

ДНК МАРКЕРЛАРИ АСОСИДА ЮМШОҚ БУҒДОЙНИНГ ЮҚОРИ ҲАРОРАТГА ЧИДАМЛИ ГЕНОТИПЛАРИНИ ТАНЛАШ

О. С. Тураев, А. А. Турдимуратов, Б. Т. Хамитов, Д. Ш. Эржигитов,
Т. М. Норов, З. М. Зияев, П. А. Турешов, Ф. Н. Кушанов

Экология, атроф-муҳитни муҳофаза қилиш ва иқлим ўзгариши вазирлиги
хузуридаги Оролбўйи халқаро инновация маркази, Нукус

E-mail: ozodturaev@gmail.com

С. Ш. Салимова

²Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти, Тошкент

А. И. Сейтмусаев

³Қорақалпоғистон қишлоқ хўжалиги ва агротехнологиялар институти, Нукус

АННОТАЦИЯ

Буғдой селекцияси жараёнларида ДНК маркерлар технологиясидан фойдаланиш юқори ҳарорат каби абиотик стресс омилларига чидамли бўлган янги навларини яратишни осонлаштирди. Мазкур тадқиқотда СИММУТ кўчатзорларига мансуб юмшоқ буғдойнинг 33 та тизмалари ҳамда маҳаллий Семурғ (назорат) навидан фойдаланилди. Юқори ҳароратга чидамлиликнинг лобаратория таҳлиллари асосида L030, L095, L124, L138 ва L190 юмшоқ буғдой тизмалари чидамли эканлиги аниқланди. Тадқиқотда юқори ҳароратга чидамлилик билан генетик боғланган 6 та (Wmc25, Wmc44, Wmc273, Wmc327, Xcfa2147 ва Xcfd76) ДНК маркерларидан фойдаланилди. Статистик таҳлиллар орқали Wmc44 ДНК маркери чидамлилик билан генетик боғланган, энг ишончли маркер эканлиги аниқланди, шунингдек геномида чидамлилик маркер аллели (280 ж.а.) мавжуд бўлган L019, L095, L124 ва L138 тизмалари ажратиб олинди. Геномида Wmc44 ДНК маркер аллели мавжуд бўлган ҳамда фенотипик жиҳатдан чидамлиликни номоён қилган L095, L124 ва L138 тизмалари ажратиб олинди ҳамда уларнинг уруғ кўпайтириш кўчатзорлари ташкил этилди. Келгусида, уларни янги нав сифатида амалиётга тадбиқ этиш кўзда тутилган.

Калит сўзлар: Баҳорги юмшоқ буғдой, *Triticum aestivum* L., ДНК маркери, юқори ҳарорат, чидамлилик.

ABSTRACT

The implementation of DNA marker technology in wheat



breeding has facilitated the development of new varieties with tolerance to abiotic stress factors like high temperatures. In this study, 33 bread wheat lines from CIMMYT nurseries and the local Semurg variety (control) were analyzed. Based on laboratory tests for high-temperature tolerance, five winter wheat lines (L030, L095, L124, L138, and L190) were identified as tolerant. Six DNA markers (Wmc25, Wmc44, Wmc273, Wmc327, Xcfa2147, and Xcfd76) associated with high temperature tolerance were used in the study. Statistical analysis revealed that the Wmc44 marker was the most reliable indicator of tolerance. Four lines (L019, L095, L124, and L138) were found to carry the tolerant allele (280 bp) of this marker in their genomes. The L095, L124, and L138 lines, which possess the Wmc44 marker allele and demonstrated phenotypic tolerance, were isolated for further development. Seed propagation nurseries have been established for these lines, to eventually introduce them as new, temperature-tolerant wheat varieties.

Keywords: Winter wheat, *Triticum aestivum* L., DNA marker, high temperature, tolerance.

КИРИШ

Буғдой (*Triticum aestivum* L.) дунёнинг асосий экинларидан бири бўлиб, ғаллачиликда юқори ва барқарор ҳосил олиш энг муҳим мақсад ҳисобланади. Бугунги кунда буғдой бошқа ҳар қандай экинларга қараганда кўпроқ қишлоқ хўжалиги ерларида етиштирилади ва одамлар учун энг муҳим озиқ-овқат манбаи бўлиб қолмоқда. Ривожланаётган мамлакатларда одамлар учун зарур бўлган протеин калорияларининг 40 фоиздан ортиғи тўғридан-тўғри буғдой маҳсулотларидан келади. Қорақалпоғистон Республикасида етиштириладиган буғдой навлари асосан интенсив навлар бўлишига қарамай, нафақат сув танқислиги ва шўрланиш балки, юқори ҳарорат таъсирида ҳам ҳосилдорлик ва дон сифати бугунги кун талабларига жавоб бермайди. Кузги буғдойнинг кўп навлари Оролбўйи галофит деҳқончилик тизимида юқорида қайд этилган стресс омилларига жуда сезгир. Бинобарин, Қорақалпоғистон шароити учун баҳорги буғдойнинг юқори ҳарорат таъсирига чидамли янги, серҳосил навларини етиштириш ва яратиш бугунги кундаги энг муҳим тадқиқот йўналишларидан биридир.

Юқори ҳароратга чидамлилик табиатда миқдорий бўлиб, бир қатор генлар/QTL (миқдорий хусусият локуслари) томонидан бошқарилади [1]. Сўнгги ўттиз йил ичида юқори ҳароратга чидамлиликнинг генетик асосларини аниқлашга ҳаракат қилинди. Langdon хромосомалари алмаштирилган линиялари биринчи марта



юқори ҳароратка бардошли генларни хариталашда ишлатилган ва улар билан боғлиқ генлар 1991 йилда 3A, 3B, 4A, 4B ва 6A хромосомаларида топилган [2]. Хи ва бошқалар [3] кейинчалик 3A, 3B ва 3D хромосомалари Норе буғдой навида юқори ҳароратка чидамлик билан боғлиқлигини аниқлашди. Chinese Spring ва Норе навлари ўртасидаги хромосомалари алмаштирилган линиялардан фойдаланган ҳолда, Норе навининг 2A, 3A, 2B, 3B ва 4B хромосомалари юқори ҳароратка бардошлиликни сезиларли даражада оширган [4]. Биргаликда, 3A ва 3B хромосомалари буғдойнинг юқори ҳароратка бардошлилигини назорат қилувчи асосий генларни ўз ичига олганлиги аниқланган.

Молекуляр маркерлар ва миқдорий генетика ривожланишидаги ютуқлар буғдойнинг юқори ҳароратка бардошлилигига таъсир қилувчи QTLни аниқлаш учун кучли воситаларни тақдим этди. Юқори ҳароратка бардошлилигига сезиларли таъсир кўрсатадиган кўплаб QTLлар бардошлилик кўрсаткичлари сифатида турли маркерлар ёрдамида аниқланган [5]. Асуña-Galindo ва бошқалар QTL мета-таҳлили ёрдамида [6] 1B, 2B, 2D, 4A, 4B, 4D, 5A ва 7A хромосомаларида курфоқчилик ва юқори ҳароратка чидамлик билан боғлиқ бўлган саккизта асосий QTL кластерини аниқлашди. Бу ўша ҳудудлардаги генларни аниқлаш учун генетик хариталаш усуллари қўллаш мумкинлигини кўрсатди. Хромосомалари алмаштирилган линиялардан фойдаланган ҳолда ўтказилган тадқиқотларга мувофиқ, юқори ҳароратка бардошлиликни назорат қилувчи кўплаб QTLлар 3B хромосомасида жойлашган [7].

Юқори ҳароратка бардошлиликни яхшилашга қаратилган муваффақиятли МАС дастурининг муҳим шартини конститутив QTLни аниқлашдир. Яқинда, юқори ҳароратка бардошлилик билан боғлиқ QTL харитаси учун ўз вақтида ва кечки экиш муддатлари ишлатилган ва 2B ҳамда 7B хромосомаларда конститутив QTL аниқланган [5]. Ушбу усулни қўллаш орқали олимлар гамма нурланиши орқали Shi 4185 элита буғдой нави мутантдан келиб чиққан Fu 4185 нави донининг оғирлигини назорат қилувчи 5DL хромосомасида битта атроф-муҳит жихатдан барқарор QTL аллелини аниқлашди [8]. Юқори ҳарорат стрессининг буғдой ишлаб чиқаришда дон оғирлигига жиддий таъсирини ҳисобга олган ҳолда, юқори ҳароратли стресс остида дон оғирлиги билан боғлиқ QTL ни танлаш буғдой ҳосилдорлигини ошириши мумкин.

МАТЕРИАЛЛАР ВА УСЛУБЛАР

Тадқиқот материаллари. Тадқиқотда CIMMYT кўчатзорларига мансуб юмшоқ буғдойнинг 33 та тизмалари



ҳамда маҳаллий Семурғ (назорат) навидан фойдаланилди. Бунда, назорат намунасига шартли равишда L001, қолган намуналарга L002 дан L034 гача тартибда ном берилди.

Юқори ҳароратга чидамликни баҳолаш. Юмшоқ буғдой намуналари юқори ҳароратга чидамлилигини Г.В. Удовенко, (1988) услуби асосида олиб борилди.

Геном ДНК ажратиш. Буғдой намуналари инкубаторда, петри идишларида ўстирилиб, улардан СТАВ усулида геном ДНК ажратилди.

ПЗР таҳлили. Тадқиқот намуналарини шўрга чидамликка алоқадор 6 та ДНК маркерлар панели тузилиб (Wmc25, Wmc44, Wmc273, Wmc327, Xcfa2147 ва Xcfd76), ушбу панел билан полимераза занжир реакцияси (ПЗР) таҳлили амалга оширилди.

Гель-электрофорез. Тадқиқот намуналарининг геном ДНКси (0,9%) ва ПЗР маҳсулотларининг молекуляр оғирлиги (2,5%) агароза гелида аниқланди.

Статистик таҳлиллар. Олинган барча рақамли маълумотлар NCSS12 дастурий пакерининг бир омилли ковариация таҳлили (One-Way ANCOVA) асосида ҳисобланди.

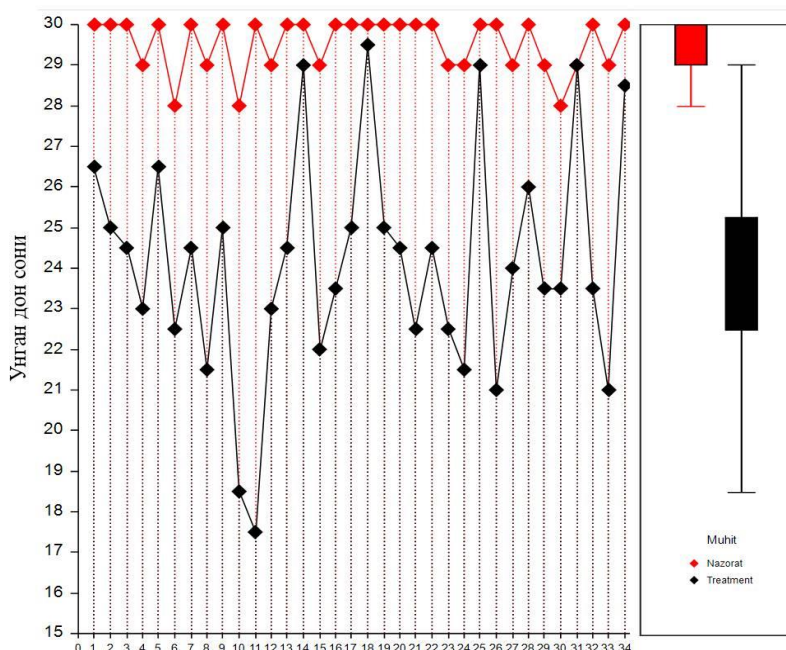
НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ МУҲОКАМАСИ

Юқори ҳарорат қишлоқ хўжалик экинлари ҳосилдорлиги ва сифати учун жуда муҳим омил ҳисобланади. Аммо сўнги йилларда мамлакатимизга аномал иссиқ оқимларининг кириб келиши ўсимликлар вегетатив давомийлигининг бузилишига ва ҳосилдорликнинг кескин камайишига сабаб бўлмоқда. Бу эса, глобал иқлим ўзгаришлари билан боғлиқдир. Қорақалпоғистон иқлими учун мос бўлган буғдой навларини танлаш ва жорий этиш олимлар олдида турган асосий масалалардан бири ҳисобланади.

Тадқиқот намуналарини юқори ҳарорат стрессига бардошлилик кўрсаткичлари лаборатория шароитида ўрганилди ва таҳлиллар амалга оширилди. Бунинг учун юмшоқ буғдой намуналарининг донлари иссиқ сув ҳаммомида маълум вақт тутиб турилиб, термик ишлов берилди. Юқори ҳарорат стрессига донларнинг униш кучи, яшовчанлиги ва юқори ҳароратга чидамлик кўрсаткичлари ўрганилди. Юқори ҳарорат стресси таъсир эттирилмаган назорат намуналарида танланган 34 та намунадан 3 таси 90% унган, 9 таси 96% унган, қолган намуналарнинг барчаси эса 100% унганлиги аниқланди. Термик ишлов берилган тажриба намуналари орасидан L119 намуна 58,3%, L117 намунаси 61,6% унганлигини кўрсатган бўлса, L030, L095, L124, L138, ва



L190 намуналари 93,3-98,3% униб чиққанлиг кузатилди (1-расм).



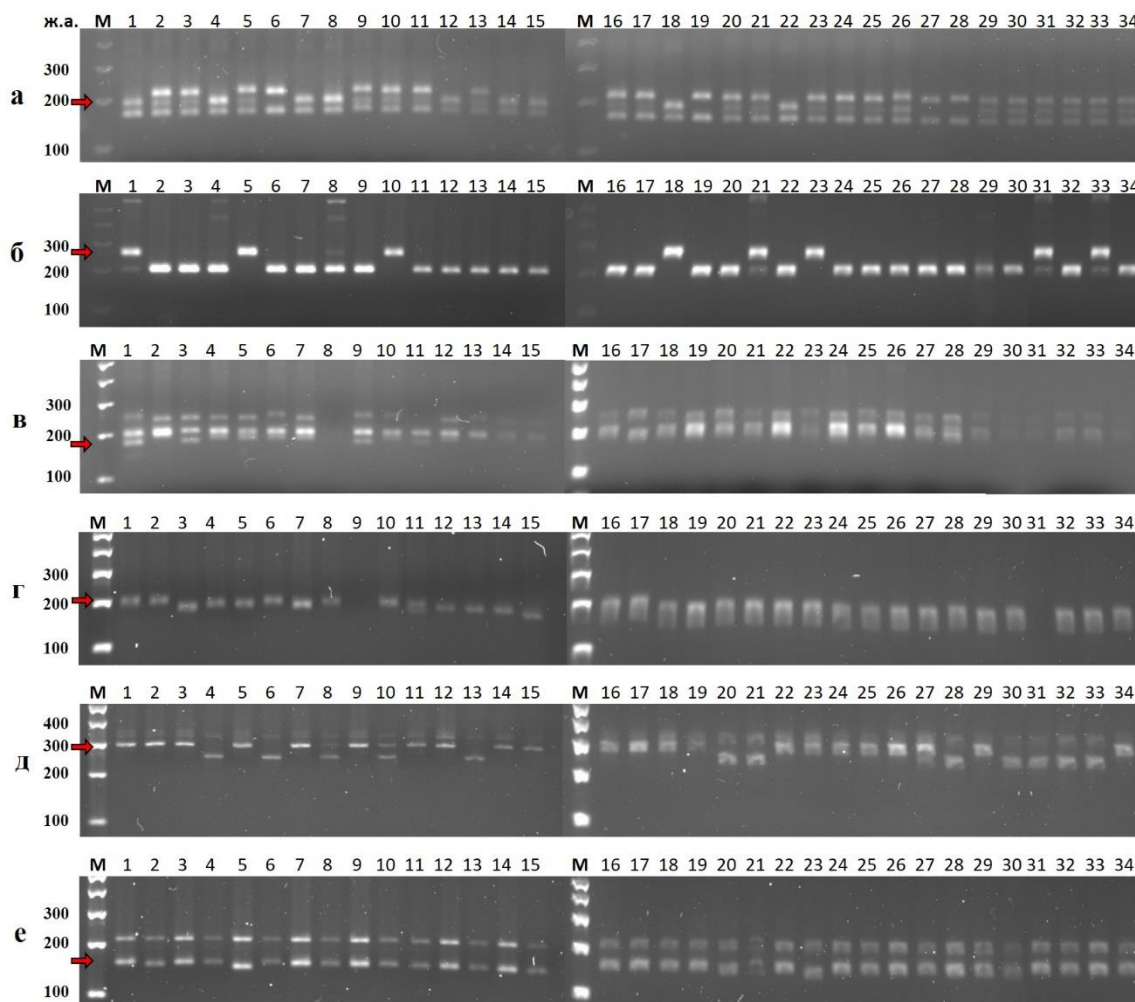
1-расм. Баҳорги буғдой намуналарининг юқори ҳарорат стрессидан сўнг униб чиққан донлар сони кўрсаткичи. **1** - L001, **2** - L106, **3** - L007, **4** - L009, **5** - L157, **6** - L112, **7** - L060, **8** - L061, **9** - L062, **10** - L117, **11** - L119, **12** - L165, **13** - L019, **14** - L124, **15** - L073, **16** - L027, **17** - L026, **18** - L030, **19** - L132, **20** - L134, **21** - L033, **22** - L079, **23** - L035, **24** - L081, **25** - L138, **26** - L087, **27** - L040, **28** - L042, **29** - L043, **30** - L142, **31** - L095, **32** - L097, **33** - L047, **34** - L190.

Юмшоқ буғдойнинг унувчанлик кўрсаткичи экилган 100 та уруғдан унган донлар сонини аниқлаш орқали аниқланди. Донларнинг юқори ҳароратга чидамлилигини эса термик ишловдан кейинги унган донларнинг барг ва илдизларининг узунлигини ўлчаш орқали, “балл” тизимида баҳоланди. Тажрибадаги намуналарнинг донлари назорат каби яхши ўсган бўлса энг юқори балл (5) билан баҳоланади, илдиз ва барглари уруғдан кичик бўлса 1 балл, уруғ билан тенглашган бўлса 2 балл, уруғдан каттароқ бўлишига қараб 3 ва 4 баллар билан баҳоланди. Ўрганилган намуналардан L119 тизмаси униш кўрсаткичи энг паст бўлганлиги кузатилган. L061, L117, L073, L081, L040 ва L047 тизмаларнинг униш кўрсаткич 4,5 балл деб белгиланди. Қолган тизмаларнинг униш кўрсаткичи назорат каби юқори эканлиги тажрибада кузатилди.

Бироқ илдиз ва поянинг биомасса тўплаши турли даражада бўлганлиги ҳам аниқланди. Назорат ва тажриба намуналарида илдизнинг қуруқ массаси бўйича энг паст кўрсаткич L073 тизмасида 0,15 г бўлганлиги кузатилган, L007, L060, L027, L132 ва L157

тизмаларида 0,19 г бўлган бўлса, L124 тизмасида 0,29 г, L030 тизмасида 0,33 ва L138 тизмасида эса 0,35 г эканлиги қайд этилди.

Абиотик стрессларга чидамлик билан генетик боғланган ДНК маркерлар панелидан фойдаланиб полимераза занжир реакцияси (ПЗР) таҳлили амалга оширилди (2-расм).



2-расм. Бугдой тизмарининг юқори ҳароратга чидамликка алоқадор НК маркерлар билан ПЗР скрининги. **М** – молекуляр оғирлик маркери (**ж.а.** – жуфт асос); **1** - L001, **2** - L117, **3** - L142, **4** - L134, **5** - L138, **6** - L112, **7** - L132, **8** - L119, **9** - L106, **10** - L124, **11** - L073, **12** - L060, **13** - L062, **14** - L061, **15** - L097, **16** - L087, **17** - L079, **18** - L095, **19** - L081, **20** - L027, **21** - L042, **22** - L043, **23** - L019, **24** - L047, **25** - L033, **26** - L035, **27** - L009, **28** - L040, **29** - L007, **30** - L026, **31** - L030, **32** - L165, **33** - L190, **34** - L157; **а** - Wmc25 (200 ж.а.), **б** - Wmc44 (280 ж.а.), **в** - Wmc273 (180 ж.а.), **г** - Wmc327 (200 ж.а.), **д** - Xcfa2147 (300 ж.а.), **е** - Xcfd76 (170 ж.а.).

Таҳлил натижаларига кўра чидамлик билан генетик боғланган Wmc25 ДНК маркерининг (а) 200 жуфт асос

(ж.а.)ли аллели 9 та буғдой тизмалари (L001 (андоза нав), L134, L132, L119, L060, L061, L097, L095 ва L043) геномида гомозигота ҳолатда мавжуд эканлиги аниқланди. Шунингдек, 16 та тизмаларда (L117, L142, L138, L106, L124, L062, L027, L033, L042, L047, L009, L035, L007, L026, L030 ва L165) Wmc25 ДНК маркерининг тегишли аллели гетерозигота ҳолатда мавжудлиги кузатилди. Қолган 9 та тизма намуналари (L112, L073, L087, L079, L081, L019, L040, L190 ва L157) геномида чидамлилик аллели (200 ж.а.) учрамади.

Wmc44 ДНК маркерининг (б) текширилаётган буғдой тизмаларининг 8 тасида чидамлилик билан генетик боғланган 280 ж.а. аллели мавжудлиги, шулардан 4 тасида (L138, L124, L095 ва L019) гомозигота, 4 тасида (андоза нав, L042, L030 ва L190) гетерозигота ҳолатда эканлиги намоён бўлди. Қолган тизмалар геномида чидамлилик аллели учрамади.

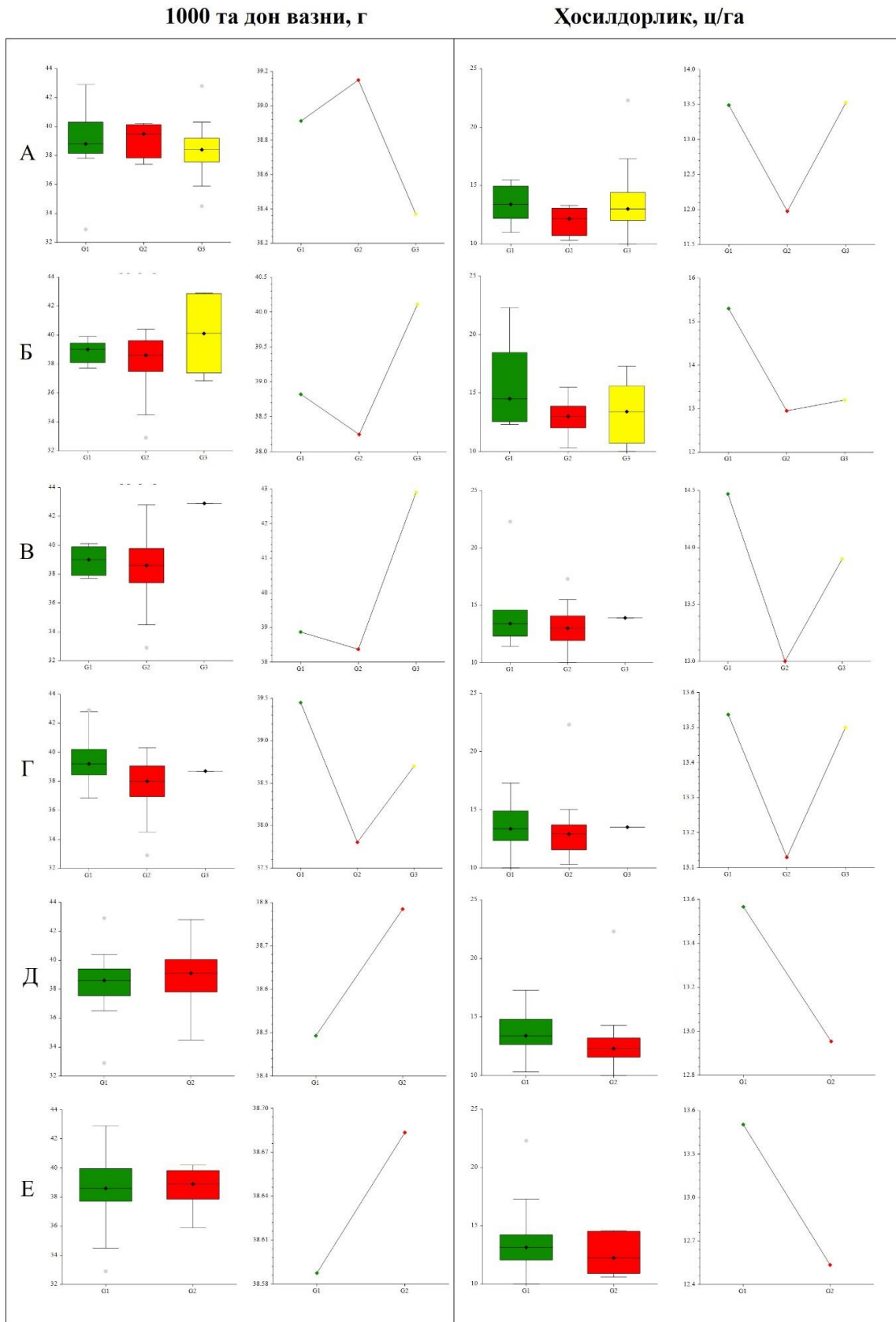
Wmc273 ДНК маркерининг (в) чидамлилик билан генетик боғланган 180 ж.а. аллели 6 та L001, L142, L106, L073, L190, L030 буғдой тизмалари геномида гетерозигота ҳолатида мавжуд эканлиги маълум бўлди. Қолган 28 та тизмалар геномида учрамади.

Wmc327 ДНК маркерининг (г) 200 ж.а. аллели 17 та буғдой тизмалари (L001, L117, L112, L119, L124, L073, L060, L062, L061, L087, L079, L027, L042, L043, L019, L040 ва L157) геномида гомозигота ҳолатида мавжуд бўлиб, L073 тизмасида эса гетерозигота ҳолатда эканлиги кузатилди, шунингдек қолган 16 та тизма геномида учрамади.

Xcfa2147 ДНК маркерининг (д) 300 ж.а. аллели 21 та буғдой тизмалари (L001, L117, L142, L138, L132, L106, L073, L060, L061, L097, L087, L079, L095, L081, L043, L019, L047, L033, L035, L007 ва L157) геномида мавжуд эканлиги маълум бўлди. Қолган 13 та тизмалар (L134, L112, L119, L124, L062, L027, L042, L009, L040, L026, L030, L165 ва L190) геномида ушбу маркерининг чидамлилик аллели учрамади.

Xcfd76 ДНК маркерининг (е) 165 ж.а. аллели андоза нав ва қолган деярли барча тизмалар геномида мавжудлиги кузатилди. Фақатгина, L117, L138, L097, L027, L019 ва L026 тизмалари геномида учрамади.

Тадқиқот намуналарининг генотипик маълумотлари билан 1000 та дон вазни ва ҳосилдорлик кўрсаткичларининг статистик таҳлили амалга оширилди (3-расм).



3-расм. Юқори ҳароратга чидамлилиқ ДНК маркерлари самарасини баҳолаш (Бир-омилли ANOVA) таҳлили.

А - Wmc25 (200 ж.а.), Б - Wmc44 (280 ж.а.), В - Wmc273 (180 ж.а.),
Г - Wmc327 (200 ж.а.), Д - Xcfa2147 (300 ж.а.), Е - Xcfd76 (170 ж.а.).

Таҳлил натижаларига кўра, геномида Wmc44 маркерининг гомозигота ва гетерозигота чидамлик аллелини (280 ж.а.) тутган буғдой тизмалари ноль-сегрегант (геномида чидамлик аллели мавжуд бўлмаган) тизмаларга қараганда 1000 та дон вазни ва ҳосилдорлик кўрсаткичлари сезиларли даражада юқори бўлган.

Фенотипик жиҳатдан чидамли ва геномида чидамлик маркер аллели мавжуд буғдой тизмалари ажратиб олиниб, уларнинг уруғ кўпайтириш кўчатзорлари ташкил этилди.

ХУЛОСАЛАР

Тадқиқот натижалари асосида қуйидаги хулосаларга келинди:

Дунё олимларининг буғдойда юқори ҳарорат стрессига чидамликка алоқадор илмий тадқиқот натижалари асосида ДНК маркерлар панели ишлаб чиқилди;

Лаборатория синовлари асосида L030, L095, L124, L138 ва 190 тизмалари юқори ҳарорат стрессига бошқа намуналарга қараганда чидамлироқ эканлиги аниқланди;

Статистик таҳлиллар орқали Wmc44 ДНК маркери чидамлик билан генетик боғланган, энг ишончли маркер эканлиги аниқланди ҳамда геномида маркер аллели (280 ж.а.) мавжуд бўлган L019, L095, L124 ва L138 тизмалари ажратиб олинди;

Wmc44 ДНК маркер аллеллари ва фенотипик жиҳатдан бўлган L095, L124 ва L138 тизмалари ажратиб олинди ҳамда уларнинг уруғ кўпайтириш кўчатзорлари ташкил этилиб, келгусида уларни янги нав сифатида амалиётга тадбиқ этиш кўзда тутилган.

REFERENCES

1. H.J. Bohnert, Q. Gong, P. Li, S. Ma, Unraveling abiotic stress tolerance mechanisms - getting genomics going, *Curr. Opin. Plant Biol.* 9 (2006) 180–188.
2. Q.X. Sun, J.S. Quick, Chromosomal locations of genes for heat tolerance in tetraploid wheat, *Cereal Res. Commun.* 19 (1991) 431–437 (in Chinese with English abstract).
3. R. Xu, Q. Sun, S. Zhang, Chromosomal location of genes for heat tolerance as measured by membrane thermostability of



- common wheat cv. Hope, *Hereditas* 18 (1996) 1–3 (in Chinese with English abstract).
4. X.Y. Chen, A.J. Zhao, Y.J. Li, Y.P. Liu, *Acta Agric. Boreali-Sin.* 22 (S2) (2007) 1–5 (in Chinese with English abstract). *Genet.* 43 (2011) 159–162. *Biol.* 68 (2008) 277–288. patterns, *Aust. J. Agric. Res.* 40 (1989) 965–980.
5. R. Paliwal, M.S. Röder, U. Kumar, J.P. Srivastava, A.K. Joshi, QTL mapping of terminal heat tolerance in hexaploidy wheat (*T. aestivum* L.), *Theor. Appl. Genet.* 125 (2012) 561–575.
6. Acuna-Galindo, M.A.; MACon, R.E.; Subramanian, N.K.; Hays, D.B. Meta-analysis of wheat QTL regions associated with adaptation to drought and heat stress. *Crop Sci.* 2015, 55, 477–492.
7. R.E. Mason, S. Mondal, F.W. Beecher, A. Pacheco, B. Jampala, A.M.H. Ibrahim, D.B. Hays, QTL associated with heat susceptibility index in wheat (*Triticum aestivum* L.) under short-term reproductive stage heat stress, *Euphytica* 174 (2010) 423–436.
8. Cheng X., Chai L., Chen Z., Xu L., Zhai H., Zhao A., Peng H., Yao Y., You M., Sun Q. Identification and characterization of a high kernel weight mutant induced by gamma radiation in wheat (*Triticum aestivum* L.), *BMC Genet.* 16 (2015) 127.

