

**ГЕНЕТИКА ВА ЎСИМЛИКЛАР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ БИОЛОГИЯСИ
ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.29.08.2017.V.53.01
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ГЕНОМИКА ВА БИОИНФОРМАТИКА МАРКАЗИ

МАКАМОВ АБДУСАЛОМ ХАСАНБОЕВИЧ

**ЎЗАНИНГ ХРОМОСОМАСИ АЛМАШТИРИЛГАН ГЕНЕТИК
ХАРИТАЛАШ ПОПУЛЯЦИЯЛАРИНИ ТАДҚИҚ ҚИЛИШ ВА
МОЛЕКУЛЯР ТАВСИФЛАШ**

03.00.14 – Геномика, протеомика и биоинформатика

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

ТОШКЕНТ – 2018

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавления автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Макамов Абдусалом Хасанбоевич

Взанинг хромосомаси алмаштирилган генетик хариталаш популяцияларини тадқиқ қилиш ва молекуляр тавсифлаш 3

Макамов Абдусалом Хасанбоевич

Исследование и молекулярная характеристика генетически картируемых хромосом-замещенных популяций хлопчатника 21

Makamov Abdusalom Khasanboevich

Research and molecular characteristics of genetically mapped chromosome-substituted cotton populations 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works 43

**ГЕНЕТИКА ВА ЎСИМЛИКЛАР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ БИОЛОГИЯСИ
ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.29.08.2017.V.53.01
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ГЕНОМИКА ВА БИОИНФОРМАТИКА МАРКАЗИ

МАКАМОВ АБДУСАЛОМ ХАСАНБОЕВИЧ

**ЎЗАНИНГ ХРОМОСОМАСИ АЛМАШТИРИЛГАН ГЕНЕТИК
ХАРИТАЛАШ ПОПУЛЯЦИЯЛАРИНИ ТАДҚИҚ ҚИЛИШ ВА
МОЛЕКУЛЯР ТАВСИФЛАШ**

03.00.14 – Геномика, протеомика и биоинформатика

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

ТОШКЕНТ – 2018

Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.2.PhD/В78 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация иши Геномика ва биоинформатика марказида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида (www.genetika.uz) ҳамда «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Абдурахмонов Иброхим Юлчиевич
биология фанлари доктори, академик

Расмий оппонентлар:

Ризаева Сафия Мамедовна
биология фанлари доктори, профессор

Кадилова Дилбар Абдуллаевна
биология фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот:

**Пахта селекцияси, уруғчилиги ва етиштириш
агротехнологиялари илмий тадқиқот
институту**

Диссертация ҳимояси Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти ва Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги DSc.29.08.2017.В.53.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2018 йил «___» _____ куни соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 111226, Тошкент вилояти, Қибрай тумани, Юқори-Юз п/б, Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти мажлислар зали. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-22-30; e-mail: igebr@academy.uz, genetics@uzsci.net, gen@inst.gov.uz).

Диссертация билан Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 111226, Тошкент вилояти, Қибрай тумани, Юқори-Юз п/б, Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти мажлислар зали. Тел.: (+99871) 264-23-90; факс: (+99871) 264-22-30.

Диссертация автореферати 2018 йил «___» _____ куни тарқатилди.
(2018 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

А.А. Нариманов

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

С.М. Набиев

Илмий даражалар берувчи илмий
кенгаш илмий котиби, б.ф.н.,
катта илмий ходим

З.Т. Буриев

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

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Сўнгги йилларда дунё миқёсида глобал иқлимнинг ўзгариши турли биотик ва абиотик стресс омиллар таъсир майдонининг кенгайишига олиб келиб, қишлоқ хўжалик экинларининг ҳосил миқдори ва сифатига салбий таъсир кўрсатмоқда. Жаҳонда энг қимматли техник экинлардан бири бўлган ғўзанинг серҳосил, тола сифати юқори, ташқи муҳитнинг ноқулай шароитларига бардошли бўлган янги навларини яратишда унинг тезкор селекцион дастурларига ўтиш муҳим ҳисобланади. Бунинг учун полиген табиатга эга бўлган белгиларни бошқарувчи миқдорий белгилар локусларини хариталаш ва уларни замонавий селекциянинг истиқболли йўналишларидан бири бўлган маркерларга асосланган селекция дастурларида қўллаш бугунги кунда долзарб ҳисобланади.

Дунёда пахта майдонининг 95 % дан ортиқ қисмини эгаллаган ўрта толали (*G.hirsutum* L.) ғўза навлари эртапишар ва серҳосил ҳисобланади. Ингичка толали (*G.barbadense* L.) ғўза навлари энг сифатли тола маҳсулоти беради, лекин бундай навлар кечпишарлиги ва ҳосилининг пастлиги сабабли 3-5 % пахта майдонида етиштирилади. Ўрта толали ғўза навларида тола сифатини яхшилаш учун *G.hirsutum* L. ва *G.barbadense* L. ғўза турлари ўртасида турлараро дурагайлаш ишлари олиб борилиб, бир нечта янги навлар яратилган. Бироқ, турли геномларга мансуб бу турлар ўртасидаги номувофиқликлар туфайли сегрегациянинг бузилиши, рекомбинациянинг чекланиши, авлодларда бепуштликнинг рўй бериши янги линия ҳамда навлар яратиш селекцион жараёнини мураккаблаштиради. Бу ўринда хромосомаси алмаштирилган (CS-B) линияларда ингичка толали ғўзанинг бир жуфт хромосомаси ёки унинг жуфт бўлаклари мавжудлиги сабаб улар пахтачиликда тўлиқ геном даражасидаги турлараро дурагайлаш муаммоларини енгиб ўтишда қимматли ашёдир.

Ўзбекистонда пахтачилик соҳасида олиб борилаётган чора-тадбирлар натижасида янги, тезпишар ва серҳосил ғўза навларини яратишга эришилган. Шу ютуқлар билан бирга, Ўзбекистонни янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида¹ «... маҳаллий тупроқ иқлим шароитларига мос навларни яратиш ва жорий қилиш» вазифалари белгилаб берилган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда, юртимиз тупроқ иқлим шароитига мос, ҳосилдорлик ва тола сифати белгиларини бошқарувчи миқдорий белгилар локусларини CS-B линиялар иштирокида яратилган рекомбинант инбред линиялар популяциясида аниқлаш ва уларни селекциянинг тезкор усулларида бири бўлган маркерларга асосланган селекцияга тавсия этиш муҳим илмий-амалий аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 15 сентябрдаги ПҚ-3281-сонли “2018 йилда қишлоқ хўжалиги экинларини оқилона жойлаштириш чора-тадбирлари ва қишлоқ хўжалиги маҳсулотлари

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида”ги Фармони

етиштиришнинг прогноз ҳажмлари тўғрисида”ги қарори, 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сонли “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида”ги Фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V. “Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси” устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Бугунги кунга келиб, бутун дунёда ғўза геномини тадқиқ этишда ДНК маркерлар технологияси самарали қўлланилмоқда. Хусусан, ғўзада тола сифати билан генетик боғланган микдорий белгилар локуслари (QTL)ни идентификация қилиш бўйича А. Reinisch (1994), J.M. Lacape (2003, 2005), X. Shen (2007), J. Wu (2009), F.D. Sun (2012), J.I. Said (2014), M. Jamshed (2016), H. Wang (2016) ва X. Fang (2017) каби хорижий олимлар фаол тадқиқотлар олиб борганлар.

Ўрта ва ингичка толали ғўза турлари ўртасида турлараро дурагайлаш йўли билан рекомбинант инбред линиялар популяциялари яратилиб, уларда қимматли хўжалик белгиларига алоқадор локуслар аниқланган (J.M. Lacape 2005, 2007; P. Wang et al., 2014). Бироқ, бундай популяцияларда иккинчи тур геномининг барча хромосомалари мавжуд бўлиб, улар белги ва хусусиятларнинг ўзгаришига комплекс таъсир кўрсатади (W. Song et al., 2017). Хромосомаси бошқа турдан алмаштирилган рекомбинант инбред линиялар (РИЛ) популяциялари ягона хромосомаларга хос бўлган қимматли хўжалик белгиларни аниқлашда муҳим ҳисобланади (S. Saha et al., 2006; J.N. Jenkins et al., 2006). Шу кунга қадар алмаштирилган ягона хромосомаларга хос бўлган РИЛ популяциялари помидор (Y. Eshed et al., 1994), шолғом (X. Li et al., 2015), маккажўхори (S.J. Szalma et al., 2007), соя (W.T.B. Thomas et al. 1995), буғдой ва шоли (S.B. Liu et al., 2006; W.Y. Zhu et al., 2009; M.L. Ali et al., 2010; W. Qiao et al., 2016) каби қишлоқ хўжалиги экинларида яратилиб, уларда кўплаб ДНК маркерлари аниқланган.

Мамлакатимиз ғўза гермоплазма коллекциялари 32580 та маданийлашган, келиб чиқиши турли минтақаларга мансуб бўлган нав ва нав намуналаридан иборат (И.Ю. Абдурахмонов 2014). И.Ю. Абдурахмонов (2008, 2009) томонидан *G.hirsutum* L. турининг келиб чиқиши бўйича 37 мамлакат ва 8 селекцион экотипга тегишли бўлган 1000 дан ортиқ нав ва нав намуналарида тола сифати белгилари молекуляр генетик таҳлил қилинган. Ўзбекистонда А. Абдукаримов, З.Т. Буриев (2010-2011), Ф.Н. Кушанов (2016, 2017), А.А. Абдуллаев (2015-2017) каби олимлар тадқиқотларида ғўзанинг кўплаб қимматли хўжалик белгиларига генетик боғланган ДНК маркерлари идентификация қилинган.

Бугунги кунга қадар ғўзада ягона хромосомага хос бўлган РИЛ популяциясини яратиш ва улар асосида қимматли хўжалик белгиларни

бошқарувчи QTL локуслар/генларни аниқлаш бўйича тадқиқотлар олиб борилмаган.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқотлари Геномика ва биоинформатика маркази илмий-тадқиқот ишлари режасининг Ф5-Т030 “Инновацион биотехнологияларни ривожлантириш учун устувор кишлок хўжалиги экинларининг геномларини тадқиқ қилиш” (2012-2016 йй.) мавзусидаги фундаментал лойиҳа доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади ғўзада хромосомаси алмаштирилган популяция яратиш ва қимматли хўжалик белгиларини ДНК маркерлари асосида молекуляр тавсифлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

ғўзанинг хромосомаси алмаштирилган линиялари тўпламидан тола сифати юқори бўлган линияни танлаш ва тола сифати нисбатан паст бўлган маҳаллий АН-Боёвут-2 ғўза нави билан дурагайлаш;

олинган иккинчи авлод дурагайларининг ҳар бирини олтинчи авлодгача ягона аждод уруғдан келиб чиқиш (SSD) усулида ўз-ўзига чанглантририш йўли билан рекомбинант инбред линиялар (РИЛ) популяциясини яратиш;

ғўзанинг ушбу РИЛ популяцияси, ота-она ва назорат генотипларини агрономик ва тола сифат белгиларини баҳолаш;

ғўза SSR (оддий такрорланувчи нуклеотидлар изчиллиги) микросателлит маркерлар тўпламидан фойдаланиб, популяция ота-она генотиплари ўртасида генетик полиморфизмни аниқлаш;

аниқланган полиморф ДНК маркерлари ёрдамида РИЛ популяциясини ПЗР усулида генотиплаш;

РИЛ популяциясини ДНК маркерлари билан тадқиқ этишдан олинган генотипик маълумотлар асосида популяциянинг генетик харитасини тузиш, улар билан агрономик ва тола сифат белгилари ўртасидаги генетик боғлиқликни аниқлаш мақсадида микдорий белгилар локусларини QTL хариталаш;

биоинформатик усуллар ёрдамида аниқланган QTL локусларнинг геном худудларидаги номзод ген ва оксилларни аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида ғўзанинг хромосомаси алмаштирилган CS-B22 линияси, маҳаллий АН-Боёвут-2 ғўза нави, уларни дурагайлаш йўли билан яратилган РИЛ популяцияси ҳамда назорат ТМ-1 (*G.hirsutum* L.) ва 3-79 (*G.barbadense* L.) линияларидан фойдаланилди.

Тадқиқотнинг предмети ғўзанинг микросателлит маркерлар тўпламидан фойдаланиб, агрономик ва тола сифат белгиларини молекуляр хариталаштириш ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотни бажариш жараёнида ғўза генетикасининг анъанавий усулларида, геномика, статистика ва биоинформатиканинг замонавий усулларида фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор республика пахтачилигида ғўза геномини тадқиқ этишда хромосомаси алмаштирилган линияларни қўллаб, қимматли хўжалик белгиларни бошқарувчи QTL локуслар/генлар аниқланган;

ғўзада толанинг сифат белгилари, хусусан, тола узунлиги, пишиқлиги ва чўзилувчанлиги ҳамда агрономик белгилардан битта кўсакдаги пахта оғирлиги ва тола индекси каби белгилари билан генетик бириккан BNL1030, BNL4028, BNL1414, Gh247, BNL1317, Gh118, TMB0812, BNL3660 ва BNL0946 маркерлари аниқланган;

РИЛ популяциясида миқдорий белгилар локуслари (QTL)ни хариталаш асосида тола сифати ва агрономик белгилар билан бириккан 28 та QTL локуслари аниқланган;

аниқланган QTL локусларидан иккитаси тола сифати ва тўрттаси агрономик белгилар бўйича барқарор локуслар эканлиги исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси қуйидагилардан иборат:

ғўзада ягона хромосомаларга хос ва генетик хилма-хилликка эга бўлган РИЛ популяцияси яратилган ҳамда уларда тола сифати ва агрономик белгилари QTL хариталаштирилган;

тола сифати ва агрономик белгилар билан генетик бириккан 28 та QTL локуслари BNL1030, BNL4028, BNL1414, Gh247, BNL1317, Gh118, TMB0812, BNL3660 ва BNL0946 маркерлари ёрдамида идентификация қилинган;

ушбу QTL локуслари билан генетик бириккан ДНК маркерлари МАС технологияси ёрдамида серхосил ва тола сифати юқори бўлган янги ғўза навларини яратишга тақдим этилган;

РИЛ популяциясидан битта кўсакдаги пахтанинг оғирлиги 7,0-8,2 г, тола чиқими 38,0-43,2 %, тола микронейри 3,9-4,5, тола пишиқлиги 37,0-44,5 гс/текс ва тола узунлиги 1,17-1,22 дюйм бўлган йигирмадан ортиқ линиялар ажратиб олиниб, янги ғўза навларини яратишда қимматли донор линиялар сифатида фойдаланишга тақдим этилган;

РИЛ популяцияси келгусида биотик ва абиотик стресс омилларга чидамлилигини тадқиқ қилиш учун қимматли манба сифатида Геномика ва биоинформатика марказининг Ғўза гермоплазмаси бўйича ноёб объектига тақдим этилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги илмий ишда замонавий усул ва ёндашувлардан фойдаланилганлиги, хусусан, популяциянинг генетик харитасини тузишда *Join Map*, миқдорий белгилар локусларини хариталашда *QTL Cartografer* ва аниқланган QTL локусларни график диаграммасини тузишда *Map Chart* компьютер дастурларидан фойдаланилганлиги, олинган агрономик ва тола сифат маълумотларини статистик қайта ишлашда *R*-статистик дастуридан фойдаланилганлиги, шунингдек, илмий тадқиқот натижаларининг халқаро ва республика илмий-амалий анжуманлардаги муҳокамаси, кўп йиллик изланишлар натижасида яратилган ғўзанинг ягона хромосомасига хос бўлган РИЛ популяцияси Геномика ва биоинформатика марказидаги Ғўза гермоплазмаси бўйича ноёб объектда сақланаётганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти республика пахтачилигига биринчи мартаба хромосомаси алмаштирилган линияларни қўллаб, қимматли хўжалик белгиларни бошқарувчи QTL/генларни аниқлашда муҳим бўлган ва кенг генетик хилма-хилликка эга РИЛ популяциялари яратилганлиги, улардаги генетик ва фенотипик хилма-хилликлар статистик таҳлиллар асосида баҳоланганлиги, қишлоқ хўжалигида муҳим бўлган агрономик ва тола сифати белгилари билан генетик бириккан 28 та QTL-локусларини хариталаштирилганлиги, ғўза генетик харитасидан фойдаланиб маркерланган бирикиш гуруҳлари ғўзанинг қайси хромосомасига хос эканлиги аниқланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти яратилган РИЛ популяцияси генларни хариталаштиришда қимматли манба сифатида фойдаланиш мумкинлиги, идентификация қилинган ДНК маркерларининг МАС дастурига тадбиқ қилиниши натижасида, қисқа муддатларда ҳосилдор ва толаси сифати юқори бўлган янги ғўза навларини яратишнинг имкони яратилгани билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Ғўзада хромосомаси алмаштирилган линия иштирокида РИЛ популяциясини яратиш ва уларда қимматли хўжалик белгиларни QTL хариталаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

хромосомаси алмаштирилган (CS-B) линияларда аниқланган ва маълум бир хромосомага хос бўлган юздан ортиқ ДНК маркерлари 201405-NSF_CECS “Ғўзанинг CS-B, CS-T ва CS-M линияларида алмаштирилган хромосомаларни ДНК маркерлар ёрдамида молекуляр тасдиқлаш” лойиҳасида бошқа ғўза турларидан алмаштирилган хромосомаларни молекуляр тасдиқлаш учун фойдаланилган (АҚШ Қишлоқ хўжалиги департаментининг 2018 йил 25 майдаги маълумотномаси). Натижада ғўзанинг хромосомаси алмаштирилган CS-B (*G.barbadense*), CS-T (*G.tomentosum*) ва CS-M (*G.mustelinum*) линияларидаги алмаштирилган хромосомаларни аниқлаш имконини берган;

маълум бир хромосомаларга хос бўлган ДНК маркерлари Ф-5-31 рақамли “Моносомлари бир хил шаклга келтирилган ва тартибли рақамланган *Gossypium hirsutum* L. ғўзасининг моносом линиялари тўплами ёрдами билан маркерли генларнинг хромосомада жойлашувини аниқлаш” лойиҳасида нуқсонли хромосомаларни идентификация қилишда фойдаланилган (Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2018 йил 24 майдаги 89-03-2006-сон маълумотномаси). Натижада ғўзанинг моносомик линияларида нуқсонли хромосомаларни аниқлаш имконини берган;

ягона хромосомага хос бўлган РИЛ популяцияси республикада етакчи бўлган “Геном технологиялари асосида яратилган ноёб ғўза ва бошқа экинлар генофонди” ноёб объектига киритилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академиясининг 2018 йил 18 майдаги 4/1255-1301-сон маълумотномаси). Натижада РИЛ популяцияси ғўза гермоплазмаси

коллекциясини бойитиш ва генетик хилма-хиллигини ошириш учун хизмат қилган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 12 та, жумладан, 3 та халқаро ва 9 та республика илмий-амалий анжуманларида моҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 19 та илмий иш чоп этилган. Улардан 7 таси илмий мақола бўлиб, жумладан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан докторлик диссертациясининг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 7 та, улардан 5 таси республика, 1 таси халқаро журналда ва 1 таси ЎзР ОАК раёсати томонидан халқаро журналларда нашр этилган мақолаларга тенглаштирилган халқаро анжуманлар материалларида чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса ва адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертация ҳажми 90 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида тадқиқотнинг долзарблиги ва аҳамияти асосланган, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари, объекти ва предмети тавсифланган, тадқиқотнинг Республика фан ва технологияларни ривожлантиришнинг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг амалий натижалари ва илмий янгилиги келтирилган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти ёритилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий этилиши, нашр қилинган ишлар ва диссертациянинг тузилиши ҳақида маълумотлар берилган.

Диссертациянинг **“Ўзбекистон пахтачилигида хромосомаси алмаштирилган (CS-B) линияларнинг қўлланиши”** мавзусидаги биринчи бобида Ўзбекистон ғўза гермоплазма коллекцияларининг яратилиши, тарихи, ғўзанинг турли линия ва навларини яратишда кенг генетик хилма-хилликка эга бўлган гермоплазманинг аҳамияти ҳақида олиб борилган тадқиқотлар ёритилган. Шунингдек, ғўзада хромосомаси алмаштирилган (CS) линияларни яратиш усули, уларнинг ғўза селекциясидаги аҳамияти, мазкур линиялар ёрдамида ягона хромосомага хос бўлган рекомбинант инбред линиялар (РИЛ) популяциясини яратилиши ва уларни қимматли хўжалик белгиларга жавоб берувчи генларни хариталашдаги аҳамияти баён этилган. Бундан ташқари ғўза геномини тадқиқ этишда ДНК маркерларини роли хусусан, ғўзанинг генетик харитасини тузишда, генларни хромосомадаги ўрнини аниқлашда, генетик хилма-хилликни баҳолашда ва қишлоқ хўжалигидаги муҳим белгиларни хариталаш ва уларга алоқадор бўлган генларни аниқлашга бағишланган тадқиқотлар ёритилган. Шунингдек, ғўзада микдорий белгиларни хариталашда популяцияларнинг аҳамияти ва келиб чиқиши турлича бўлган популяцияларда агрономик ва тола сифати, ҳосилдорлик,

турли касаллик ва зараркунандаларга чидамлилик каби белгиларни QTL хариталашга бағишланган тадқиқотлар ёритилган.

Диссертациянинг **“Тадқиқот ўтказилган жой ва шароити, манбаи ва услублари”** деб номланган иккинчи бобида олиб борилган тадқиқотларнинг манбаи ва уларнинг тавсифлари, тадқиқот ўтказиш услублари, тажриба олиб бориш жойи ва шароити, лаборатория ва дала шароитида генетика ва геномика усуллари амалга ошириш борасидаги ишлар, олинган натижаларни таҳлил қилишда қўлланилган статистик услублар каби маълумотлар баён қилинган. Тажрибалар 2012-2017 йиллар мобайнида Геномика ва биоинформатика маркази лабораторияси, Махсус уруғчилик хўжалигида олиб борилганлиги келтирилган.

Диссертация ишини бажаришда фойдаланилган ўсимлик материаллари, реагентлар ва ускуналар, ягона хромосомага хос бўлган РИЛ популяциясини яратиш усули, уларни агрономик ва тола сифати белгилари бўйича баҳолаш, ўсимлик тўқимасидан геном ДНКларни ажратиш усули, полимераза занжир реакцияси (ПЗР), гель-электрофорез, ПЗР маҳсулотини генотиплаш, ҳамда микдорий белгилар локусларини (QTL) молекуляр-генетик хариталаштириш ва статистик усулларнинг қисқача тавсифи келтирилган.

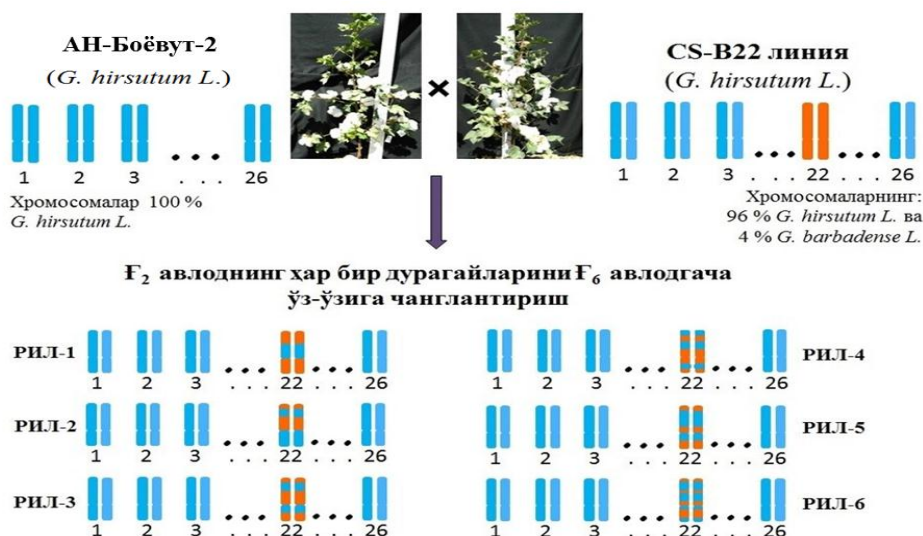
Диссертациянинг **“Ѓўзада хромосомаси алмаштирилган генетик хариталаш популяциясининг яратилиши ва унинг агрономик ҳамда тола сифат белгиларини баҳолаш”** мавзусидаги учинчи бобида ғўзада қимматли хўжалик белгиларга жавоб берувчи QTL локус/генларни хариталашда муҳим бўлган генетик хариталаш популяциясини яратиш учун ота-она шакллари танлаш, РИЛ популяциясини яратиш, уларда агрономик ва тола сифат белгиларини ўрганиш ҳамда ушбу белгиларни статистик таҳлил қилиш бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари келтирилган.

Мазкур бобнинг биринчи бўлимида ғўзанинг хромосомаси алмаштирилган CS-B22 линияси ва маҳаллий АН-Боёвут-2 нави иштирокида ягона хромосомага хос бўлган РИЛ популяциясини яратиш бўйича амалга оширилган тадқиқотлар келтирилган. РИЛ популяциясини яратиш учун ота-она намуналари сифатида хромосомаси алмаштирилган CS-B22 линияси ва маҳаллий АН-Боёвут-2 ғўза нави танлаб олинди. Ота-она шакллари иштирокида олинган иккинчи авлод дурагайлариининг ҳар бири SSD (*ингл.* single seed descent - ягона аждод уруғдан келиб чиқиш) усулидан фойдаланиб, олтинчи авлодга қадар ўз-ўзига чанглантириш орқали ягона хромосомага хос бўлган рекомбинант инбред линиялар (РИЛ) популяцияси яратилган (1-расм).

Яратилган РИЛ популяциясининг ҳар бир линияси алмаштирилган хромосоманинг гомозиготалашган кичик рекомбинант сегментларига эга бўлиб, кенг генетик хилма-хилликни намоён этди. Бундай популяциялар алоҳида бир хромосоманинг кичик рекомбинант сегментлари билан боғлиқ бўлган сифат ва микдор белгиларни молекуляр механизмларини ўрганишда муҳим ҳисобланади.

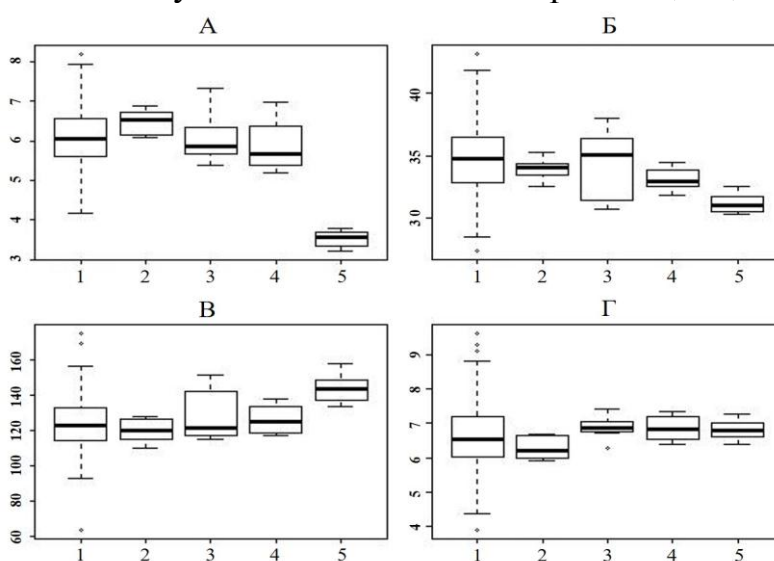
Мазкур бобнинг иккинчи бўлимида РИЛ популяциясининг агрономик белгиларини баҳолаш натижалари ёритилган. Популяциянинг ҳар бир

линиясида битта кўсаддаги пахта оғирлиги, тола узунлиги, чиқими, индекси ва 1000 та чигит оғирлиги кўрсаткичлари келтирилган.



1-расм. РИЛ популяцияни яратиш усули ва алмаштирилган хромосоманинг рекомбинант инбред линиялардаги кўриниши

Олинган маълумотларнинг статистик таҳлили *R-статистик* компьютер дастурида амалга оширилди (2-расм). Таҳлил натижаларига кўра, РИЛ популяцияси бу белгилар бўйича кенг генетик хилма-хилликни намоён этди. Хусусан, популяциянинг ота-она шакллари бўлган АН-Боёвут-2 (оналик шакли) нави ва CS-B22 (оталик шакли) линиясида битта кўсаддаги пахтанинг оғирлиги мос равишда 6,5 ва 6,1 г тенг бўлса, РИЛ популяциясида 6,2 г (стандарт хатолик=0,03) ташкил этди. Ушбу белгининг РИЛ популяцияси генотипларидаги минимал ва максимал кўрсаткичи 4,2-8,2 г оралиғида бўлиб, унинг ўзгарувчанлик коэффиценти 12,5 % га тенг бўлди. Популяциянинг 20 % генотипларида битта кўсаддаги пахтанинг оғирлиги 6,5-7,8 г тенг бўлган.

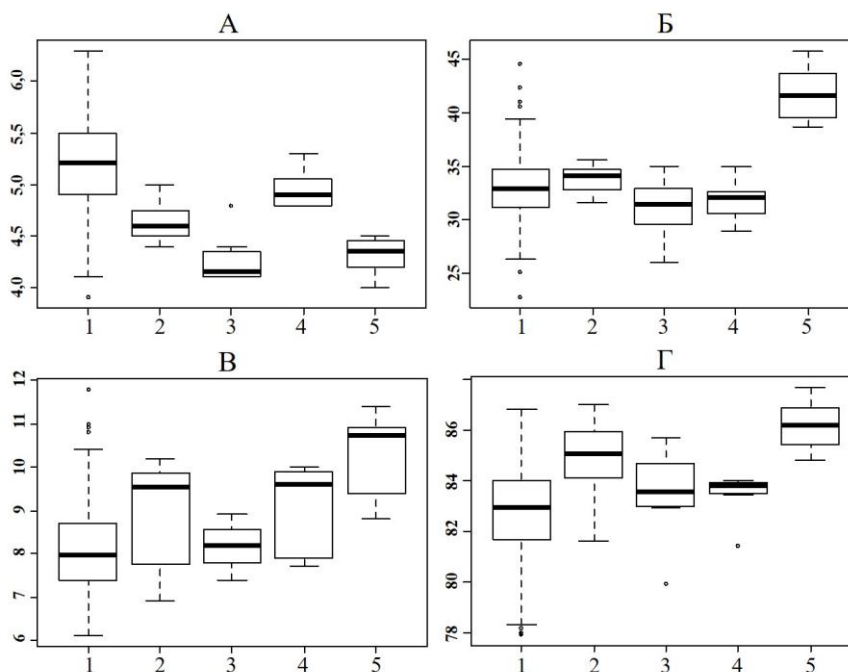


2-расм. Агрономик белгилар кўрсаткичининг статистик таҳлили.

А-битта кўсаддаги пахтанинг оғирлиги (грамм), Б-тола чиқими (%), В-1000 та чигит оғирлиги (грамм), Г-тола индекси (грамм), 1-РИЛ популяцияси, 2-АН-Боёвут-2, 3-CS-B22, 4-ТМ-1 (назорат) линияси, 5-3-79 (назорат) линияси.

Тола чиқими кўрсаткичи ота-она генотипларида бир-бирига яқин, яъни 34,0 ва 34,3 % га тенг бўлса, РИЛ популяциясида ушбу белги ўзгарувчанлик кўлами 27,3-43,2 %, ўртача кўрсаткичи 35,0 %, ўзгарувчанлик коэффиценти 7,9 % ни ташкил этди. 1000 дона чигит оғирлиги белгиси кўрсаткичлари РИЛ популяцияси, унинг ота-она шакллари ва назорат ТМ-1 линиясида бир-бирига яқин (120-128 г) кўрсаткичга эга бўлган бўлса, назорат 3-79 линиясида 144 г ташкил этди. Ушбу белги бўйича кенг хилма-хиллик кузатилиб, минимал ва максимал кўрсаткичлар 102,0-151,0 г ташкил этган ҳолда, ўзгарувчанлик коэффиценти 11,1 % га тенг бўлди. 1000 дона чигит оғирлиги 141-151 г оралиғида бўлган рекомбинант инбред линиялар РИЛ популяциясининг 12 % шакллари ташкил этади. Тола индекси бўйича ота-она шакллари ўртасида сезиларли фарқ мавжуд бўлиб, 6,3 ва 6,9 г тенг бўлган. Мазкур белги бўйича РИЛ популяциясининг умумий ўртача кўрсаткичи 6,6 г ташкил этиб, реципиент АН-Боёвут-2 навиға нисбатан яхши кўрсаткични намоён этди. РИЛ популяциясида тола индексининг минимал ва максимал кўрсаткичи 3,9-9,7 г, ўзгарувчанлик коэффиценти эса 12,9 % га тенг бўлди. РИЛ популяциянинг 25 % генотипларида тола индекси 7,1-8,5 г ташкил этди.

Учинчи бобнинг учинчи бўлимида тола сифати белгиларини баҳолаш натижалари ёритилган. Тола сифати маълумотлари *R-статистик* компьютер дастурида статистик таҳлил қилинди (3-расм).



3-расм. Тола сифат кўрсаткичларини қиёсий таҳлили.

А-тола микронейри, Б-тола пишиқлиги (гс/текс), В-тола элонгацияси (%), Г-толанинг бир хиллиги, 1-РИЛ популяцияси, 2-АН-Боёвут-2, 3-CS-B22, 4-ТМ-1 (назорат) линияси, 5-3-79 (назорат) линияси.

Тола сифати белгиларининг статистик таҳлили РИЛ популяциясида улар бўйича кенг генетик хилма-хиллик мавжудлигини кўрсатди. Хусусан, тола микронейрининг РИЛ популяциясидаги минимал ва максимал кўрсаткичи 3,9-6,3 оралиғида бўлиб, ўртача кўрсаткичи 5,1 ни, ўзгарувчанлик коэффиценти

эса 8,4 % га тенг бўлди. Ушбу белги бўйича ота-она шакллари фаркланиб, кўрсаткичлар мос равишда 4,6 ва 4,2 ни ташкил этди. CS-B22 линиясида тола микронейрининг ижобий 4,2 кўрсаткичи назорат, яъни ингичка толали 3-79 линияси кўрсаткичи билан жуда яқин бўлиб, 14 % РИЛ популяциясида тола микронейри 3,9-4,5 ни ташкил этди.

Тола пишиқлиги АН-Боёвут-2 нави ва CS-B22 линиясида сезиларли даражада фаркланиб, мос равишда 33,8 ва 31,1 гс/текс кўрсаткични, РИЛ популяциясида эса умумий ўртача кўрсаткич 33,8 гс/текс, кўлами 31,6-35,6 гс/текс ва ўзгарувчанлик коэффиценти эса 9,7% ни ташкил этди. РИЛ популяциясининг 21% линияларида тола пишиқлиги 37,5-44,5 гс/текс га тенг бўлди. Шунингдек, тўқимачилик саноатида муҳим бўлган тола чўзилувчанлиги белгиси бўйича ҳам ота-она шакллари ўртасида кенг хилма-хиллик кузатилиб, АН-Боёвут-2 навида 9,5 ва CS-B22 линиясида 8,2%ни ташкил этди. Популяцияда тола чўзилувчанлигининг ўртача кўрсаткичи 8,1%, минимал ва максимал кўрсаткичи 6,1-11,8% ва ўзгарувчанлик коэффиценти эса 12,7%га тенг бўлди. Тола чўзилувчанлиги кўрсаткичи 9,5-11,8%га тенг бўлган линиялар популяциянинг 36% ини ташкил этди. Ўз навбатида толанинг бир хиллиги бўйича ота-она шакллари бир-бири билан сезиларли фаркланиб, кўрсаткич мос равишда 84,8 ва 83,5%, РИЛ популяция 82,8% бўлиб, минимал ва максимал кўлами 77,7-86,8%, ва ўзгарувчанлик коэффиценти 1,9% га тенг бўлди.

Диссертациянинг **“Ўзанинг РИЛ популяциясида QTL локусларини хариталаш ва биоинформатик таҳлиллар”** мавзусидаги тўртинчи бобида популяциянинг ота-она генотиплари ўртасида полиморф маркерларни аниқлаш ва улар ёрдамида популяция линияларини генотипик баҳолаш, популяция генетик харитасини тузиш, қимматли хўжалик белгилар билан боғлиқ бўлган QTL локусларни хариталаш ҳамда ушбу локуслар ва уларга яқин бўлган геном регионларида мавжуд номзод ген ва оқсилларни аниқлаш бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари ёритилган.

Тўртинчи бобнинг биринчи бўлими SSR микросателлитлар ёрдамида РИЛ популяцияси ота-она генотиплари ўртасида генетик полиморфизмни баҳолаш таҳлилларига бағишланган. Бунда АН-Боёвут-2 ва CS-B22 жами бўлиб, 845 та микросателлит маркерлар тўплами (BNL, CIR, JESPR, NAU, TMB, Gh, CM) билан ПЗР усулида текширилди (1-жадвал).

ПЗР таҳлили натижаси ота-она намуналарида 54 та ДНК маркери бўйича генетик полиморфизм мавжуд эканлигини кўрсатди.

Тўртинчи бобнинг иккинчи бўлимида ота-она шакллари ўртасида полиморфизмни намоён этган маркерлар ёрдамида РИЛ популяциясини ПЗР усулида скрининг қилиш ва генотипик жиҳатдан баҳолаш бўйича ўтказилган тадқиқот натижалари тасвирланган.

Ота-она шакллари ўртасида полиморфизмни намоён этган 54 та SSR микросателлит маркерлар ёрдамида РИЛ популяциясининг 93 та

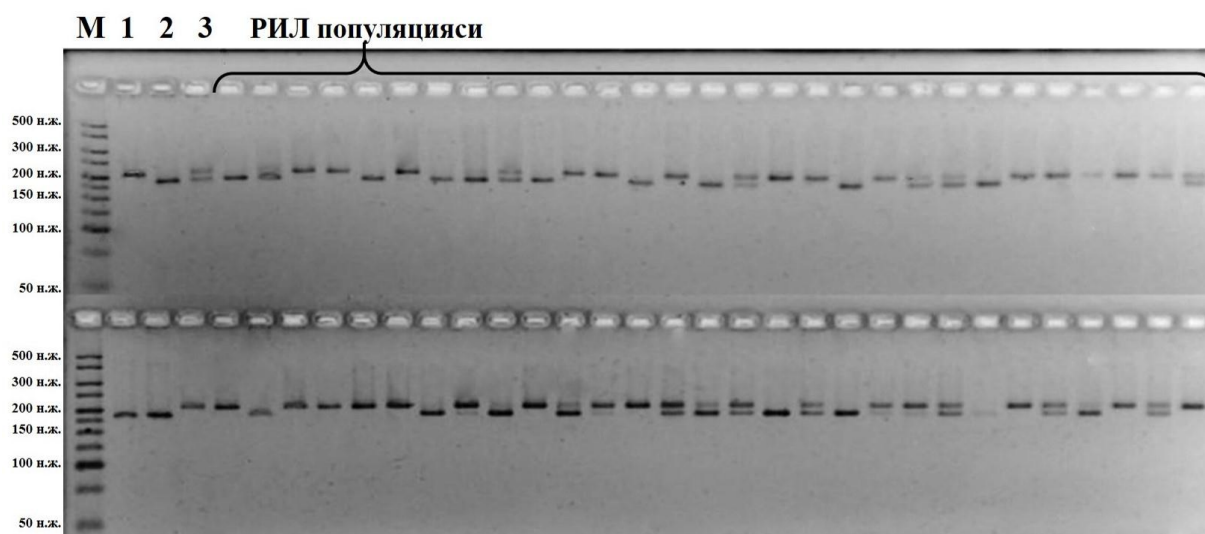
рекомбинант инбред линиялари ПЗР усулида скрининг қилиб, генотипик баҳоланди (1-жадвал, 4-расм). РИЛ популяцияси линияларини полиморф маркерлар билан генотипик жиҳатдан баҳолаш амплификацияланган локусларни қайси ота ёки она генотипларидан келиб чиқишига қараб амалга оширилди.

1-жадвал.

Ота-она шаклларини ПЗР скрининг қилишда фойдаланилган SSR маркерлар.

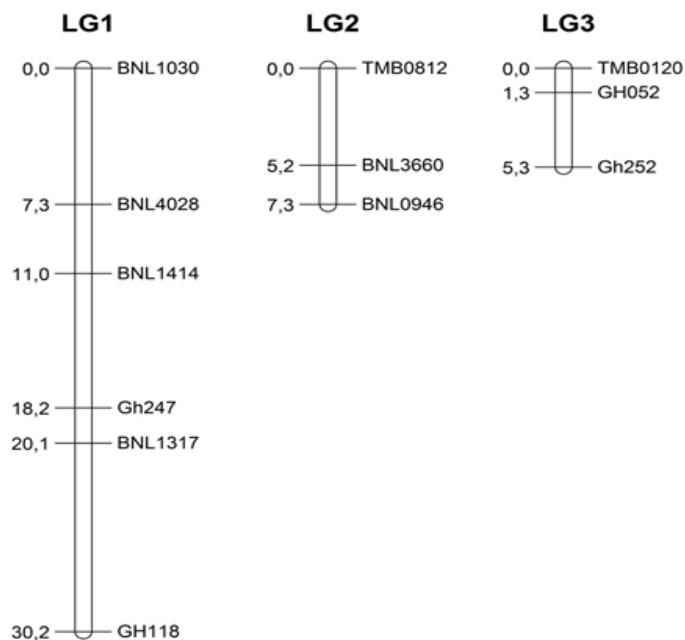
SSR праймерлар	Амплификация бўлган праймерлар	Полиморф маркерлар	Мономорф праймерлар	Амплификация бўлмаган праймерлар
BNL	256	23	193	40
CIR	111	1	83	27
CM	16	0	13	3
Gh	48	6	33	9
JESPR	80	2	36	42
NAU	169	11	149	9
TMB	165	11	121	33
Жами	845	54	628	163

Унга кўра, РИЛ популяциясининг линияларида ҳар бир маркер ампликони оналик шакли (АН-Боёвут-2 нави) каби ампликонга эга бўлса “а” генотип, оталик шакли CS-B22 линиянинг ампликонига ўхшаш бўлса “b” – генотип, F₁ дурагай ўсимликдаги каби ҳар икки ота-она ампликони бўлса “h” – генотип, ота-она шакллари ампликонидан қисман фарқли тарзда бўлса “c” ёки “d” – генотип деб белгиланган. РИЛ популяциясини 54 та полиморф маркерлар билан ПЗР скрининг қилиниши натижасида 5022 та локус амплификацияланиб, 37,7 % “а” генотип, 48,1 % “b” – генотип, 11,5 % “h” – генотип ва 2,7 % “c” ёки “d” – генотипга эга эканлиги аниқланди.



4-Расм. РИЛ популяциясининг ТМВ-1660 полиморфик маркери ёрдамида амплификацияланган ПЗР маҳсулоти электрофореграммаси.

Мазкур бобнинг учинчи бўлимида олинган генотипик маълумотлар асосида популяциянинг генетик харитасини тузишга доир бажарилган тадқиқотлар келтириб ўтилган. РИЛ популяцияни ПЗР скрининг қилиниши натижасида жамланган генотипик маълумотлар ва *JoinMap* компьютер дастуридан фойдаланиб, популяциянинг генетик харитаси тузилди. Унга кўра, 3 та бирикиш гуруҳлари (LG-linkage group) аниқланди (5-расм).



5-расм. РИЛ популяциясининг генетик харитаси. LG1 – 9-хромосома, LG2 – 20-хромосома, LG3 – 22-хромосома.

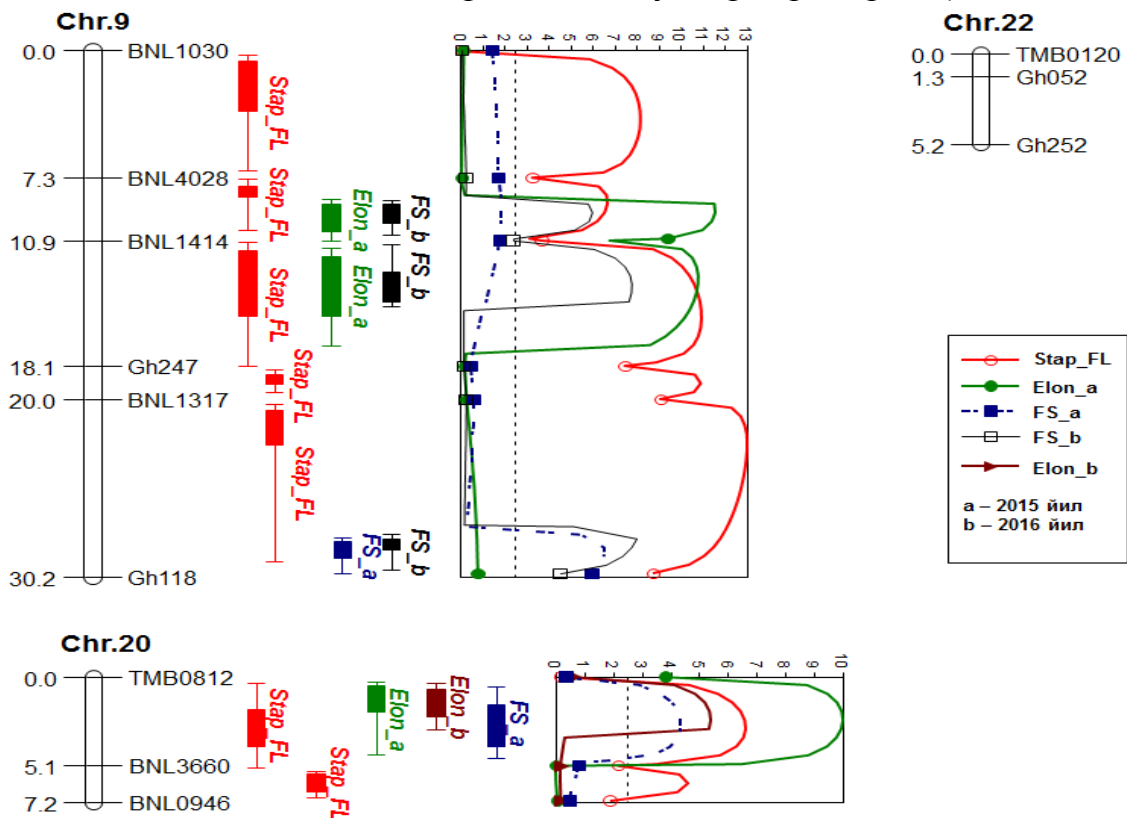
РИЛ популяциясининг генетик харитасини тузишда фойдаланилган 54 та маркерлардан бир нечта бирикиш гуруҳлари ҳосил бўлган бўлиб, улардан LOD (*ингл.* logarithm of odds - ишонччилик даражаси) қиймати 10,0 дан юқори бўлган учтаси кейинги тадқиқотлар учун танлаб олинди. Мазкур бирикиш гуруҳлари 12 та маркерни ўз ичига олган бўлиб, миқдорий белгилар локусларини аниқлашда фойдаланилди.

Тўртинчи бобнинг тўртинчи бўлимида РИЛ популяциясида агрономик ва тола сифати белгилари билан боғлиқ бўлган QTL локусларини хариталаш бўйича олиб борилган тадқиқотлар ёритилган.

РИЛ популяциясининг генетик харитасини тузишда аниқланган бирикиш гуруҳлари ва унда жойлашган маркерлар билан бу популяцияни тадқиқ қилинишидан олинган агрономик ва тола сифат белгилари ўртасида боғлиқликни аниқлаш учун QTL локусларини хариталаш ишлари *Win QTL Cartographer* компьютер дастурида амалга оширилди. Натижада, 9 ва 20-хромосомаларда жойлашган маркерлар билан тола сифати ҳамда агрономик белгилар ўртасида жами 28та QTL локусларини аниқлашга эришилди. Ушбу QTL локуслардан 16 таси тола сифати белгилари билан, қолган 12 таси агрономик белгилар билан генетик бириккан локуслардир.

Олинган натижаларни график тасвири *MapChart* компьютер

дастури ёрдамида бажарилди. Тола сифати белгилари билан бириккан локусларнинг 11 таси 9-хромосомада ва 5 таси 20-хромосомада жойлашган. Аниқланган барча QTL локусларда LOD қиймати 4,5-13,1 гача бўлиб, уларнинг ишончлилик қиймати юқорилигини кўрсатади. 9-хромосомада жойлашган QTL локуслардан 5 таси толанинг штапель узунлиги билан, 2 таси тола чўзилувчанлиги ва 4 таси тола пишиқлиги билан бириккан бўлса, 20-хромосомада жойлашган QTL локусларнинг 2 таси толанинг штапель узунлиги билан, 2 таси тола чўзилувчанлиги ва 1 таси тола пишиқлиги билан бириккан локуслардир (6-расм).

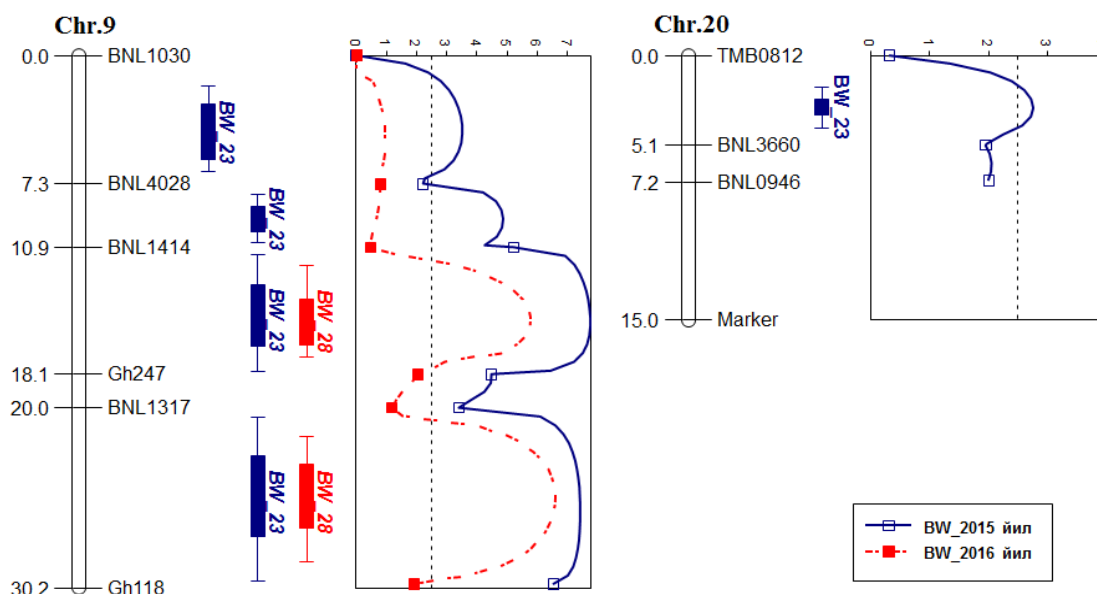


6-расм. РИЛ популяциясида тола сифат белгилари билан генетик бириккан QTL локусларининг харитаси. Stap_FL – толанинг штапель узунлиги, Elon_a – тола чўзилувчанлиги (2015), Elon_b – тола чўзилувчанлиги (2016), FS_a – тола пишиқлиги (2015), FS_b – тола пишиқлиги (2016).

Маълум бир белгининг икки ва ундан ортиқ муҳит ҳамда йиллардаги маълумотлари хромосоманинг айнан бир регионда такрорий ҳосил қилинган QTL локуслари барқарор локуслар бўлиб, ушбу регионда ҳақиқатда ҳам мазкур белгига алоқадор генлар жойлашганлигини кўрсатади. Тадқиқотларимизда, бундай барқарор QTL локуслардан икки жуфти тола пишиқлиги ва чўзилувчанлиги белгиларининг икки йиллик маълумотлари билан ассоциацияланган BNL1317-Gh118 (LOD=6,3-7,5) ва TMB0812-BNL3660 (LOD=5,3-10,0) маркерлар оралиғида аниқланган.

Шунингдек, РИЛ популяциясида агрономик белгилар (битта кўсакдаги пахтанинг оғирлиги, тола чиқими, индекси ва 1000 та чигит оғирлиги)нинг QTL хариталаштириши натижасида 12 та локуслар аниқланиб, улардан 7 таси битта кўсакдаги пахта оғирлиги ва 5 таси тола индекси

белгиси билан ассоциацияланганлиги аниқланди. РИЛ популяциясида битта кўсақдаги пахтанинг оғирлиги белгиси билан генетик бириккан 7 та QTL локуслари мавжудлиги, улардан 6 таси 9-хромосомада ва 1 таси 20-хромосомада жойлашганлиги аниқланди (7-расм).



7-расм. РИЛ популяциясида битта кўсақдаги пахтанинг оғирлиги (BW) билан генетик бириккан QTL локусларининг харитаси.

Битта кўсақдаги пахта оғирлиги белгиси билан генетик бириккан QTL локуслардан икки жуфти BNL1414-Gh247 (LOD=5,8-7,8) ва BNL1317-Gh113 (LOD=6,6-7,4) маркерлари оралиғида жойлашган бўлиб, улар ушбу белгининг икки йиллик (2015-2016 йй) маълумотлари билан геномнинг икки ҳудудида барқарор QTL локусларни ҳосил қилганлиги аниқланди.

Бундан ташқари 9-хромосомада тола индекси белгиси билан генетик бириккан бешта QTL локуслари аниқланди. Ушбу белгини икки йиллик маълумотлари асосида хромосоманинг икки региониди BNL1414-Gh247 (LOD=3,5-7,9) ва BNL1317-Gh113 (LOD=3,6-8,4) маркерлар оралиғида икки жуфт барқарор QTL локуслар мавжудлиги аниқланди.

Тадқиқотларимизда тола сифати ва агрономик белгилар билан генетик бириккан QTL локусларига эга ДНК маркерлари мавжудлиги хориж олимларининг маълумотларига мос келади.

Диссертациянинг **“Аниқланган QTL локуслар геном регионларида биоинформатик таҳлиллар ўтказиш”** мавзусидаги бешинчи бобида аниқланган QTL локуслар ва унинг геномдаги қўшни регионларида номзод ген ва оксилларни аниқлашга бағишланган тадқиқотлар ёритилган.

Мазкур бобнинг биринчи бўлимида хўжалик қимматли белгиларга генетик бириккан ДНК маркерлари ва *G.hirsutum* L. ғўза геноми маълумотлар базасидан фойдаланиб, *In silico* PCR усулида тегишли маркерни локуслари амплификация қилинганлиги баён қилинган. ДНК

маркер локусларини *In silico PCR* усулида амплификация қилишда UGENE 1.20.0 компьютер дастури, *G.hirsutum* L. ғўза геноми маълумотлар базаси ва ҳар бир маркернинг тўғри ҳамда тесқари йўналувчи нуклеотидлар кетма-кетлиги маълумотлари ёрдамида амалга оширилади. Тадқиқотда тола сифати ва агрономик белгилар билан генетик бириккан 9 та ДНК маркерлардан фойдаланиб, уларнинг ғўза геноми маълумотлар базасидаги локуслари ва ушбу локусларга икки ён томонидан қўшни бўлган 50 мингдан нуклеотид кетма-кетлиги, жами бўлиб 100 мингдан ортиқ нуклеотидлар кетма-кетлиги аниқланди.

Бобнинг иккинчи бўлимида ҳар бир маркер бўйича олинган нуклеотидлар кетма-кетлиги маълумотлари AUGUSTUS ва BLAST веб-дастурлари ёрдамида таҳлил қилиниб, номзод ген ва оқсилларни аниқлаш бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари ёритилган. Ушбу бўлимда QTL локусларни аниқлашда иштирок этган ҳар бир маркернинг ғўза геномидан олинган 100 мингдан ортиқ нуклеотидлар кетма-кетлиги маълумотлари AUGUSTUS деб номланган веб-дастури ёрдамида таҳлил қилинди. Унга кўра, 8 та маркернинг 114 та номзод ген ва оқсилларга боғлиқ эканлиги аниқланди.

Ушбу бобнинг учинчи бўлимида аниқланган номзод ген ва оқсилларни тавсифлаш натижалари баён қилинган. Тадқиқотда қимматли хўжалик белгилари билан бириккан ДНК маркерлари ва уларнинг геномдаги ҳудудларида ҳақиқатдан ҳам муҳим ген ва оқсиллар мавжудлиги аниқланди. Хусусан, BNL0946 маркерининг геномдаги қўшни ҳудуд нуклеотидлари таҳлил қилинганда, ушбу ҳудудда бешта ген мавжуд эканлиги аниқланди. Ўз навбатида ушбу генлар BLAST маълумотлар базасидан фойдаланиб таҳлил қилинганда, улардан бири тола ривожланишида аҳамиятли бўлган “Annexin Protein” оқсилни кодлаши маълум бўлди. Анексин оқсили тола элонгациясига таъсир этиб, иккиламчи ҳужайра девори биосинтезида иштирок этади. Бундан ташқари, анексинлар калций ва эркин фосфолипидлар билан боғланиб, цитоскелетни шакллантиришда иштирок этади. Шунингдек, ушбу ҳудудда тола элонгациясида муҳим бўлган “LIM domain-containing protein (GhWLIM5)” оқсил аниқланиб, бу оқсил Li (2015) ва бошқаларга кўра, ҳужайра цитоскелетида жойлашган бўлиб, актин филамент (F-актин) оқсиллари микдорини ўзгартириш орқали тола элонгациясига таъсир этиши аниқланди. Бундан ташқари, BNL1317 маркернинг геном ҳудудида аниқланган оқсиллардан бири “oxysterol-binding protein-related protein 3A-like (OSBPs)” 3A-оқселига ўхшаган оксистерол-боғловчи оқсил бўлиб, уларнинг модел ўсимлик Арабидопсисда 12 хил тури мавжуд. Ушбу оқсиллар поя, илдиз, барг, ниҳол ва гул чангида экспрессияланиб, ҳужайра дифференциацияси, сигнал каскади, липид сезувчанлик ва ҳужайралараро стерол тақсимланишини бошқаришда муҳим аҳамиятга эга эканлигини кўрсатди. Шу билан бирга, BNL1414 маркерининг геном ҳудида гул чангига хос оқсиллардан бири “pollen-specific leucine-rich repeat extensin-like protein” экстенсинга ўхшаш

лейцин такрорларига бой чанг специфик оксил аниқланди. Арабидопсис ўсимлигида ушбу оксилнинг икки хил шакли FEI1 ва FEI2 мавжуд бўлиб, улар илдиз учи элонгациясида целлюлоза тўплаш орқали муҳим вазифа бажариши кўрсатилган (S. Harpaz-Saad et al., 2011, S.L. Xu et al., 2008).

Тадқиқотда тола сифати ва агрономик белгиларга генетик бириккан ДНК маркерлари келажакда маркерларга асосланган селекция (МАС) усулида серҳосил ва тола сифати юқори бўлган ғўзанинг янги навларини яратишда қимматли қурилма сифатида қўлланилади. Шунингдек, ғўзанинг РИЛ популяцияси биотик ва абиотик стресс омилларга чидамлик генларини хариталашда муҳим материаллар сифатида фойдаланилади.

ХУЛОСАЛАР

«Ќўзанинг хромосомаси алмаштирилган генетик хариталаш популяцияларини тадқиқ қилиш ва молекуляр тавсифлаш» мавзуси бўйича олиб борилган тадқиқот натижалари асосида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Ќўзанинг хромосомаси алмаштирилган CS-B22 линияси ва АН-Боёвут-2 нави дурагайлари асосида яратилган РИЛ популяцияси ота-она шаклларига нисбатан тола сифати ва агрономик белгилар бўйича кенг полиморфизмга эга бўлди.

2. РИЛ популяциясининг ота-она шакллари ўртасидаги генетик полиморфизм ғўза геномига хос бўлган 845 та микросателлит маркерлар билан текшириш асосида 54 та маркер полиморф эканлиги тасдиқланди.

3. Полиморф маркерлар ёрдамида РИЛ популяциясини ПЗР усулида генотиплаш орқали 5022 та локуслар амплификацияланди ва популяциянинг генетик харитаси тузилди.

4. РИЛ популяциянинг тузилган генетик харитасига кўра, LOD (ишонччилик коэффициенти) қиймати 10.0 дан юқори бўлган 3 та бирикиш гуруҳлари аниқланиб, улар билан агрономик ва тола сифат белгилари ўртасида генетик боғлиқликни тадқиқ қилиш асосида 28 та QTL локуслари мавжуд эканлиги очиб берилди.

5. QTL локусларининг геном ҳудудларида тола ривожланишида иштирок этувчи ва унинг сифатини белгилашда муҳим бўлган номзод генлар аниқланди.

6. Тола сифати ва агрономик белгиларга генетик бириккан ДНК маркерлари ушбу белгиларни маркерларга асосланган селекция (МАС) усулида яхшилаш учун тавсия этилади.

7. Яратилган РИЛ популяцияси биотик ва абиотик стресс омилларга чидамликни молекуляр тадқиқ этиш учун қимматли манба сифатида тавсия этилади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ
DSc.29.08.2017.B.53.01 ПРИ ИНСТИТУТЕ ГЕНЕТИКИ И
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И
НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА**

ЦЕНТР ГЕНОМИКИ И БИОИНФОРМАТИКИ

МАКАМОВ АБДУСАЛОМ ХАСАНБОЕВИЧ

**ИССЛЕДОВАНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ГЕНЕТИЧЕСКИ КАРТИРУЕМЫХ ХРОМОСОМ-ЗАМЕЩЕННЫХ
ПОПУЛЯЦИЙ ХЛОПЧАТНИКА**

03.00.14 – Геномика, протеомика и биоинформатика

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

Ташкент – 2018

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.2.PhD/B78.

Диссертация выполнена в Центре геномики и биоинформатики.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета (www.genetika.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель:

Абдурахмонов Иброхим Юлчиевич
доктор биологических наук, академик

Официальные оппоненты:

Ризаева Сафия Мамедовна
доктор биологических наук, профессор

Кадирова Дилбар Абдуллаевна
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация:

**Научно-исследовательский институт селекции,
семеноводства и агротехнологии возделывания
хлопка**

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 года в ___ часов на заседании Научного совета DSc. 29.08.2017.B.53.01 при Институте генетики и экспериментальной биологии растений и Национальном университете Узбекистана (Адрес: 111226, Ташкентская область, Кибрайский район, п/о Юкори-Юз. Актовый зал Института генетики и экспериментальной биологии растений. Тел.: (+99871) 264-23-90, факс (+99871) 264-22-30, e-mail: igebr@academy.uz, genetics@uzsci.net, gen@inst.gov.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института генетики и экспериментальной биологии растений (зарегистрировано за № ____). Адрес: 111226, Ташкентская область, Кибрайский район, п/о Юкори-Юз. Тел.: (+99871) 264-23-90.

Автореферат диссертации разослан «___» _____ 2018 года.
(реестр протокола рассылки № ____ от «___» _____ 2018 года)

А.А. Нариманов
Председатель научного совета по
присуждению учёных
степеней, д.с.х.н.

С.М. Набиев
Ученый секретарь научного совета по
присуждению учёных степеней, к.б.н.,
старший научный сотрудник

З.Т. Буриев
Председатель научного семинара при научном
совете по присуждению учёных степеней,
д.б.н., старший научный сотрудник

ВВЕДЕНИЕ (Аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В последние годы глобальное изменение климата привело к расширению территорий, подверженных действию различных биотических и абиотических стрессов, что отрицательно сказывается на урожайности и качестве сельскохозяйственной продукции. В селекционных программах по хлопчатнику, являющемуся во всем мире одной из важнейших технических культур, очень остро стоит вопрос о переходе на быстро реализуемые технологии, обеспечивающие получение в сжатые сроки новых высокоурожайных, устойчивых к неблагоприятным факторам окружающей среды, сортов с высоким качеством волокна. Поэтому картирование локусов количественных признаков, регулирующих фенотипические признаки полигенной природы, и применение в хлопководстве технологии маркер ассоциированной селекции - одной из перспективных направлений современной селекции, является актуальной проблемой.

Средневолокнистый хлопчатник (*G.hirsutum* L.), на долю которого приходится порядка 95% мировых посевных площадей, занятых этой культурой, считается скороспелым и высокоурожайным растением. Тонковолокнистый хлопчатник (*G.barbadense* L.) дает самое качественное волокна, однако ввиду низкоурожайности и позднеспелости, этот вид рода *Gossypium* высеивается лишь на 3-5% площади под хлопчатник. С целью улучшения качества волокна средневолокнистого хлопчатника были проведены ряд работ по межвидовому скрещиванию *G.hirsutum* L. и *G.barbadense* L. и получению новых сортов. Тем не менее, такой путь создания новых линий и сортов чреват усложнением селекционного процесса в связи со свойственными для разных геномов межвидовыми несоответствиями, приводящими к нарушению сегрегации, ограниченной рекомбинации и стерильности потомства. В этом плане хромосом-замещенные (CS-B) линии средневолокнистого хлопчатника, несущие пару целой хромосомы тонковолокнистого хлопчатника, или парные фрагменты этой хромосомы, являются ценным материалом, позволяющим преодолеть проблемы межвидового скрещивания, происходящие на уровне полного генома.

В Узбекистане, благодаря мероприятиям, проводимым в области хлопководства, созданы новые скороспелые, высокоурожайные сорта данной культуры. Одновременно с этими достижениями в стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан¹ намечены задачи по “созданию новых селекционных сортов, адаптированных к местным почвенно-климатическим и экологическим условиям”. Исходя из этих установок, выявление локусов количественных признаков, определяющих урожайность и качества волокна, на специально созданной, на основе CS-B

¹ Указ Президента Республики Узбекистан «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» за № УП-4947 от февраля 2017 г.

линий хлопчатника, популяции рекомбинантных инбредных линий, адаптированных к местным почвенно-климатическим условиям, и внедрение их в маркер ассоциированную селекцию, являющуюся на сегодняшний день одной из быстрых селекционных технологий, приобретает важное научно практическое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, указанных в Указе Президента Республики Узбекистан от 15 сентября 2017 года УП № 3281 «О мерах по рациональному размещению сельскохозяйственных культур и прогнозированию производства продуктов сельского хозяйства», в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года УП №4947 “О стратегии дальнейшего развития Республики Узбекистан”, а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики – V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и защита окружающей среды».

Степень изученности проблемы. В настоящее время во всем мире ДНК маркерная технология эффективно используется при изучении генома хлопчатника. В частности, в направлении, связанном с идентификацией локусов количественных признаков (QTL), определяющих качество волокна, плодотворно работали такие зарубежные ученые, как А. Reinisch (1994), J.M. Lacape (2003, 2005), X. Shen (2007), I.Y. Abdurakhmonov (2003), D.H. He (2007), J. Wu (2009), F.D. Sun (2012), Sh. Tang (2014), J.I. Said (2014), L. Shang (2016), M. Jamshed (2016), H. Wang (2016), D.X. Liu (2016), а также X. Fang (2017).

Зарубежными авторами J.M. Lacape (2005, 2007), J.I. Said et al., (2014), а также P. Wang et al., (2014) были созданы популяции рекомбинантных инбредных линий путем межвидового скрещивания средне- и тонковолокнистого хлопчатника и определены локусы, ответственные за проявление хозяйственно ценных признаков. Однако такие популяции содержат все хромосомы генома второго родителя, т.е. представителя другого вида, и они оказывают комплексное влияние на изменение признаков и свойств полученных гибридов (W. Song et al., 2017). В этом отношении линии с заменой одной хромосомы и специфические популяции рекомбинантных инбредных линий (РИЛ), созданных с участием таких хромосом-замещенных линий, считаются очень ценным и важным материалом при определении хромосомной локализации того или иного хозяйственно полезного признака (S. Saha et al., 2006; J.N. Jenkins et al., 2006). К сегодняшнему дню специфические популяции РИЛ с заменой единичной хромосомы созданы у таких растений, как помидор (Y. Eshed et al., 1994), свекла (X. Li et al., 2015), кукуруза (S.J. Szalma et al., 2007), соя (W.T.B. Thomas et al. 1995), пшеница, рис (S.B. Liu et al., 2006; W.Y. Zhu et al., 2009;

M.L. Ali et al., 2010; W. Qiao et.al., 2016), а также определены у них множество ДНК маркеров.

Отечественная коллекция гермоплазмы хлопчатника содержит 32580 культивируемых сортов и сортообразцов, имеющих различное региональное происхождение (И.Ю. Абдурахмонов 2014). Группой, возглавляемой И.Ю. Абдурахмоновым (2008, 2009), был проведен молекулярно генетический анализ качества волокна более 1000 разновидностей *G.hirsutum* L., представленных 37 странами и 8 селекционными экотипами. Узбекскими учеными А. Абдукаримовым, З.Т. Буриевым (2010-2011), Ф.Н. Кушановым (2016, 2017), а также А.А. Абдуллаевым (2015-2017) были идентифицированы ДНК маркеры, генетически связанные с множеством хозяйственно ценных признаков хлопчатника.

До сегодняшнего дня исследования по созданию специфичной по единичной хромосоме популяции РИЛ и выявлению на их основе QTL локусов/генов, контролирующих хозяйственно-ценные признаки хлопчатника, не проводились.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами научно-исследовательского учреждения, где выполнена работа.

Диссертационное исследование выполнено в рамках запланированной научно-исследовательской фундаментальной работы Центра геномики и биоинформатики по теме Ф5-Т030 “Исследование генома приоритетных сельскохозяйственных культур для развития инновационных биотехнологий” (2012-2016 гг.).

Целью исследования является создание хромосом замещенной популяции хлопчатника и молекулярная характеристика хозяйственно ценных признаков хлопчатника с помощью ДНК маркеров.

Задачи исследования:

отбор из набора хромосом замещенных линий хлопчатника генотипа с высоким качеством волокна и проведение его скрещивания с местным сортом АН-Баявут-2, имеющим относительно низкое качество волокна;

создание популяции рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) путем самоопыления, начиная со второго поколения и до шестого поколения гибридов, используя при этом методологию “SSD” – происхождение из одного семени;

оценка агрономических признаков и качества волокна родительских форм, генотипов популяции РИЛ, а также контрольных образцов;

выявление полиморфизма между родительскими генотипами популяции с использованием набора микросателлитных SSR маркеров хлопчатника;

генотипирование РИЛ популяции с помощью ПЦР, используя выявленные полиморфные маркеры;

создание генетической карты популяции на основе данных по скринингу РИЛ с помощью ДНК маркеров, а также QTL картирование локусов количественных признаков с целью выявления генетической связи этих маркеров с агрономическими признаками, а также с качеством волокна;

пользуясь биоинформатическими методами выявление кандидатных генов и белков в геномных регионах дислокации идентифицированных QTL локусов.

Объектом исследования были хромосом замещенная линия CS-B22, местный сорт хлопчатника АН-Баявут-2, популяция РИЛ, полученная путем скрещивания CS-B22 с АН-Баявут-2, а также линии ТМ-1 (*G.hirsutum* L.) и 3-79 (*G.barbadense* L.), использованные в качестве контроля.

Предметом исследования является набор микросателлитных маркеров хлопчатника, использованных для молекулярного картирования локусов, детерминирующих агрономические показатели и качества волокна.

Методы исследования. В работе были использованы традиционные методы генетики хлопчатника, а также современные методы геномики, статистики и биоинформатики.

Научная новизна исследования состоит в следующем:

впервые в хлопководстве республики при изучении генома хлопчатника были использованы хромосом замещенные линии, на основе которых были определены QTL локусов/генов, регулирующих хозяйственно ценные признаки хлопчатника;

выявлены маркеры BNL1030, BNL4028, BNL1414, Gh247, BNL1317, Gh118, TMB0812, BNL3660 и BNL0946, генетически связанные с качеством волокна, в частности, с длиной, прочностью и элонгацией волокна, а также с такими агрономическими признаками, как вес хлопка одной коробочки и индекс волокна;

в результате работ по картированию локусов количественных признаков, проведенных на популяции РИЛ, идентифицированы 28 QTL локусов, генетически связанные с качеством волокна и агрономическими признаками;

обоснована стабильность двух QTL, определяющих качество волокна, и четырех QTL, определяющих агрономические признаки.

Практические результаты исследования состоят в следующем:

создана специфичная по единичной хромосоме и обладающая генетическим разнообразием популяция РИЛ хлопчатника, пользуясь которой проведено QTL картирование локусов, определяющих агрономические признаки и качество волокна;

пользуясь ДНК маркерами BNL1030, BNL4028, BNL1414, Gh247, BNL1317, Gh118, TMB0812, BNL3660 и BNL0946 идентифицированы 28 QTL локусов, генетически ассоциированные с качеством волокна и агрономическими признаками;

ДНК маркеры, генетически связанные с идентифицированными QTL локусами, рекомендованы к применению в MAS технологии для получения новых высокоурожайных сортов хлопчатника с высоким качеством волокна;

из образцов популяции РИЛ выделены более 20 линий, которые были рекомендованы в качестве ценных доноров при создании новых сортов хлопчатника, и которые имели такие показатели, как вес хлопка одной

коробочки - 7,0-8,2 г; выход волокна - 38,0-43,2%; микронейр - 3,9-4,5; прочность волокна - 37,0-44,5 гс/текс и длина волокна - 1,17-1,22 дюйм;

популяция РИЛ включена в коллекцию гермоплазмы уникального объекта Центра геномики и биоинформатики в качестве ценного материала для будущих исследований по получению форм, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам.

Достоверность результатов исследования обосновывается использованием в работе современных методов и подходов, в частности, применением программы *Join Map* - при генетическом картировании популяции, программы *QTL Cartografer* - при картировании локусов количественных признаков, алгоритма *Map Chart* – при графическом представлении выявленных QTL в виде диаграммы, статистической программы *R* – при обработке данных по агрономическим признакам и качеству волокна, апробацией результатов исследований на республиканских и международных конференциях, опубликованием их в ведущих научных изданиях, а также включением и хранением образцов популяции РИЛ, специфичной по единичной хромосоме, в коллекцию гермоплазмы уникального объекта Центра геномики и биоинформатики.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования определяется созданием на основе хромосом замещенных линий впервые в отечественном хлопководстве популяции РИЛ хлопчатника, обладающей широким генетическим разнообразием и имеющей важное значение для выявления QTL/генов, регулирующих ценные хозяйственные признаки хлопчатника, оценкой их генетического и фенотипического разнообразия с помощью статистического анализа, картированием 28 QTL-локусов, генетически связанных с агрономическими признаками и качеством волокна, выявлением, пользуясь генетической картой, соответствия маркированных групп сцепления определенным хромосомам хлопчатника.

Практическая значимость результатов исследования определяется тем, что созданная РИЛ популяция может быть использована в качестве ценного источника при картировании генов; благодаря внедрению идентифицированных ДНК маркеров в программу MAS появилась возможность получать в сжатые сроки новые сорта хлопчатника

Внедрение результатов исследования. На основе данных по созданию РИЛ популяции с участием хромосом замещенных линий и QTL картированию хозяйственно ценных признаков хлопчатника:

более 100 ДНК маркеров, выявленных у хромосом замещенных (CS-B) линий, и специфичных для конкретной хромосоме, были использованы для молекулярного исследования других видов хромосом замещенного хлопчатника в проекте 201405-NSF_CECS “Молекулярные исследования CS-B, CS-T и CS-M – линий хлопчатника с заменой хромосом с помощью ДНК маркеров” (Справка Департамента сельского хозяйства США от 25 мая 2018 г.). В результате появилась возможность идентифицировать замещенные

хромосомы в хромосом замещенных линиях хлопчатника CS-B (*G. barbadense*), CS-T (*G. tomentosum*) и CS-M (*G. mustelinum*);

ДНК маркеры, свойственные определенным хромосомам, были использованы при выполнении фундаментального проекта Ф-5-31 “Хромосомная локализация маркерных генов с помощью набора моносомных линий хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. с унифицированной нумерацией моносом” (Справка Министерства высшего и среднего образования Республики Узбекистан №89-03-2006 от 24 мая 2018 г.). В результате появилась возможность определить дефектные хромосомы в моносомных линиях хлопчатника;

образцы РИЛ популяции, специфичные по единичной хромосоме, включены в ведущий в республике уникальный объект “Генофонд хлопчатника и других культур, созданных на основе геномных технологий” (Справка Академии наук Республики Узбекистан №4/1255-1301 от 18 мая 2018 г.). Эти образцы дали возможность обогатить коллекцию гермоплазмы хлопчатника, а также расширить его генетическое разнообразие.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 12 научно-практических конференциях, из которых 3 международные и 9 республиканские.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 19 научных работ. Из них 7 научные статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, в том числе 5 - в республиканских журналах, 1-в международном журнале и 1- в материалах международного форума, приравненного президиумом ВАК РУз к статьям, опубликованным в зарубежных журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы и приложения. Объем диссертации составляет 90 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во «**Введении**» обоснована актуальность и важность исследования, определены цель, задачи, объект и предметы исследования, показано соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрывается научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации под названием «**Применение в хлопководстве Узбекистана хромосом замещенных (CS-B) линий**» описана история создания в Узбекистане коллекции гермоплазмы хлопчатника, отмечена важность гермоплазмы с её широким генетическим разнообразием в создании новых сортов и линий хлопчатника, изложены

метод получения хромосом замещенных линий (CS), значение таких линий в селекции хлопчатника, а также при разработки специфических по единичной хромосоме рекомбинантных инбредных линий (РИЛ). Особо отмечено значение таких РИЛ при картировании генов, определяющих хозяйственно ценные признаки хлопчатника. Кроме этого освещены вопросы, связанные с ролью ДНК маркеров в изучении генома хлопчатника, в частности, при генетическом картировании хлопчатника, определении местоположения генов на хромосомах, оценки генетического разнообразия, картировании важных для сельского хозяйства признаков и генов, детерминирующих их. Также освещены исследования, касающиеся природы популяций, их происхождения, значения РИЛ при QTL картировании качества волокна, урожайности, устойчивости к различным заболеваниям и вредителям, агрономических признаков и т.д.

Во второй главе диссертации **«Место проведения работ, условия, материалы и методы исследования»** подробно расписаны объекты и их характеристика, методы исследования, условия и место проведения экспериментальных работ, особенности проведения генетических и геномных исследований в лабораторных и полевых условиях, а также приведены статистические методы, использованные при обработке полученных результатов. Кроме этого указывается, что экспериментальные исследования проводились на протяжении 2012-2017 годов в лаборатории Центра геномики и биоинформатики, а также в Специализированном семеноводческом хозяйстве данного центра.

Также в главе дана краткая характеристика растительного материала, реагентов, аппаратуры, метода получения специфичной по единичной хромосоме РИЛ популяции, методов оценки агрономических признаков и параметров качества волокна, выделения ДНК из растительной ткани, ПЦР (поли-меразная цепная реакция), гель-электрофореза, генотипирования продуктов ПЦР, молекулярно-генетического картирования локусов количественных признаков (QTL), а также приведены методы статистики.

В третьей главе диссертации **“Создание хромосом замещенной генетически картируемой популяции хлопчатника и оценка её агрономических признаков, а также “качества волокна”** освещены вопросы, связанные с выбором родительских форм, взятых для создания генетически картирующей популяции, что, в свою очередь, важно при картировании QTL локусов/генов, определяющих хозяйственно ценные признаки хлопчатника; с созданием популяции РИЛ, изучением агрономических признаков и “качества волокна” генотипов РИЛ популяции, а также представлены результаты статистической обработки полученных данных.

В первом разделе данной главы подробно изложена последовательность действий, выполненных при получении специфичной по единичной хромосоме РИЛ популяции путем скрещивания хромосом замещенной линии CS-B22 с местным сортом АН-Баявут-2. Для создания РИЛ популяции в качестве родителей были выбраны хромосом замещенная линия CS-B22 и

местный сорт АН-Баявут-2. Начиная со второго поколения гибридов CS-B22 х АН-Баявут-2, и далее, вплоть до шестого поколения, проводилось самопыление растений, а при их размножении использовался метод SSD (*англ.* single seed descent - происхождение из одного семени). Схема создания специфичной по единичной хромосоме популяции РИЛ представлена на рис.1.

Созданная популяция РИЛ, каждая линия которой содержит в гомозиготном состоянии маленький рекомбинантный сегмент замещенной хромосомы, по существу своему, является набором, состоящим из генетически широко различающихся генотипов. В свою очередь, такие популяции считаются очень важными при изучении молекулярных механизмов формирования качественных и количественных признаков, генетически связанных с конкретным маленьким рекомбинантным фрагментом целой хромосомы.

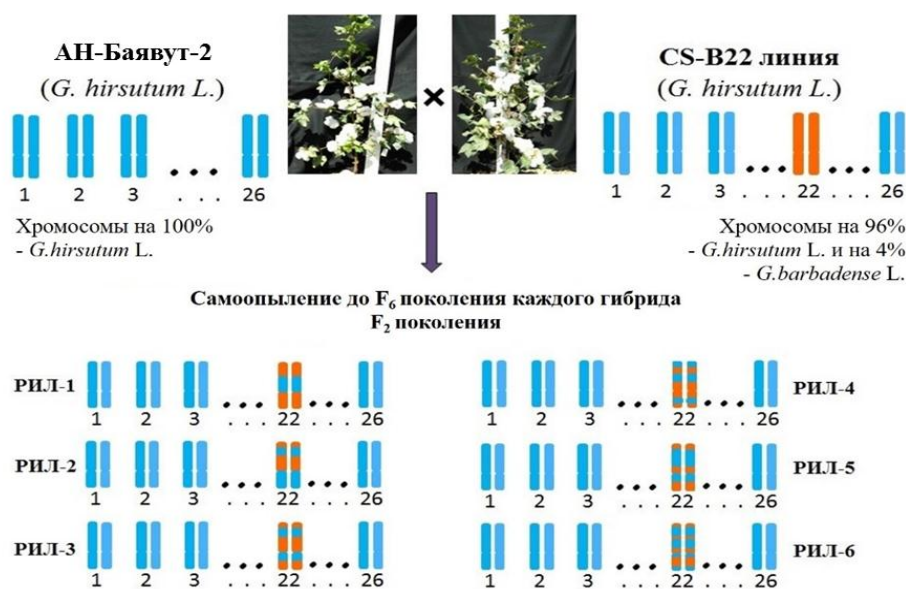


Рис.1. Метод создания РИЛ популяции и схематическое изображение рекомбинантных инбредных линий, несущих замены в хромосоме.

Во втором разделе настоящей главы представлены результаты по оценке агрономических признаков популяции РИЛ. По каждой линии РИЛ популяции приведены такие показатели, как вес хлопка одной коробочки, длина волокна, выход волокна, индекс волокна и вес 1000 семян.

Полученные данные были обработаны с использованием компьютерной программы *R-статистик* (рис.2). По данным анализа, РИЛ популяция демонстрирует широкое генетическое разнообразие по тестированным признакам. В частности, у генотипов РИЛ популяции вес хлопка одной коробочки составляет 6,6 г (стандартная ошибка=0,03) против 6,5 г у сорта АН-Баявут-2 (реципиентная форма) и 6,1 г - у отцовской формы CS-B22. Минимальные и максимальные значения данного показателя у генотипов РИЛ популяции находятся в пределах 4,2-8,2 г, а коэффициент изменчивости соответствует 12,5 %, при этом у 20 % генотипов РИЛ популяции «вес хлопка одной коробочки» составлял 6,5-7,8 г.

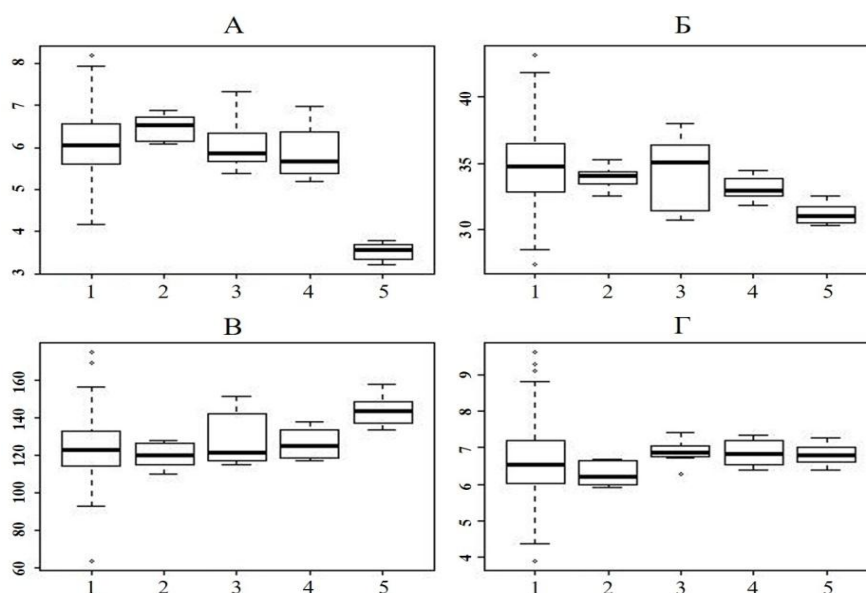


Рис.2 Статистический анализ данных по агрономическим признакам.

А-вес хлопка-сырца одной коробочки (г), **Б**-выход волокна (%), **В**-вес 1000 семян (г), **Г**-индекс волокна. **1**-РИЛ популяция, **2**-АН-Баявут-2, **3**-CS-B22, **4**-линия ТМ-1 (контроль), **5**-линия 3-79 (контроль).

По выходу волокна родительские генотипы имели близкие друг к другу показатели - 34,0 % и 34,3%. В то же время этот показатель у генотипов РИЛ варьировал от 27,3% до 43,2% со средним значением 35,0%, а коэффициент изменчивости составил 7,9%. По параметру вес 1000 штук семян генотипы РИЛ популяции, их родительские формы, а также контрольная линия ТМ-1 имели сходные показатели (120-128 г), однако у другого контрольного образца - линии 3-79 этот показатель составлял 144 г. У популяции РИЛ по данному параметру наблюдался широкий разброс от минимального значения 102,0 г до максимума - 151,0 г, с коэффициентом изменчивости, равным 11,1%. При этом, на группу рекомбинантных инбредных линий, имеющих вес 1000 штук семян в пределах 141-151 г, приходилось 12% от всей популяции РИЛ. По индексу волокна родительские формы заметно различались между собой, имея показатели 6,3 г (АН-Баявут-2) и 6,9 г (CS-B22). Средний показатель РИЛ популяции по данному признаку составлял 6,6 г, что заметно выше, по сравнению с реципиентным сортом АН-Баявут-2. Минимальное и максимальное значения индекса волокна у РИЛ популяции находились в пределах 3,9-9,7 г, с коэффициентом изменчивости 12,9%. При этом 25% генотипов РИЛ популяции имели индекс волокна, соответствующий 7,1-8,5 г.

В третьем разделе третьей главы освещены результаты оценки качества волокна. Результаты статистической обработки данных с использованием компьютерной программы *R-статистика* представлены на рис.3.

Статистический анализ данных по волокну показал, что генотипы РИЛ популяции генетически широко варьируют по показателям качества волокна. Например, по признаку микронейр волокна минимальное и максимальное значения этого показателя составляют 3,9-6,3, со средним значением 5,1 и коэффициентом изменчивости 8,4%. Родительские формы различаются

между собой по этому параметру, имея значения 4,6 (у реципиента) и 4,2 – у донорного генотипа CS-B22. У последнего значения микронейра были очень близки к тонковолокнистому хлопчатнику 3-79. Причем, 14% генотипов РИЛ популяции имели микронейр в пределах 3,9-4,5.

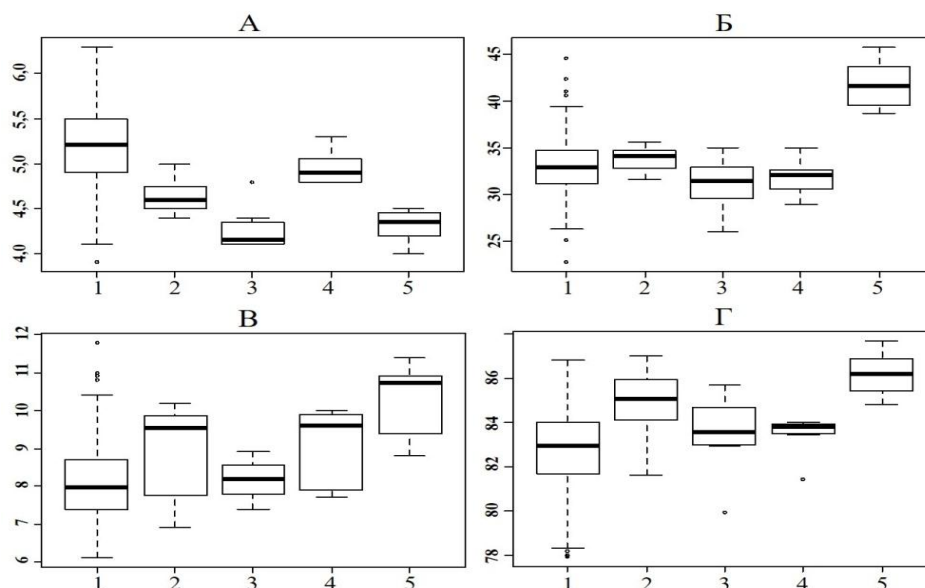


Рис.3. Сравнительный анализ показателей “качества волокна”.

А-микроней волокна, Б-прочность волокна (гс/текс), В-элонгация волокна (%), Г-однородность волокна, 1-РИЛ популяция, 2-АН-Баявут-2, 3-CS-B22, 4-линия ТМ-1 (контроль), 5-линия 3-79 (контроль).

По прочности волокна сорт АН-Баявут-2 и линия CS-B22 заметно различаются между собой, имея показатели 33,8 и 31,1 гс/текс, соответственно. Что касается популяции РИЛ, то у них среднее значение данного параметра составляло 33,8 гс/текс, варьируя от 31,6 до 35,6 гс/текс с коэффициентом изменчивости 9,7%. У 21% генотипов популяции РИЛ прочность волокна находилась в пределах 37.5-44.5 гс/текс. Одновременно с этим по такому важному для текстильной промышленности признаку, как элонгация волокна родительские генотипы также отличались друг от друга, имея показатели: 9,5% - у АН-Баявут-2 и 8,2% - у линии CS-B22. У генотипов РИЛ популяции минимальное значение элонгации составляло 6,11%, максимальное - 11,8%, со средним значением 8,1% и коэффициентом изменчивости 12,7%. При этом, на долю генотипов РИЛ популяции с показателем 9,5-11,8% - по элонгации приходилось 36% от всей популяции РИЛ. В свою очередь, по однородности волокна были получены следующие данные: 84,8% и 83,5% - у родительских форм, 82,8% - у РИЛ популяции, при этом минимальное значение однородности у гибридов соответствовало 77,7%, максимальное - 86,8%, а коэффициент изменчивости составлял 1,9%.

В четвертой главе диссертации “**Картирование QTL локусов ГАК популяции и биоинформатические анализы**” освещены результаты исследований по выявлению маркеров, полиморфных между родителями, генотипической оценке отдельных линий популяции с использованием отобранных маркеров, созданию генетической карты популяции, картированию QTL локусов, связанных с хозяйственно ценными признаками

хлопчатника, а также идентификации кандидатных генов и белков в участках дислокации выявленных локусов и их фланкирующих регионах.

Первый раздел четвертой главы посвящен оценке генетического полиморфизма между родительскими формами РИЛ популяции с использованием микросателлитных SSR маркеров. Для этого родительские генотипы АН-Баявут-2 и CS-B22 были зондированы в общей сложности 845 праймерами из набора микросателлитов (BNL, CIR, JESPR, NAU, TMB, Gh, CM), используя метод ПЦР (таблица 1).

Таблица 1.

SSR маркеры, использованные при ПЦР-скрининге родительских форм

SSR праймерлар	Амплификация бұлган праймерлар	Полиморф маркерлар	Мономорф праймерлар	Амплификация бұлмаган праймерлар
BNL	256	23	193	40
CIR	111	1	83	27
CM	16	0	13	3
Gh	48	6	33	9
JESPR	80	2	36	42
NAU	169	11	149	9
TMB	165	11	121	33
Жами	845	54	628	163

По результатам скрининга выявлены 54 полиморфных маркера, дифференцирующие родительские формы.

Во втором разделе четвертой главы приведены результаты скрининга, используя ПЦР, генотипов РИЛ популяции с помощью маркеров, дискриминирующих родительские формы, а также генотипической оценки полученной популяции. Так, используя ПЦР (рис.4), 93 рекомбинантных инбредных линий РИЛ популяции были зондированы с помощью 54 SSR микросателлитных маркеров, способных дифференцировать родительские генотипы. При этом генотипическая оценка популяции проводилась на основании того, от какого родителя происходит локус, амплифицированный на геноме популяции РИЛ при зондировании их полиморфными маркерами.

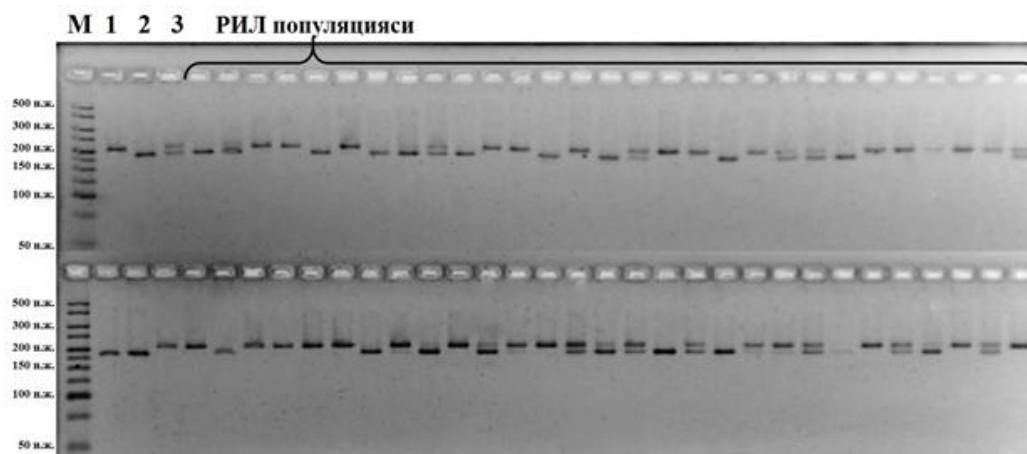


Рис.4. Электрофореграмма амплифицированных ПЦР-продуктов, полученных при зондировании РИЛ популяции с помощью полиморфного маркера TMB-1660

В зависимости от того, какому родителю соответствуют ампликоны, продуцируемые образцами РИЛ популяции, их обозначали как “а” генотипы, если ПЦР-продукт по размеру совпадал с ампликоном, синтезируемом на материнской форме АН-Баявут-2; “b” генотипы - при схожести с CS-B22 отцовским ампликоном и “h” генотипы - при наличии обоих ампликонов, как в случае гибридов первого поколения F₁. В случае, когда РИЛ генотипы давали картину полос, частично отличающуюся от спектра родителей, их обозначали как “с” или “d” генотипы. Таким образом, по итогам ПЦР скрининга популяции РИЛ с использованием 54 полиморфных маркеров, в общей сложности было амплифицировано 5022 локуса, из которых 37,7% были отнесены к “а” генотипу, 48,1% - к “b” – генотипу, 11,5% -к “h” – генотипу и 2,7% - к “с” или “d” – генотипу.

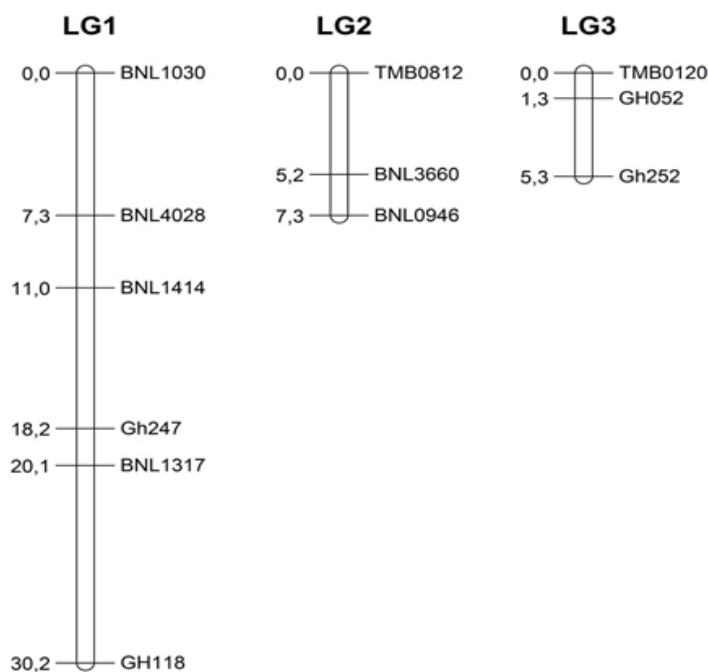


Рис.5. Генетическая карта РИЛ популяции. LG1 – 9-хромосома, LG2 – 20-хромосома, LG3 – 22-хромосома.

В третьем разделе данной главы приведены результаты исследований по созданию генетической карты популяции на основании данных генотипирования. Пользуясь компьютерной программой *JoinMap*, а также суммируя результаты ПЦР скрининга РИЛ популяции, создана её генетическая карта, на которой выявляются 3 группы сцепления (LG-linkage group) (рис.5).

Из нескольких групп сцепления, сформированных при генетическом картировании РИЛ популяции с использованием 54 маркеров, для дальнейших исследований были отобраны три группы сцепления с коэффициентом правдоподобия (LOD балл, *анг. logarithm of odds*) выше 10. Эти группы сцепления, включающие в себя 12 маркеров, были использованы для определения локусов количественных признаков.

В четвертом разделе четвертой главы освещены исследования, проведенные по картированию QTL локусов, генетически связанных с

агрономическими признаками и «качеством волокна» популяции РИЛ. Для установления генетической связи между агрономическими признаками и «качеством волокна» генотипов популяции РИЛ, с группами сцепления, выявленными при генетическом картировании популяции, а также с маркерами, дислоцированными в этих группах сцепления, была использована компьютерная программа *Win QTL Cartographer*. В результате удалось выявить в общей сложности 28 QTL локусов, расположенных на 9 и 20 хромосомах, и имеющих отношение к агрономическим признакам и качеству волокна. Из них 16 QTL локусов были связаны с качеством волокна и 12- агрономическими признаками.

Графическое изображение полученных результатов было получено с использованием компьютерной программы *MapChart*. 11 локусов, связанных с качеством волокна, выявляются на 9-ой хромосоме, и 5- на 20-ой хромосоме. Значение LOD балла для всех идентифицированных QTL локусов было в пределах 4,5-13,1, что свидетельствует о высокой достоверности результатов. Среди QTL локусов, дислоцированных на 9-ой хромосоме, 5 имели отношение к штапельной длине, 2-к элонгации, 4- к прочности волокна. Из QTL локусов, выявляемых на 20-ой хромосоме, 2 были связаны со штапельной длиной, 2- с элонгацией и один локус был связан с прочностью волокна.

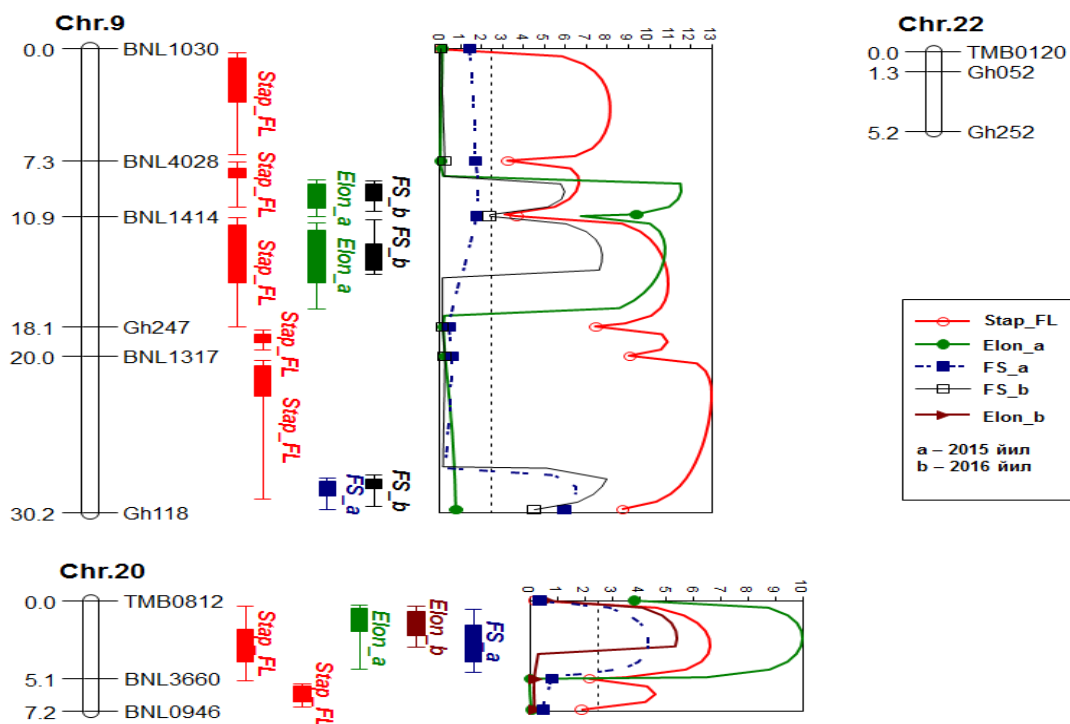


Рис.6. Карта QTL локусов, генетически связанных с «качеством волокна» образцов популяции РИЛ. Stap_FL – штапельная длина волокна узунлиги, Elon_a –элонгация волокна (2015 г), Elon_b –элонгация волокна (2016 г.), FS_a –прочность волокна (2015г.), FS_b –прочность волокна (2016 г).

Тот факт, что, несмотря на разные по годам условия окружающей среды, QTL локусы, связанные с определенным признаком, повторно идентифицируются в тех же самых регионах хромосомы, свидетельствует о

том, что эти локусы стабильны и действительно содержат гены, имеющие отношения к тестируемому признаку. По данным двухлетних наблюдений две пары таких стабильных QTL локусов, ассоциированных с признаками прочность и элонгация волокна, расположены между маркерами BNL1317-Gh118 (LOD=6,3-7,5) и TMB0812-BNL3660 (LOD=5,3-10,0).

Кроме этого, по результатам QTL картирования локусов, определяющих такие агрономические признаки популяции РИЛ, как вес хлопка одной коробочки, выход волокна, индекс волокна, а также вес 1000 семян, было выявлено 12 локусов, из которых 7 были ассоциированы с весом хлопка одной коробочки, а 5 локусов – с индексом волокна. Из 7 QTL локусов, связанных с признаком вес хлопка одной коробочки, шесть были расположены на 9-ой хромосоме и один - на 20-ой хромосоме (рис.7).

Две пары QTL локусов, генетически связанные с признаком вес хлопка одной коробочки, и дислоцированные между маркерами BNL1414-Gh247 (LOD=5,8-7,8), а также BNL1317-Gh118 (LOD=6,6-7,4), по результатам двухлетних наблюдений стабильно воспроизводились в тех же самых регионах хромосомы.

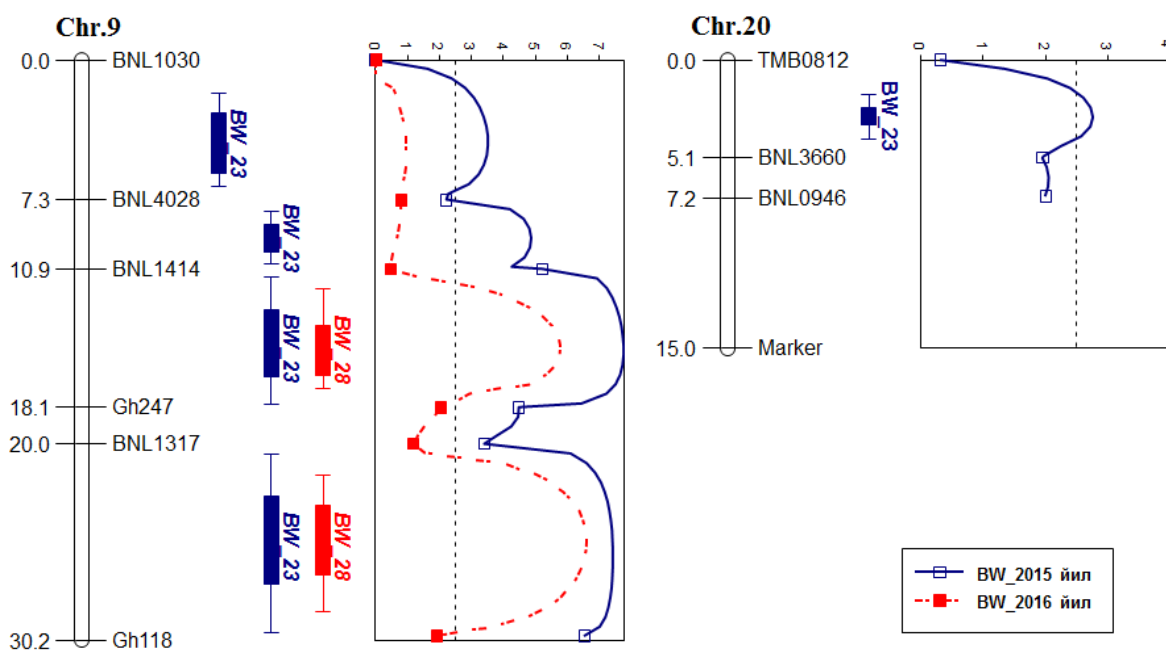


Рис.7. Карта QTL локуса, генетически связанного с признаком «вес хлопка одной коробочки» (BW) у образцов популяции РИЛ.

Кроме этого, на 9-ой хромосоме были определены 5 QTL локусов, генетически связанные с индексом волокна. Анализ данных по двум годам (2015-2016 гг) показал на существование двух пар стабильных QTL локусов, связанных с индексом волокна, и дислоцированных в двух регионах данной хромосомы между маркерами BNL1414-Gh247 (LOD=3,5-7,9) и BNL1317-Gh113 (LOD=3,6-8,4).

Идентифицированные нами с помощью ДНК маркеров QTL локусы, генетически связанные с качеством волокна и агрономическими признаками, совпадают с данными, полученными зарубежными учеными.

В пятой главе диссертации «Биоинформатический анализ регионов генома в местах дислокации выявленных QTL» освещены исследования, связанные с идентификацией кандидатных генов и белков в выявленных QTL локусах и регионах, фланкирующих их.

В первом разделе данной главы приводятся результаты виртуального *In silico* PCR, выполненного с помощью компьютерной программы UGENE 1.20.0. Для его осуществления была использована база данных генома *G.hirsutum* L. и информация о нуклеотидных последовательностях праймеров (прямого и обратного), иницировавших амплификацию QTL локусов, генетически связанных с хозяйственно ценными признаками хлопчатника. Используя 9 ДНК маркеров, генетически связанных с «качеством волокна» и агрономическими признаками хлопчатника, была проведена виртуальная амплификация регионов (с протяженностью в 50 000 нуклеотидов), фланкирующих с двух сторон каждый маркированный QTL локус, таким образом, общая протяженность виртуально амплифицированных ПЦР продуктов составляла более 100000 нуклеотидов.

Во втором разделе данной главы освещены результаты поиска кандидатных генов и белков, используя компьютерные программы AUGUSTUS и BLAST. По результатам анализа с использованием программы AUGUSTUS идентифицированы порядка 114 потенциальных кандидатных генов и белков, которые могут быть связаны с 8 маркерами.

В третьем разделе настоящей главы приводятся данные по характеристике выявленных кандидатных генов и белков. Результаты показывают, что в местах дислокации ДНК маркеров, связанных с хозяйственно ценными признаками хлопчатника, а также в регионах генома, примыкающих к этим маркерам, действительно выявляются очень важные гены и белки. В частности, в регионе генома, несущего BNL0946 локус, идентифицируются пять генов, BLAST анализ которых выявил ряд важных белков. Среди них – белок аннексин “Annexin Protein”. Этот белок участвует в биосинтезе вторичной клеточной стенки, влияя тем самым на элонгацию волокна. Кроме этого аннексины, будучи кальций- и фосфолипидсвязывающими белками, участвуют в формировании цитоскелета. В данном регионе генома выявляется еще один белок, оказывающий влияние на элонгацию волокна. Это так называемый “LIM domain-containing protein (GhWLIM5)” белок. Согласно Li (2015) и другим авторам GhWLIM5 экспрессируется в цитоскелете и регулирует элонгацию посредством изменения содержания другого белка - F-актина. Еще один заслуживающий внимания белок, выявляемый в регионе дислокации маркера BNL1317 – это “oxysterol-binding protein-related protein 3A-like (OSBPs)” - оксистерол связывающий подобный 3A белку протеин. В модельном растении Арабидопсисе выявлено 12 разновидностей этого белка. Показано, что эти белки, будучи экспрессируемыми в таких тканях растений, как стебель, корень, листья, почки, пыльца, играют важную роль в клеточной дифференциации, сигнальном каскаде, межклеточном распределении стерола. Одновременно с этим в регионе дислокации маркера BNL1414 обнаружен один из специфичных для

цветочной пыльцы белков - “pollen-specific leucine-rich repeat extensin-like protein” – пыльца специфичный, богатый лейциновыми повторами экстенсин подобный протеин. Согласно Harpaz-Saad et al., (2011), а также Hu et al., (2008) Арабидопсис имеет две формы FEI1 и FEI2 этого белка, которые выполняют важную роль в элонгации кончика корня посредством накопления здесь целлюлозы.

В перспективе, выявленные ДНК маркеры, генетически связанные с качеством волокна и агрономическими признаками, будут использованы в качестве ценного инструмента в маркер ассоциированной селекции (МАС) для получения новых высокоурожайных сортов хлопчатника с высоким качеством волокна. Кроме того, популяция РИЛ хлопчатника уже используется в качестве важного материала при картировании генов устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам.

ВЫВОДЫ

На основе проведенных исследований по теме “Исследование и молекулярная характеристика генетически картируемых хромосом-замещенных популяций хлопчатника” представлены следующие выводы:

1. РИЛ популяция, созданная на основе гибридов хромосомозамещенной CS-B22 линии хлопчатника и сорта АН-Баявута-2, имеет более широкий, чем родительские формы, полиморфизм по качеству волокна и агрономическим признакам.

2. На основе скрининга, генетического полиморфизма родительских форм с 845 микросателлитными маркерами, свойственными для генома хлопчатника, подтверждено полиморфность 54 маркеров.

3. Путем генотипирования ПЦР методом РИЛ популяции с помощью полиморфных маркеров амплифицированы 5022 локусов и составлена генетическая карта популяции.

4. Согласно составленной генетической карты РИЛ популяции выявлены 3 группы сцепления с показателем LOD (коэффициент достоверности) более 10,0 и на основе исследования их генетических связей с агрономическими признаками и качеством волокна раскрыто наличие 28 QTL локусов.

5. В геномных регионах QTL локусов выявлены кандидатные гены, участвующие в развитии волокна и определяющие его качества.

6. ДНК маркеры, генетически сцепленные с качеством волокна и агрономическими признаками, рекомендуются для улучшения этих признаков методом маркер ассоциированной селекции (МАС).

7. Созданная РИЛ популяция рекомендуется в качестве ценного материала для молекулярного исследования устойчивости к биотическим и абиотическим стресс факторам.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREES
DSc.29.08.2017.B.53.01 AT THE INSTITUTE OF GENETICS AND PLANT
EXPERIMENTAL BIOLOGY AND NATIONAL UNIVERSITY
OF UZBEKISTAN**

CENTER OF GENOMICS AND BIOINFORMATICS

MAKAMOV ABDUSALOM KHASANBOEVICH

**RESEARCH AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF
GENETICALLY MAPPED CHROMOSOME-SUBSTITUTED COTTON
POPULATIONS**

03.00.03 – Genomics, proteomics and bioinformatics

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

Tashkent – 2018

The title of doctoral (PhD) dissertation has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2017.2.PhD/B78

The dissertation has been carried out at the Center of Genomics and Bioinformatics.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) on the webpage of the Scientific Council (www.genetika.uz) and on the website of “ZiyoNet” Information and education portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor: **Abdurakhmonov Ibrokhim Yulchievich**
Doctor of biological sciences, academician

Official opponent: **Rizaeva Safiya Mamedovna**
Doctor of biological sciences, professor

Kadirova Dilbar Abdullaevna
Doctor of biological sciences, professor

Leading organization: **Cotton breeding, seed production and cultivation agrotechnologies research institute**

The defense of the dissertation will take place on « ____ » _____ 2018 at ____ at the meeting of Scientific Council DSc.29.08.2017.B.53.01 at the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology and National university of Uzbekistan. (Address: 111226, Tashkent region, Kibray, Yuqori-yuz, Conference hall of the palace of the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology. Tel.: (+99871) 264-23-90; Fax (+99871) 264-23-90; E-mail: igebr@academy.uz)

Doctoral dissertation is registered at the Information-resource center of Institute of Genetics and Plant Experimental Biology (with registration number № ____): where can be familiarized in the Information-resource center. (111226, Tashkent region, Kibray, Yuqori-yuz, Tel.: (+99871) 264-23-90; Fax (+99871) 264-23-90; E-mail: igebr@academy.uz)

Abstract of dissertation sent out on « ____ » _____ 2018 year
(mailing report № ____ dated _____ 2018 year).

A.A. Narimanov
Chairman of Scientific Council for awarding of the scientific degrees, Doctor of Agricultural Sciences

S.M. Nabiyev
Scientific Secretary of Scientific Council for awarding of the scientific degrees, Doctor of Philosophy

Z.T. Buriev
Chairman of Scientific Seminar under Scientific Council for awarding of the scientific degrees, Doctor of Biological Sciences

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is to develop chromosome specific mapping population and molecular characterization of agronomical important traits using DNA markers.

The objectives of the research are chromosome substitution CS-B22 line, local cultivar AN-Boyaut-2 and RIL population developed through crossing AN-Boyaut-2 and CS-B22, and as control genotypes TM-1 (*G.hirsutum* L.) and 3-79 (*G.barbadense* L.) lines.

Scientific novelty of the research is follows:

for the first time, QTL loci/genes controlling agronomically important traits were identified by implementing of chromosome substitution lines to explore cotton genome in to Republic cotton production;

in cotton, fiber quality traits, in particular, fiber length, strength and elongation and agronomic traits, boll weight and lint index associated DNA markers such as BNL1030, BNL4028, BNL1414, Gh247, BNL1317, Gh118, TMB0812, BNL3660 and BNL0946 were detected;

28 QTL loci associated with fiber quality and agronomic traits were identified using quantitative traits loci (QTL) mapping in RIL population;

fiber quality and agronomic traits associated 28 QTL loci were identified using quantitative traits loci (QTL) mapping in RIL population;

two QTLs for fiber quality and four QTLs for agronomic traits were proved as stable QTLs out of 28 identified QTLs.

Implementation of the research results. Based on development of RIL population with participating of chromosome substitution line and QTL mapping of agronomical important traits in this population:

More than a hundred of DNA markers identified in chromosome substitution (CS-B) lines and specific for a particular chromosome used for molecular confirmation of substituted chromosome in the 201405-NSF_CECS project named as “Molecular confirmation of substituted chromosomes in CS-B, CS-T and CS-M lines using chromosome specific DNA markers” (Reference of United States Department of Agriculture, May 25, 2018); As a result, chromosome specific DNA markers were allowed to identify substituted chromosomes in CS-B, CS-T and CS-M lines.

DNA markers specific for a particular in chromosome were used for identification of chromosome deficiency in project named as “Identification of marker genes and its positions in the chromosomes of similarly constituted monosomes and systemic numbered monosomic lines of *Gossypium hirsutum* L cotton” (Reference of Ministry of Higher and Secondary Specialized Education of the Republic of Uzbekistan № №89-03-2006 in May 25 2018); As a result, chromosome specific DNA markers were allowed to identify chromosome deficiency in cotton monosomic lines.

Chromosome specific RIL population deposited to the unique object “Germplasm of unique cotton and other crops that obtained through genomeic technologies” (Reference of Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

№ №4/1255-1301 in May 18 2018. RIL population was served for enrichments and increasing of genetic diversity in cotton germplasm collection.

Structure and volume of the dissertation. The structure of the dissertation consists of an introduction, five chapters, a conclusion, and a list of literature, and application. The volume of the thesis is 90 pages.

ЭЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; Part I)

1. Makamov A.Kh., Salakhutdinov I.B., Achilov S.G., Gafforova N.F., Darmanov M.M., Turaev O.S., Tulanov A.A., Xusenov N.N., Norbekov J.Q., Rahmatov F.N., Adilova O.T., Shermatov Sh.E., Buriev Z.T., Abdurakhmonov I.Y. QTL mapping for fiber quality traits using CS-B22 RIL population. // “Uzbek biological journal”, №3, 2017, p.33-36. (03.00.00; №5)
2. Мухаммадов Й.А., Маманазаров Ш.И., Мирзаёқубов К.Э., Макамов А.Х., Хуршут Э.Э., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Хромосомаси алмаштирилган CS-B14sh линия асосида олинган РИЛ популяциясида агрономик кўрсаткичларни таҳлил қилиш. // “ЎЗМУ хабарлари” журнали, 2017, №3/2, 105-108 б. (03.00.00; №9)
3. Saha S., Stelly D.M., Makamov A.Kh., Ayubov M.S., Raska D., Gutierrez O.A., Manchali Sh., Jenkins J.J., Deng D., Abdurakhmonov I.Y. Molecular confirmation of *Gossypium hirsutum* chromosome substitution lines. *Euphytica*. 2015. DOI 10.1007/s10681-015-1407-2. (Impact factor-1.62)
4. Makamov A.Kh. Development of chromosome specific recombinant inbred mapping populations using CS-B lines. // The proceeding of Tashkent International Innovation Forum. Tashkent 19-21 May, 2015, p. 301-307.
5. Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Макамов А.Х., Усмонов Д.Э., Абдурахмонов И.Ю. Использование молекулярных маркеров для идентификации моносомиков хлопчатника. // Ж. “Вестник НУУЗ”, 2015, №3/2, с.107-110. (03.00.00; №9)
6. Макамов А.Х., Абдурахмонов И.Ю., Буриев З.Т., Шерматов Ш.Э., Абдукаримов А. Профиль малых интерферирующих РНК и микроРНК развивающихся семян хлопчатника *G. hirsutum* L. // “Доклады Академии Наук” РУз. Ташкент, 2009. №3-4. с. 99-100. (03.00.00; №6)
7. Макамов А.Х., Абдурахмонов И.Ю., Буриев З.Т., Шерматов Ш.Э., Абдукаримов А.А. Аннотирование siRNA и микроРНК из развивающихся семян хлопчатника *G.hirsutum* L. // “Узбекский биологический журнал”. 2008. с. 26-29. (03.00.00; №5)

II бўлим (II часть; Part II)

8. Макамов А.Х., Салахутдинов И.Б., Хуршут Э.Э., Дарманов М.М., Тураев О.С., Қуйсунова Ю.М., Адилова О.Т., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Ғўзанинг РИЛ популяциясида агрономик ва тола сифат белгиларини QTL хариталаш. // “XXI аср интеллектуал ёшлар асри” мавзусидаги илмий материаллари. 2018, 97 б.
9. Макамов А.Х., Салахутдинов И.Б., Хусенов Н.Н., Мирзаёқубов К.Э., Маткаримов М.У., Дарманов М.М., Тураев О.С., Холмурадова М.М., Қўйсина Ю.М., Адилова А.Т., Шерматов Ш.Э., Бўриев З.Т.,

- Абдурахмонов И.Ю. Ғўзанинг рекомбинант инбред линиялар (РИЛ) популяциясида тола узунлигини QTL хариталаш. // “Тупроқшунослик–мамлакат экологик ва озиқ-овқат хавфсизлиги хизматида” мавзусидаги Респ. илм.-амал. анжумани мақолалари тўплами, 2017, 179-182 б.
10. Макамов А.Х., Салахутдинов И.Б., Ачилов С.Г., Гаффорова Н.Ф., Холмурадова М.М., Дарманов М.М., Тураев О.С., Хусенов Н.Н., Адилова О.Т., Шерматов Ш.Э., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Ғўзада тола чўзилувчанлиги белгисини QTL хариталаш. // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг муҳим муаммолари” мавзусидаги Респ. илм амал анжумани материаллари. Тошкент, 2017, 48-49 б.
11. Макамов А.Х., Салахутдинов И.Б., Ачилов С.Г., Гаффорова Н.Ф., Холмурадова М.М., Дарманов М.М., Тураев О.С., Хусенов Н.Н., Адилова О.Т., Шерматов Ш.Э., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Ғўзанинг рекомбинант инбред линиялар (РИЛ) популяциясида тола узунлигини QTL хариталаш. // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг муҳим муаммолари” мавзусидаги Респ. илм амал анжумани материаллари. Тошкент, 2017, 50-51 б.
12. Макамов А.Х., Холмурадова М.М., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю., Бобоҳужаев Ш.У., Санамьян М.Ф. Ғўзанинг (*G.hirsutum* L.) F₁ моносомик дурагайларида йўқолган хромосомаларни ДНК маркерлари ёрдамида аниқлаш. // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг муҳим муаммолари” мавзусидаги Респ. илм амал анжумани материаллари. Тошкент, 2017, 51-52 б.
13. Макамов А.Х., Ачилов С.Г., Дарманов М.М., Туланов А.А., Тураев О.С., Маткаримов М.Ў., Хусенов Н.Н., Рахматов Ф.Н., Кушанов Ф.Н., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Ғўзанинг рекомбинант инбред линиялар популяциясида генетик хилма-хиллик ва агрономик белгиларни баҳолаш. // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг муҳим муаммолари” мавзусидаги Респ. илм амал анжумани материаллари. Тошкент, 2016, 124-126 б.
14. Макамов А.Х., Ачилов С.Г., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю., Санамьян М.Ф., Бобоҳўжаев Ш.У. Хромосомаси алмаштирилган F₁ моносомик дурагайларда моносом хромосомаларни ДНК маркерлари ёрдамида аниқлаш. // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг муҳим муаммолари” мавзусидаги Респ. илм амал анжумани материаллари. Тошкент, 2016, 126-128 б.
15. Макамов А.Х., Ачилов С.Г., Дарманов М.М., Туланов А.А., Тураев О.С., Мирзаёқубов К.Э., Кушанов Ф.Н., Бўриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Хромосомаси алмаштирилган линиялардан (CS-B) фойдаланиб ғўза гермоплазмасини бойитиш. // “Генетика, геномика ва биотехнологиянинг муҳим муаммолари” мавзусидаги Респ. илм амал анжумани материаллари. Тошкент, 2016, 128-130 б.
16. Макамов А.Х., Усмонов Д.Э., Бобоҳўжаев Ш.У., Санамьян М.Ф., Буриев З.Т., Абдурахмонов И.Ю. Ғўзанинг (*G.hirsutum* L.) моносомик линияларида йўқолган хромосомаларни ДНК маркерлар технологияси

- ёрдамида аниқлаш. // Ёш олимлар илмий-амалий конференцияси тезислари тўплами, 2015, 329-331 б.
17. Sanamyan M.F., Makamov A.Kh., Usmonov D.E., Abdurakhmonov I.Y. // Using SSR markers for the identification of the cotton monosomics. // International Conference “Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology”. Novosibirsk, Russia, 2015. p.48.
 18. Makamov A.H., Usmonov D.E., Darmanov M.M., Tulanov A.A., Turaev O.S., et all. Development of chromosome specific recombinant inbred mapping populations using CS-B lines. // ICGI Conference, 2014. Wuhan, China. 2014. p.63
 19. Saha S., Stelly D.M., Raska D., Hulse A., Gutiérrez O.A., Makamov A., Gotmare V., Wang F., Manchali Sh., Jenkins J.N. and Abdurakhmonov I.Y. Molecular Confirmation of *Gossypium hirsutum* Chromosome Substitution Lines and Interspecific F₁ Hypoaneuploids. // Beltwide Cotton Conferences Proceedings, Orlando, FL. 2012. p.84.

Автореферат «Ўзбекистон биология журналы» тахририятидан ўтказилди.

Босишга рухсат этилди: 20.07.2018 йил
Бичими 60x84 ¹/₁₆. «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулда чоп этилди.
Шартли босма табағи 3. Адади 100. Буюртма № 20-06

“IMPRESS MEDIA” MChJ босмаҳонасида чоп этилди.
Тошкент шаҳри, Қушбеги кўчаси, 6-уй.