

DNK MARKERLAR TEXNOLOGIYASINING O'ZBEKISTONDAGI YUMSHOQ BUG'DOY (*TRITICUM AESTIVUM* L.) TADQIQOTLARIDA QO'LLANILISHI

Ozod Sunnataliyevich Turayev

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi,
biologiya fanlari falsafa doktori

Umiddjan Shakirdjanovich Baxadirov

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi,
biologiya fanlari falsafa doktori

Jo'rabek Kushbakovich Norbekov

O'zRFA Genomika va bioinformatika markazi kichik ilmiy xodimi

Doston Sheraliyevich Erjigitov

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti tayanch doktoranti

Abdurauf Arabboy o'g'li Dolimov

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti tayanch doktoranti

Barno Turdikulovna Tursunmurodova

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti tayanch doktoranti

Zafar Mashrabovich Ziyayev

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi,
biologiya fanlari falsafa doktori

Faxriddin Ne'matullayevich Kushanov

O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti professori, biologiya
fanlari doktori

ANNOTATSIYA

Bug'doy (*Triticum* spp.) dunyo aholisining uchdan bir qismi tomonidan iste'mol qilinadigan asosiy oziq-ovqatlardan biridir. Ushbu tahliliy maqolada O'zbekistonda yumshoq bug'doy bo'yicha olib borilgan molekulyar tadqiqotlar, xususan bug'doy germoplazmasini shiraga chidamliligini DNK markerlari asosida baholash, genetik xaritalash populyatsiyalarini yaratish va DNK barkodlash tadqiqotlari yoritilgan.

Kalit so'zlar: Yumshoq bug'doy, *Triticum aestivum*, shira, DNK markerlar, DNK barkodlash, chidamlilik, xaritalash populyatsiyasi, chidamlilik genlari.

ABSTRACT

Wheat (*Triticum* spp.) is one of the major foods consumed by one-third of the world's population. In this review, we reported molecular research on bread wheat in Uzbekistan, in particular the evaluation of wheat germplasm for aphid resistance based on DNA markers, the development of mapping populations, and DNA barcoding studies.

Keywords: Bread wheat, *Triticum aestivum*, aphid, DNA markers, DNA barcoding, resistance, mapping population, resistance genes.

Molekulyar marker texnologiyasi so‘nggi yigirma yil ichida bug‘doy genomidagi abiotik va biotik stresslarga chidamlilik va hosildorlik bilan bog‘liq qishloq xo‘jaligidagi ahamiyatli belgilarni baholashda keng ommalashdi [1]. Molekulyar markerlar genomdagi gen yoki gen hududlari bilan bog‘liq bo‘lgan DNK ketma-ketligi sifatida tavsiflanadi. Bu markerlar barcha organizmlarda polimorf DNK ketma-ketligini aniqlash uchun ishlatiladigan nukleotidlar ketma-ketligidir. Ushbu ketma-ketliklarning eng muhim xususiyati shundaki, ular polimorf bo‘lib, yuqori sifatlari genotiplarni aniqlab olish qobiliyatiga ega va butun genom bo‘ylab juda ko‘p miqdorda uchraydi [2]. Molekulyar markerlar fenologik belgilarga asoslangan morfologik markerlarga va oqsilga asoslangan biokimyoviy markerlarga nisbatan ancha ishonchli hisblanadi. Ular juda ko‘p, atrof-muhitga ta’sirchan bo‘lmaydi, o‘simliklarning o‘suv jarayonida osongina kuzatilishi mumkin va lokuslararo o‘zaro ta’sirlarni hosil qilmaydi. Shuning uchun, DNK markerlari seleksiya tadqiqotlarida o‘simlik materiallarini baholash uchun eng yaxshi vositadir. DNKga asoslangan molekulyar markerlar taksonomiya, fiziologiya, embriologiya, genetik muhandislik va shu kabi sohalarda qo‘llaniladigan ko‘p qirrali vositalardir. Polimeraza zanjir reaksiyasining (PZR) kashf etilishi, bug‘doy genomida genlarni belgilash, genetik xaritalash, genetik xaritalar asosida qishloq xo‘jaligida muhim genlarni aniqlash, seleksiya, molekulyar munosabatlar hamda bug‘doy genomidagi xilma-xillikni o‘rganish tadqiqotlarini osonlashtirdi [3]. Bundan tashqari, molekulyar markerlar bug‘doy turlari va ularning qarindoshlarida [4] genotip identifikasiysi bilan birgalikda turlar yoki populyatsiya darajasida ma’lum lokuslardagi farqliklarni aniqlash uchun ham qo‘llaniladi. Ushbu usullarning asosi ma’lum nukleotidlar ketma-ketligiga ega DNK fragmentini PZR amplifikatsiyasi hisoblanadi.

Bugungi kunga kelib, bug‘doya abiotik va biotik stress omillariga chidamlilik belgilari bilan genetik bog‘langan ko‘plab DNK markerlari identifikasiya qilingan. DNK markerlarini aniqlash uchun o‘simliklarda xaritalash populyatsiyalarini markerlarning ishonchlilagini ta’minlashdi juda muhim hisoblanadi. Shuningdek, DNK markerlarning ishonchliligi,

yuqori darajali polimorfizmi bugungi kunda butun dunyoda keng qo'llanilayotgan o'simlik navlarining genetik paspotlarini ishlab chiqish imkoniyatlarini oshiradi [5].

Dnk-markerlari asosida bug'doy germoplazmasini shiraga chidamlilik bo'yicha pzs-ckrining qilish

Rus bug'doy shirasi (*ingl. Russian wheat aphid, RWA*), *Diuraphis noxia* bug'doy va boshqa donli ekinlarning iqtisodiy jihatdan muhim va invaziv zararkunandalaridan biridir. Butun dunyo bo'ylab bug'doy hosildorligiga ta'sir qiluvchi asosiy omillardan biri bo'lgan shira to'g'ridan-to'g'ri o'simlik shirasini so'rib, yoki bilvosita virusli va zamburug'li kasalliklarni yuqtirish orqali hosilga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bu muammoni hal qilish uchun shira biologiyasi, ekologiyasi, tarqalishi va ko'payishini o'rghanishga katta e'tibor berilmoqda. Bug'doya shiraga chidamlilikning molekulyar asoslarini o'rghanish, uni yaxshi tushunish, o'simlikda chidamlilikni boshqarishni, yangi chidamli navlarni yaratishni osonlashtiradi.

Yaqinda, Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutidagi yumshoq bug'doy germoplazmasining 80 ta nav namunalarida RWA ga chidamlilik bilan genetik bog'langan 8 ta DNK markerlari (Xgwm44 [6], Xgwm111 [6], Xgwm635 [7], Xbarc76 [3], Xbarc172 [8], Xbarc214 [8], Xksud14 [9], Wmc473 [10]) yordamida PZR-skriningni amalga oshirdik. DNK markerlari bilan bug'doy namunalarini genotiplash natijasida Termiz-10, KR159808 liniyasi, Xamkor, Zarafshon, Denov-1, Durdona va Vostok navlarida chidamlilik allellari mavjud ekanligi aniqlandi. Shuningdek, bug'doya shiraga chidamlilik bo'yicha markerlarga asoslangan seleksiya texnologiyasini amalga oshirish uchun Xgwm44 va Xgwm111 DNK markerlari eng ishonli markerlar ekanligi tasdiqlandi.

Xgwm111 mikrosatelli markeri bug'doyning 7DS (kalta yelkasida) joylashgan bo'lib, rus bug'doy shirasiga chidamlilikning *Dn1*, *Dn2*, *Dn5*, *Dn6*, *Dnx* va *DnCl2401* genlari bilan bog'langan [11]. Xgwm44 markeri esa *Dn2*, *Dn5*, *Dn6* va *Dnx* genlariga genetik bog'langanligi olimlar tomonidan isbotlangan [7,11,12].

Dala tajriba maydonchasida o'stirilgan bug'doy nav namunalarida shiraning ko'payish dinamikasi va bug'doy namunalaridagi transpiratsiya faolligiga ta'siri baholandi. Shuningdek, o'simliklarning asosiy poya uzunligi, biomassasi va boshqadagi don vazni kabi belgilari o'rGANildi. Bundan tashqari, bargning umumiy suv miqdori, transpiratsiya jadalligi, bargning suv ushslash xususiyati, barg satxining zichligi ($\text{mg}/10 \text{ sm}^2$) hamda xlorofill "a" va "b"ning miqdori (mg) tahlil qilindi. Dala tajriba sinovlari natijasida yuqorida ta'kidlangan bug'doy genotiplarining chidamliligi boshqa nav namunalariga nisbatan yuqori bo'ldi.

Tadqiqot natijasida 80 ta bug'doy nav va tizmalar genoma shu kungacha butun dunyoda aniqlangan Rus bug'doy shirasiga chidamlilik bo'yicha 14 ta 'Dn' genlaridan 8 tasi, ya'ni *Dn1*, *Dn2*, *Dn4*, *Dn5*, *Dn6*, *Dn8*, *Dnx* va *DnCl2401* genlari mavjudligi aniqlandi. Shiraga chidamli deb topilgan bug'doy nav namunalarini kelgusida markerlarga asoslangan seleksiya texnologiyasiga jalb etish orqali yangi chidamli navlarni yaratish imkonini beradi.

Mahalliy yumshoq bug'doy navlari uchun dnk barkodlar ishlab chiqish

Bug'doy navlari yoki germoplazma namunalarini o'zaro farqlanishi, o'simlikning balandligi, boshoq uzunligi, donning o'lchami va shakli, vegetatsiya davri, erta pishishi, yetishtirish va seleksiya jarayonida kasalliklarga chidamliligi kabi fenotipik xususiyatlarning tavsifiga bog'liq [5]. Biroq, ushbu xususiyatlar atrof-muhit sharoitlariga qarab o'zgaradi, natijada turli yillarda yoki turli mintaqalarda nasldan-nasnga o'tmaydigan fenotipik o'zgarishlar yuzaga keladi. Shuning uchun, faqat fenotipik belgilarga asoslangan identifikatsiyalash ishonchli deb hisoblanilmaydi. Garchi, bug'doy navlarining genetik xilma-xilligi ularning yovvoyi shakllaridan ancha past bo'lsa-da, bu ekinning erta pisharlik, hasharotlar va kasalliklarga chidamlik xususiyatlari uchun doimiy seleksiya bosimi ostida madaniylashtirilganligi yangi navlarni yuqori aniqlikda identifikatsiyalashni qiyinlashtirdi. Molekulyar markerlar texnologiyasining rivojlanishi, atrof-muhit omillariga ta'sirchan bo'lmagan DNK darajasida ekin navlarini tez va yuqori aniqlikda identifikatsiyalash imkonini berdi [5]. DNK markerlarining ishonchliligi tufayli o'simliklarning yangi navlarini himoya qilish xalqaro ittifoqi (*engl. The International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV*) o'simlik navlarida DUS (*engl. Distinctness, Uniformity and Stability - farqlilik, bir xillik va barqarorlik*) testini amalga oshirish uchun molekulyar markerlardan foydalanishga ruxsat berdi.

Yaqinda tadqiqotchilar, Genomika va bioinformatika markazida bug'doyning 32 ta navi uchun DNK barkodlarini ishlab chiqdilar [13]. Bug'doy navlarining DNK barkodlarini ishlab chiqish uchun bug'doyning sariq zang kasalligiga chidamlilik va boshqa qimmatli xo'jalik belgilari bilan genetik bog'langan 144 ta SSR markerlar ichidan yuqori polimorfizmga ega 36 ta asos markerlar (*engl. core markers*) ishlatilgan. Natijalar seleksioner olimlarga o'zlarining yangi navlarini xalqaro miqyosda tasdiqlash va intellektual mulk huquqini himoya qilish imkonini beradi.

Yumshoq bug'doyda uyali assotsiativ xaritalash (uax) populyatsiyasini ishlab chiqish

Genetik xaritalash yondashuvlarining rivojlanishi bilan qishloq xo‘jaligi ekinlaridagi iqtisodiy muhim belgilarga genetik bog‘langan DNK markerlarini aniqlash va qo‘llash seleksiya jarayonlarini sezilarli darajada tezlashtiradi [14]. Shu kungacha, o‘simpliklardagi qimmatli xo‘jalik belgilarni nazorat qilishda ishtirok etuvchi genom hududlar/genlarni aniqlash uchun turli xil samarali usul va yondashuvlar ishlab chiqilgan [15]. Xususan, turli ekinlarda miqdoriy belgilar lokuslari (*ingl. Quantitative trait loci*, QTL) xaritasini tuzishda genetik bog‘lanishni xaritalash (*ingl. Linkage mapping*), noteng genetik bog‘lanish (*ingl. Linkage disequilibrium*, LD) asosidagi Assotsiativ xaritalash va uyali assotsiativ xaritalash (UAX) usullari qo‘llanilmoqda. An‘anaviy QTL xaritalash (Linkage mapping) yondashuvidan foydalangan holda o‘simpliklarning iqtisodiy jihatdan muhim belgilarini boshqaradigan ko‘plab DNK markerlari aniqlangan. Bu markerlarning ba’zilari mahalliy nav genotiplariga xos bo‘lib, ular genetik jihatdan boshqa geografik joylarda yaratilgan nav genotiplarining iqtisodiy muhim belgilari bilan bog‘lanmasligi mumkin [16]. Bunday muammolarni hal qilish uchun LD ga asoslangan Assotsiativ xaritalash yondashuvi ishlab chiqilgan bo‘lib, ushbu usulni birinchi bo‘lib Breseghello va Sorrell lar (2006) bug‘doy germoplazma resurslarining genetik xilma-xilligini baholash va qimmatli genlarni aniqlash uchun muvaffaqiyatli qo‘llagan [17].

Assotsiativ xaritalashning asosiy kamchiliklari foydalanilgan germoplazma kolleksiya namunalarining genetik tuzilishi, hajmi va yoshi bilan bog‘liq. UAX usuli ushbu kamchiliklarni bartaraf etish va yuqorida qayd etilgan yondashuvlarning afzalliklarini o‘zida mujassamlashtirish uchun ishlab chiqilgan. UAX dizayni ilk bor Yu va boshqalar (2008) tomonidan ishlab chiqilgan [18] va McMullen va boshqalar (2009) tomonidan amalga oshirilgan [19]. Olimlar, makkajo‘xori gullah vaqtining genetik arxitekturasini o‘rganish uchun umumiy otalik shakli sifatida makkajo‘xorining B73 liniyasini 25 ta liniyalar bilan duragaylash asosida 4699 ta rekombinant inbred liniyalari (RIL)dan iborat makkajo‘xori UAX populyatsiyasini ishlab chiqishdi [19]. Bajgain va boshqalar (2016) birinchi bo‘lib bug‘doyning UAX populyatsiyasini ishlab chiqishdi va ular poya zangiga chidamlilikning molekulyar asoslarini o‘rgandilar [20]. Bug‘doyning navbatdagi UAX populyatsiyalaridan biri Norbekov va boshqalar (2019) tomonidan shakllantirildi [21]. Kelgusida, bug‘doy genomini o‘rganish tadqiqotlari takrorlanuvchi oddiy ketma-ketliklar (*ingl. simple sequence repeats*, SSR) va yagona nukleotid polimorfizmlari (*ingl. single nucleotide polymorphisms*, SNP) kabi molekulyar markerlardan foydalanib, iqtisodiy jihatdan muhim belgi va xususiyatlarni butun genom

assotsiatsiyasini o‘rganish (*engl.* genome-wide association study, GWAS) usuli orqali rivojlantiriladi.

Bug‘doyning UAX populyatsiyasi Genomika va bioinformatika markazida umumiy onalik shakli sifatida sariq zangga moyil bo‘lgan Morocco navi va 16 ta liniyalar asosida ishlab chiqilgan [21].

17 ta ota-onalari va 16 ta UAX kombinatsiyasi oilalarining 3200 ta F_2 duragaylarining chidamliligi dala sharoitida sariq zangning uredinosporalarini ta’sir ettirish yo‘li bilan baholangan. Shuningdek, UAX populyatsiyasining zararlantirilgan F_3 duragaylari va ularning ota-onalari genotiplarida boshoq uzunligi (sm), boshoqdagi don vazni va soni (g) kabi bir qancha fenotipik baholashlar o‘tkazilgan. Bundan tashqari, UAX populyatsiyasining ota-onalari genotiplarida sariq zangga chidamlilik, qurg‘oqchilik va sho‘rga chidamlilik kabi iqtisodiy jihatdan muhim belgilari bilan bog‘liq bo‘lgan 144 SSR markerlari yordamida genotiplangan. Natijada, 188 ta allel hosil bo‘lgan va BARC, WMC va WMS primerlari uchun polimorfik lokuslar soni mos ravishda 2, 24 va 25 tani tashkil etgan [21].

XULOSA

O‘zbekiston bug‘doy (*Triticum* spp.) tadqiqotlarida DNK markerlar texnologiyasini qo‘llash, mahalliy navlarni o‘zaro ishonchli farqlash uchun genetik pasportlar ishlab chiqishga imkon berdi. Bu esa seleksioner olimlarning o‘z navlarini xalqaro darajada tasdiqlash va intellektual mulk huquqlarini himoyalashda ishonchli hujjat bo‘la oladi. Shuningdek, bug‘doydagi chidamlilik kabi murakkab xususiyatlarning molekulyar asoslarini tushunish, chidamlilik allellarini mahalliy navlarga introgressiya qilish imkonini beradi. Bundan tashqari, keng genetik segregatsiyaga ega xaritalash populyatsiyalarining yaratilganligi, kelgusida bug‘doyning qimmatli xo‘jalik belgilari boshqarishda ishtirok etuvchi genom hududlarini yuqori aniqlikda identifikasiya qilishni osonlashtiradi. Bu esa o‘z navbatida, bug‘doya markerlarga asoslangan seleksiya, genom seleksiysi va genlarni piramidalash texnologiyalarini muvaffaqiyatli amalga oshirish imkonini beradi.

REFERENCES

1. Kiszonas, A. M. and Morris, C. F. (2018). Wheat breeding for quality: a historical review. *Cereal Chem.*, 95, 17–34.
2. Semang, K., Bjornstad, A. and Ndjiondjop, M. N. (2006). An Overview of Molecular Marker Methods for Plants. *African Journal of Biotechnology* 5 (25), 2540-2568.

3. Joshi, S. P., Gupta, V. S., Aggarwal, R. K., Ranjekar, P. K., Brar, D. S. (2000). Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theor. Appl. Genet.*, 100, 1311–1320.
4. Henry, R.J. (2001). Plant genotyping-The DNA fingerprinting of plants. CABI Publishing, UK.
5. Turayev O.S., Norbekov J.Q., Mamedova F.F., Normamatov I.S., Xolmuradova M.M., Kushanov F.N. O'simliklarni identifikasiya qilishda DNK-barkodlash texnologiyasining qo'llanilishi. NamDU ilmiy axborotnomasi, 2021 yil, 1-son. 85-91 betlar.
6. Liu XM, Smith CM, Gill BS. 2002. Identification of microsatellite markers linked to Russian wheat aphid resistance genes *Dn4* and *Dn6*. *Theor. Appl. Genet.* 104(6-7), 1042-1048. doi:10.1007/s00122-001-0831-y
7. Ma ZQ, A. Saidi A, JQuick JS, Lapitan NLV (1998) Genetic map-ping of Russian wheat aphid resistance genes Dn2 and Dn4 inwheat. *Genome* 41: 303–306
8. Heyns I., Groenewald E., Marais F., Du Toit F., Tolmay V. Chromosomal location of the Russian wheat aphid resistance gene, Dn5. *Crop Sci.* 2006, 46, 630–636
9. Victoria A. Valdez et all “Inheritance and Genetic Mapping of Russian Wheat Aphid Resistance in Iranian Wheat Landrace Accession PI 626580” Published in *Crop Sci.* 52:676-682 (2012).doi: 10.2135/cropsci2011.06.0331
10. Huang B.S. Gill “An RGA – like marker detects all known Lr21 leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat” eceived: 22 December 2000 / Accepted: 12 February 2001
11. Liu, Xuming Smith, Charles Gill, B. Tolmay, Vicki. (2001). Microsatellite markers linked to six Russian wheat aphid resistance genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics.* 102. 504-510. 10.1007/s001220051674
12. Miller, Cynthia & Altinkut Uncuoğlu, Ahu & Lapitan, Nora. (2001). A Microsatellite Marker for Tagging , a Wheat Gene Conferring Resistance to the Russian Wheat Aphid. *Crop Science CROP SCI.* 41. 10.2135/cropsci2001.4151584x
13. Adylova A.T., Norbekov G.K., Khurshut E.E., Nikitina E.V., Kushanov F.N. SSR analysis of the genomic DNA of perspective Uzbek hexaploid winter wheat varieties. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii.* 2018;22(6):634-639. DOI 10.18699/VJ18.404
14. Kushanov et al. “Genetic Diversity, QTL Mapping, and Marker-Assisted Selection Technology in Cotton (*Gossypium* spp.)”. *Front. Plant Sci.* (2021): 12:779386. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.779386>

15. Kushanov, F.N.; Komilov, D.J.; Turaev, O.S.; Ernazarova, D.K.; Amanboyeva, R.S.; Gapparov, B.M.; Yu, J.Z. Genetic Analysis of Mutagenesis That Induces the Photoperiod Insensitivity of Wild Cotton *Gossypium hirsutum* Subsp. *purpurascens*. *Plants* 2022, 11, 3012. <https://doi.org/10.3390/plants11223012>
16. Turaev et al., "Statistical analysis for stability of fiber quality traits of cotton NAM founders". Proceedings of the III Tashkent international innovation forum TIIF-2017 from innovative ideas to innovative economy. (2017): 176-182.
17. Flavio Bresegheello and Mark E. Sorrells. Association Mapping of Kernel Size and Milling Quality in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. *Genetics*. (2006): 172(2): 1165–1177. doi: 10.1534/genetics.105.044586. PMCID: PMC1456215
18. Yu J. et al. "Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize". *Genetics*. (2008): 178 (1): 539–551. doi:10.1534/genetics.107.074245
19. McMullen M.D. et al. "Genetic Properties of the Maize Nested Association Mapping Population". *Science*, 325(5941), (2009): 737–740. doi:10.1126/science.1174320
20. Bajgain P. et al. "Nested Association Mapping of Stem Rust Resistance in Wheat Using Genotyping by Sequencing". *PLoS ONE* (2016): 11(5): e0155760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155760>
21. J.K. Norbekov et al. "Molecular evaluation of genetic diversity among parental genotypes in NAM population". The Bulliten of Namangan State University. №1. (2019): 115-121.