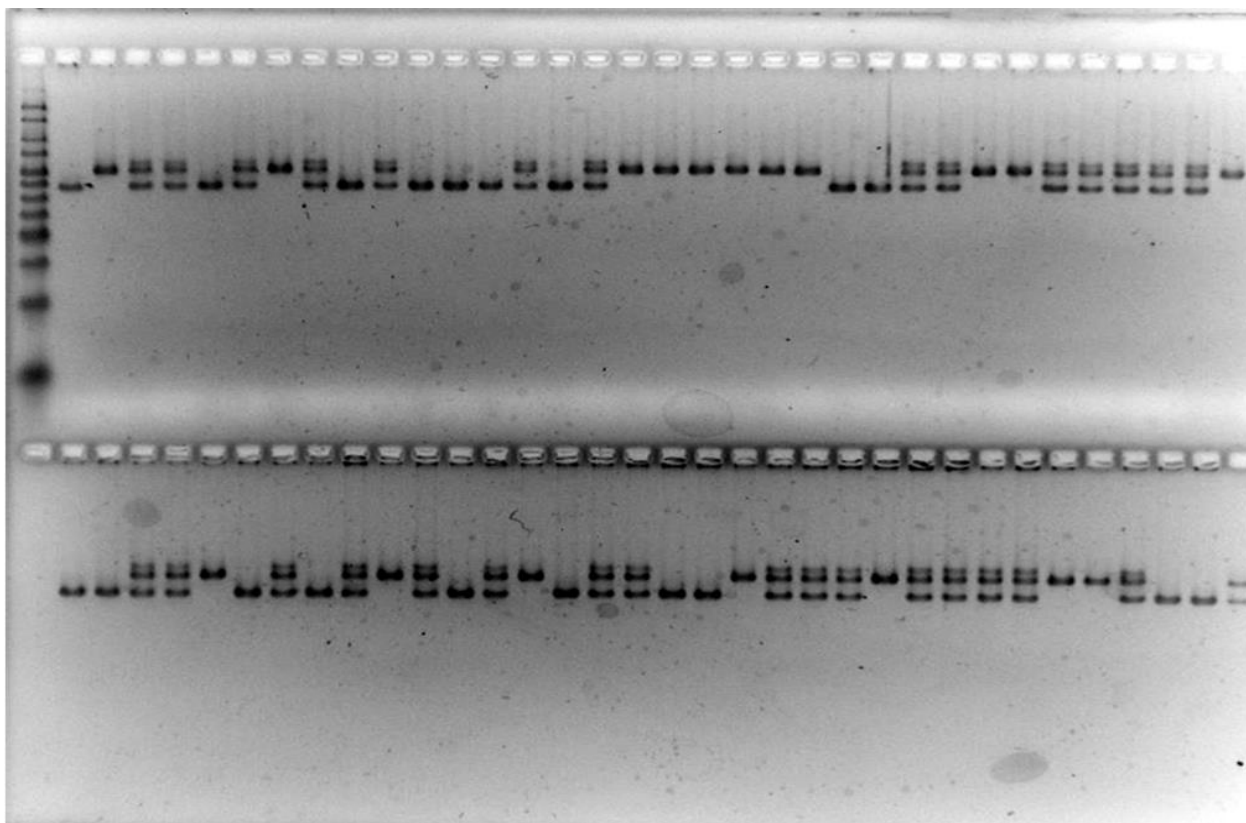


F_2 авлод ўсимликларининг 108 тасидан геном ДНКлари ажратилди ва танлаб олинган полиморфик маркерлар билан ПЗР реакциялари қўйилиб

генотиплаш ишлари олиб борилди. Микросаттелит генотиплаш Reddy *va boshq.* усулига мувофиқ ҳолда амалга оширилди. Она ўсмлиги генотипига ўхшаш генотип – а, ота ўсмлиги генотипига ўхшаш генотип – b, ва гетерозигота ҳолатидаги генотип – h деб белгиланди. F₂ авлод ўсимликлари фенотипик ҳамда генотипик маълумотлар Microsoft Office 2003/2007 офис программалари пакетига тегишли бўлган Microsoft Excel дастурида таҳлил қилинди (3.2.1. Жадвал). SSR аллеллари ўлчами ҳар бир қадами 25 жуфт азотли асослар бўлган молекуляр маркерга асосланиб аниқланди. F₂ авлод ПЗР тестига кўра популяцияда ажралиш кетганлиги, яъни ота ёки она шаклларига ўхшаш ҳамда дурагай шакллар ҳосил бўлганлиги аниқланди. Танлаб олинган маркерлар (8та JESPR SSR, 20та TMB SSR, 14та GH SSR, 15та BNL SSR, 5та CIR SSR, 10та NAU SSR) ДНК маркерлари F₂ авлод дурагайлари ўртасида ўзининг юқори полиморфизм намоён этди.

3.2.1. Жадвал. F₂ авлод ўсимликлари генотиплаш

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Намуналар	BNL_1066	BNL_1079	BNL_252	BNL_2568	BNL_2572	BNL_2616	BNL_2655
2	Аш-143Б (G.barbadense L.)	a	a	a	a	a	a	a
3	All in one (G.hirsutum L.)	b	b	b	b	b	b	b
4	F1	h	h	h	h	h	h	h
5	1	h	h	h	h	h	h	h
6	2	a	h	h	h	h	h	h
7	3	a	h	b	b	h	b	b
8	4	a	a	a	a	b	a	a
9	5	b	b	h	h	h	h	h
10	6	a	h	h	h	h	h	h
11	7	h	b	b	b	h	b	b
12	8	a	a	h	a	h	h	a
13	9	h	h	b	b	a	b	b



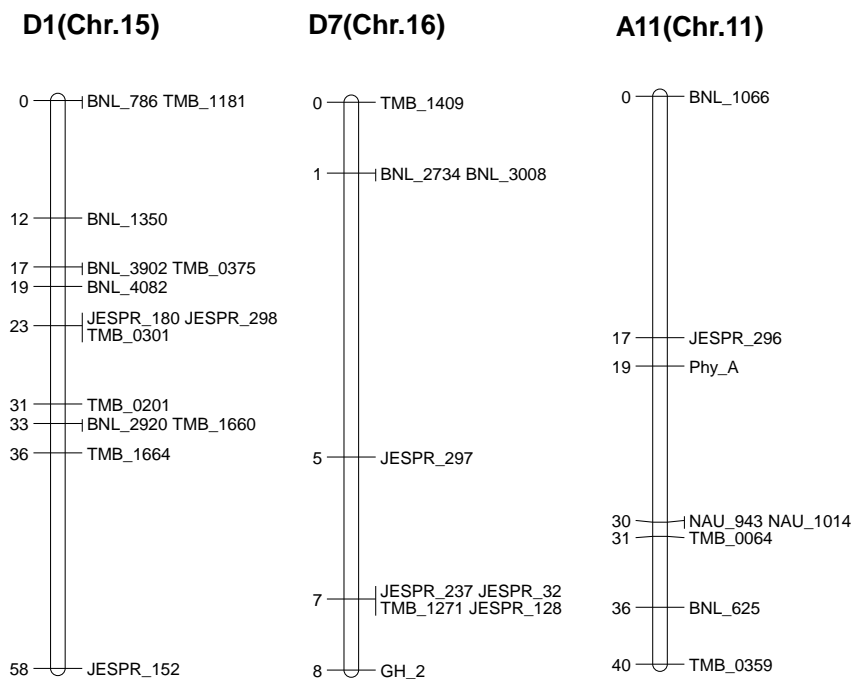
3.2.4. расм. GH-542 полиморфик маркерининг F_2 авлод ўсимликлариди гентипланиши. 1- молекуляр оғирлик маркери; 2-3- ота-она ўсимликлари; 4- F_1 авлод ўсимлиги; 5... .n – F_2 авлод ўсимликлари.

3.3. Молекуляр маркерлар ёрдамида ғўзада тола узунлиги белгисини QTL карталаштириш

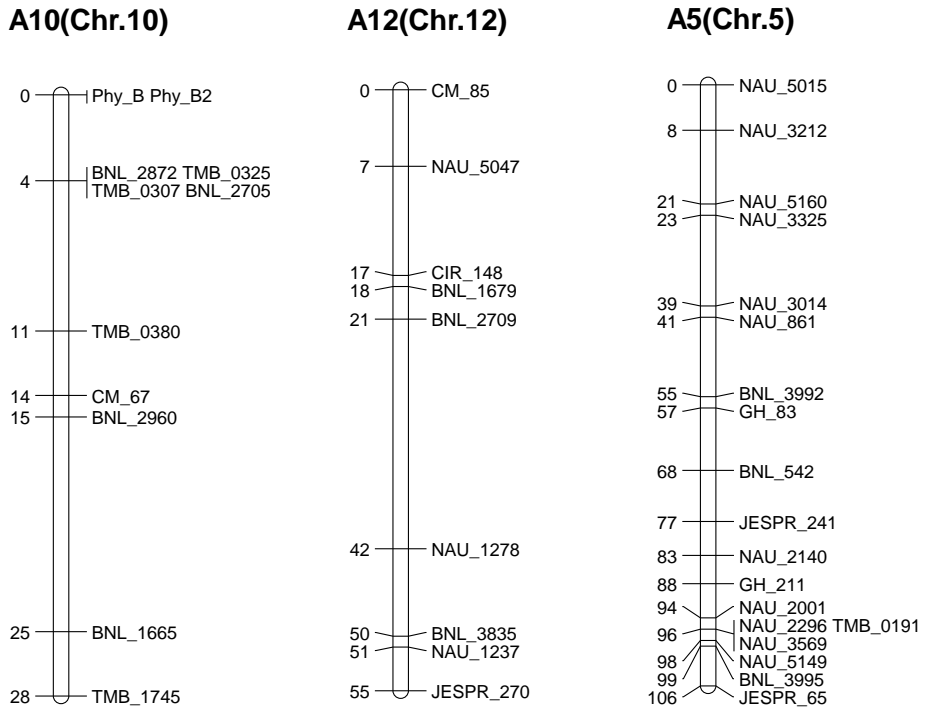
Селекция ёки карталаштириш лойиҳалари учун маркерлар тизимининг афзалликларига эътибор қаратган ҳолда мос келувчи тизимни танлаб олиш зарур. Миқдорий ва сифат белгиларини карталаштириш белгиларни бир индивиддан иккинчи индивидга интрогрессия қилиш, гермоплазмани таҳлил қилиш каби тадқиқотлар турли хил услубий ёндашувни (турли маркерлар тизими қўлланилишини) талаб этади. Тадқиқот учун маркерлар тизимининг қўлланилиши ва унинг самара бериши уларнинг икки хил хусусияти билан баҳоланади: биринчиси, маркернинг популяциядаги индивидумлар ўртасидаги тафовутни намоён қила олиши; иккинчиси, геномдаги маркер частотаси (яъни битта реакцияда маркер томонидан бирваракайига нечта локус таҳлил қилиниши мумкин). SSR маркерлари қолган маркерларга нисбатан юқори гетерозиготалиги сабабли бу

тизим индивидумлар ўртасидаги тафовутни аниқлаш каби мақсадлар учун кенг қўлланилади ва бирмунча самарадор маркер тизими ҳисобланади [4].

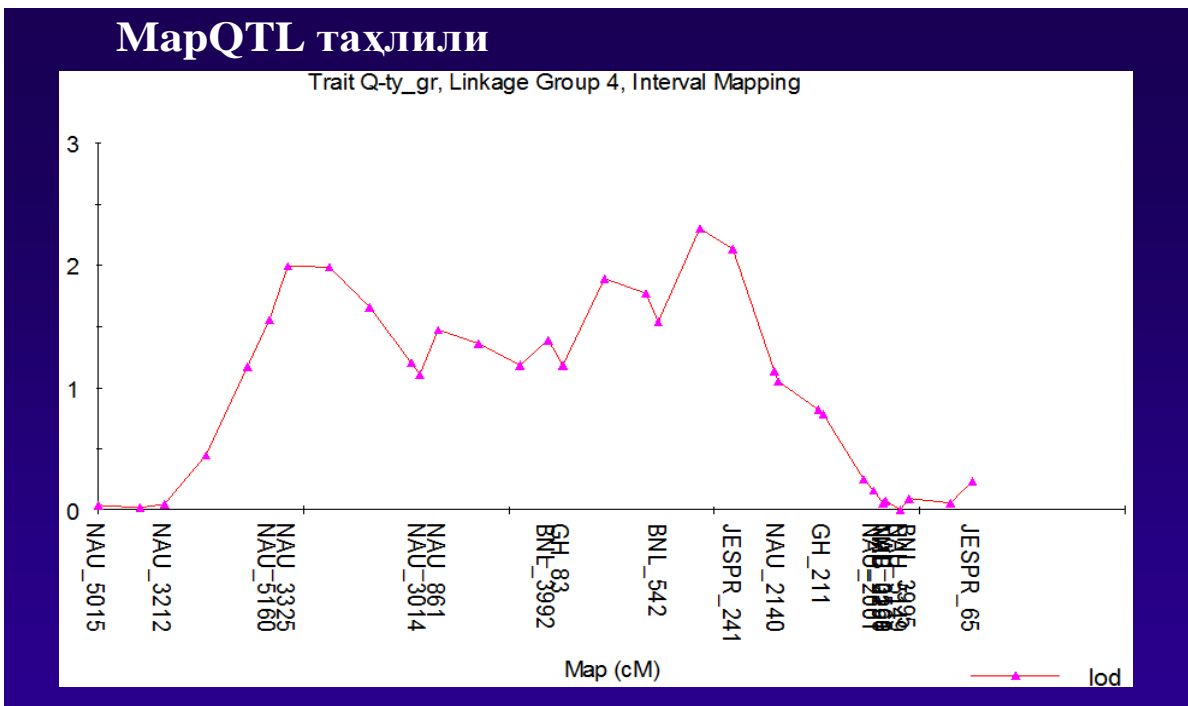
Маркерларнинг бирикканлик гуруҳларини аниқлаш таҳлиллари фақатгина LOC файллари киритилган JoinMap 3.0 дастури кўмагида бажарилди [69]. Таҳлил наиижаларига кўра 72 полиморф маркерлар гуруҳи 6 та бирикканлик гуруҳини ташкил этди. *Lasare et al* (2009) ҳамда *Guo et al* (2007) илмий мақолаларидан фойдаланилган ҳолда ушбу бирикканлик гуруҳларининг қайси хромосомада жолашганлиги аниқланди. Ҳар бир бирикканлик гуруҳига ўртача 12 тадан маркер тўғри келди (3.3.1, 3.3.2 - расмлар). [43, 29]



3.3.1 - расм. Генетик бирикканлик гуруҳлари



3.3.2 - расм. Генетик бирикканлик гуруҳлари



3.3.3 - расм. Тола узунлиги бўйича таҳлил қилинаётган F₂ популяциясида полиморф SSR маркерларини интервал карталаштириш

Генотипик ва фенотипик маълумотлар корреляцияси «Kruskal-Wallis» MapQTL@4.0 дастурининг нопараметрик тести ҳамда интервал карталаштириш усули ёрдамида амалга оширилди [69]. Таҳлил натижаларига кўра 2 та QTL LOD>3 бўлганда аниқланди. Бу 2 QTLда аниқланган маркерлар тола узунлигига жавоб берувчи маркерлар бўлиши мумкин деган хулосага келинди.

Тадқиқ қилинаётган иккинчи авлод дурагайлари QTL карталаштириш натижасида тола узунлигига алоқадор бўлган 2 та QTL локуслари аниқланди. Тола узунлиги белгисини биринчи QTL локусига (LOD>2.1) NAU3325 ва NAU5160 ҳамда иккинчи QTL локусига (LOD>2.5) JESPR241 маркерлари генетик боғланганлиги аниқланди.

Мазкур тадқиқот натижасида аниқланган тола узунлиги белгисига генетик боғланган маркерлар ва ушбу маркер белгисига эга бўлган ғўза линиясидан фойдаланиб тола узунлиги паст бўлган навларни ҳозирги замон селекциясида энг самарали ҳисобланган MAS усули ёрдамида 6-7 авлод давомида тола сифатини ошириш мумкин.

ХУЛОСА

Мазкур магистрлик диссертацияси ғўзада турлараро дурагайлаш орқали тола сифат белгиларини молекуляр маркерлари ёрдамида тадқиқ қилиб, тола узунлигига алоқадор бўлган QTL локусларни аниқлашга қаратилган. Ушбу тадқиқот натижасида қуйидаги хулосаларга келинди:

1. F₂ авлод ўсимликларида тола узунлиги (len) бўйича энг яхши кўрсаткич (1,28 дюйм) 14-рақамли ўсимликда, энг паст кўрсаткич эса (1,08 дюйм) 23-рақамли ўсимликда; микронейр кўрсаткичи бўйича энг яхши кўрсаткич (3,0) 22-рақамли ўсимликда, энг паст кўрсаткич эса (5,2) 37-рақамли ўсимликда намоён бўлди.

2. Аш-143Б (*G.barbadense* L.) тизмасида тола узунлиги 44,0 мм ва All in one (*G.hirsutum* L.) тизмасида 24,4 мм бўлди. Буларни ўзаро чаптиштириш натижасида олинган F₂ авлод ўсимликларида эса ўртача тола узунлиги 32,3

(мак/мин 40,0-22,0 мм) га тенг бўлди. Шулардан энг яхши кўрсаткич тола узунлиги бўйича 38-рақамли ўсимликда, энг паст кўрсаткич эса 41-рақамли ўсимликда намоён бўлди. Ўртача тола узунлигидан юқори бўлган ўсимликлар генотиби текширилди ва натижада донор аллелари бу ўсимликларда намоён бўлган деган хулосага келинди.

3. Тадқиқот натижасида дастлаб ота-она линиялар 100 га яқин SSR маркерлар ёрдамида ПЗР усули билан скрининг қилинди ва бунинг натижасида 72 та полиморф маркерлар аниқланди.

4. GH SSR коллекцияси бошқа маркерлар коллекциясига нисбатан бирмунча полиморфлиги аниқланди. Бу коллекциядаги полиморф маркерлар сони 14 тани (93,3%) ва мономорф маркерлар сони 1 тани (6,7%) ташкил этди. Бундан фарқли ўлароқ CIR SSR коллекцияда мономорф маркерлар сони полиморф маркерлар сонига нисбатан кўпчиликни ташкил этди, яъни 7 та (70,0%) мономорф ва 3 та (30,0%) полиморф эканлиги кузатилди. Шунингдек 10 та JESPR SSR 8 таси полиморф 2 таси мономорф, 25 та TMB SSR 20 таси полиморф 5 таси эса мономорф, 20 та BNL SSRдан 15 таси полиморф ва 5 таси мономорф ҳамда 15 та NAU SSR коллекциясидан 10 таси полиморф ва 5 таси мономорф эканлиги кузатилди.

5. F₂ авлод ПЗР тестига кўра популяцияда ажралиш кетганлиги, яъни ота ёки она шаклларига ўхшаш ҳамда дурагай шакллар ҳосил бўлганлиги аниқланди. Танлаб олинган маркерлар (8та JESPR SSR, 20та TMB SSR, 14та GH SSR, 15та BNL SSR, 5та CIR SSR, 10та NAU SSR) ДНК маркерлари F₂ авлод дурагайлари ўртасида ўзининг юқори полиморфизм намоён этди.

6. MapQTL дастурлаш натижасида олинган дастлабки натижаларга асосан мазкур полиморф маркерлардан NAU3325, NAU5160 ҳамда JESPR241 маркерлари жойлашган иккита QTL локуслари тола узунлиги белгисига генетик ассоциацияланганлиги аниқланди.

7. Аниқланган SSR маркерларидан фойдаланиб MAC усуллари ёрдамида бу локусларни элита навларга кўчириб ўтказишда селекцион ишлар

учун қимматли восита бўлиб хизмат қилиши мумкин. Шунингдек белгиларни бошқарувчи генлар жойлашган ўрни аниқлангандан кейин ғўза ВАС геном кутубхонасидан позицион клонлаш тажрибаларида ишлатилиши мумкин.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

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 tehnologiyasi” //Fan va turmush // 2010 yil 12-13.
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

гермплазмы 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 (LinkageDisequilibrium). // 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 ирсутум 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.Е., БуриевЗ.Т., Абдурамонов И.Ю.// Ғўзада тола пишилиқ даражасини маркерларга асосланган селекция (мас) технологияси асосида ошириш // Илм-фан тарайёти 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.Е., 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., Норов Т.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., Abdurakarimov 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., Abdurakarimov 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., Abdurakarimov 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 Abdurakarimov. 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 hight 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., Gentzittel 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. *Thero 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.

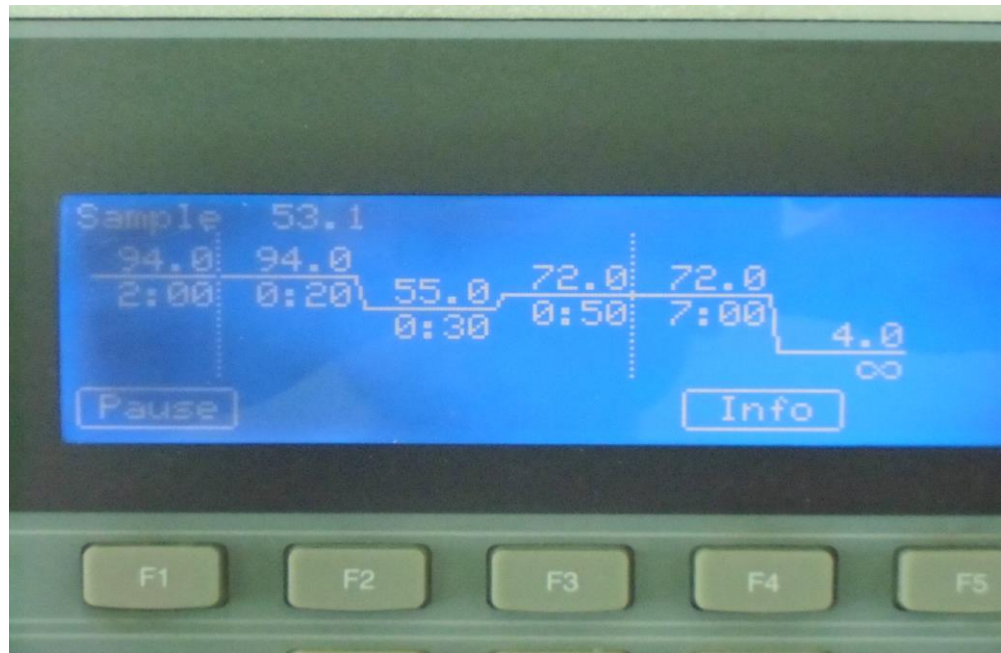
69. Van Ooijen & Voorrips RE MapQTL@3.0 , Software for the calculation of QTL position of genetic maps. // Plant Research International Wageningen, the Netherlands-2001.

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

Иловалар



Илова-1



Илова-2



Илова-3



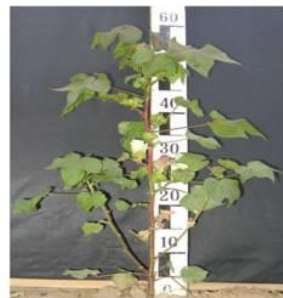
Илова-4



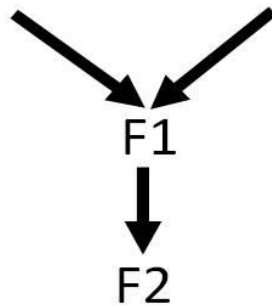
Илова-5



Аш-143Б
(*G.barbadense* L.)



All in one
(*G.hirsutum* L.)



Илова-6



All in one
(*G.hirsutum* L.)

F₁

Аш-143Б
(*G.barbadense* L.)

Илова-7



Илова-8