



UDK: 575.1.22:582.796:574.113

Sevara ARSLANOVA,

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti tayanch doktoranti

E.mail: arslanovasevara87@gmail.com

Ziroatxon ERNAZAROVA,

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti kata ilmiy xodimi, b.f.n

E.mail: ziroat64@mail.ru

Faxriddin KUSHANOV,

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti kata ilmiy xodimi, b.f.d.prof.

E.mail: fakhridinkushanov@gmail.com

O'zR FA Genomika va bioinformatika markazi katta ilmiy xodimi, PhD Makamov Abdusalom taqrizi asosida

G'O'ZANING YOVVOYI AVSTRALIYA HAMDA AFRO-OSIYO TURLARI TURICHI XILMA-XILLIKLARINI TURLARARO DURAGAYLASH

Annotatsiya

Genetika – selektsiyaviy tadqiqotlarda foydalanish hamda qimmatli xo'jalik belgilar potentsialiga ega boshlang'ich manbalar olish maqsadida, g'o'za germoplazmasidagi mavjud yovvoyi avstraliya diploid turlari bilan afro-osiyo turiga mansub turichi xilma-xilliklari asosida genomlararo duragaylash ishlari olib borilgan. Turlararo duragaylash tadqiqotlarining dastlabki natijalari, o'rganilgan G genomga mansub avstraliya yovvoyi g'o'zalari A₁ genomli *G. herbaceum* L. kenja tur va shakllaridan uzoqligini, shu bilan birga, ruderal shakllariga (sub.sp *pseudoarboreum*, sub.sp *pseudoarboreum* f. *harga*) filogenetik jixatdan nisbatan yaqinligini ko'rsatdi. G genomga mansub avstraliya yovvoyi g'o'zalari A₁ genomli *G. herbaceum* L. kenja tur va shakllari o'rtasidagi genetik polimorfizmni aniqlash, qimmatli xo'jalik xossalari javob beruvchi belgilar bilan genetik birikkan DNK markerlari ishtirokida PZR (polimeraza zanjir reaksiyasi) tahlillari olib borish natijasida, ABI5, SAPK2, BNL 1604, BNL 1122, NAU 3478, JESPR156 DNK markerlarida o'rganilgan tur va shakllar o'rtasida polimorfizm mavjudligi aniqlangan.

Kalit so'zlar: G'o'za, duragay, tur, kenja tur, turlararo duragaylash, urug'lanish.

МЕЖВИДОВЫЕ ГИБРИДЫ ДИКИХ АВСТРАЛИЙСКИХ И АФРОАЗИАТСКИХ ВИДОВ ХЛОПКА

Аннотация

С целью использования в генетико-селекционных исследованиях и получения исходных материалов с потенциалом ценных хозяйственных признаков проведена межгеномная гибридизация на основе дикорастущих австралийских диплоидных видов и внутривидового разнообразия афро-азиатских видов хлопчатника. Предварительные результаты исследований по межвидовой гибридизации показали, что изученные дикорастущие австралийские хлопчатники (G-геном), далеки от подвидов и форм *G. herbaceum* L. (A₁-геном) и в то же время относительно филогенетически близки к рудеральным формам (sub. sp *pseudoarboreum*, sub.sp *pseudoarboreum* f. *harga*). Определение генетического полиморфизма между подвидами и формами *G. herbaceum* L. (A₁-геном), а также австралийских дикорастущих хлопчатников (G-геном), в результате проведения ПЦР (полимеразная цепная реакция) анализов с наличием генетически сочетающихся ДНК-маркеров с признаками соответствующими ценным хозяйственным свойствам ABI5, SAPK2, BNL 1604, BNL 1122, NAU 3478, JESPR156, выявили наличие полиморфизма между изучаемыми видами и формами.

Ключевые слова: Хлопчатник, гибрид, вид, подвид, межвидовая гибридизация, оплодотворение, генетический полиморфизм, ДНК маркеры.

INTERSPECIFIC HYBRIDS OF WILD AUSTRALIAN AND AFRO-ASIAN SPECIES OF COTTON

Annotation

In order to use in genetic breeding studies and obtain source materials with the potential of valuable economic traits, intergenomic hybridization was carried out on the basis of wild Australian diploid species and the intraspecific diversity of Afro-Asian cotton species. Preliminary results of studies on interspecific hybridization showed that the studied wild Australian cotton plants (G-genome) are far from subspecies and forms of *G. herbaceum* L. (A₁-genome) and at the same time relatively phylogenetically close to ruderal forms (sub. sp *pseudoarboreum*, sub. sp *pseudoarboreum* f. *harga*). The presence of genetic polymorphism between the studied species and forms of *G. herbaceum* L. (A₁-genome) and Australian wild cotton plants (G-genome) was revealed by PCR (polymerase chain reaction) results, analyses with the presence of genetically compatible DNA markers with traits corresponding to valuable economic properties of ABI5, SAPK2, BNL1604, BNL1122, NAU 3478, JESPR156.

Key words: Cotton, hybrid, species, subspecies, interspecific hybridization, fertilization, genetic polymorphism, DNA markers.

Kirish. Dunyo g'o'za genofondining bioxilma-xilliklaridan samarali foydalanish, selektsiya jarayoniga yovvoyi turlarning yangi allel genlarini jalb etish, qishloq xo'jalik zararkunandalariga va kasalliklariga bardoshlilik yangi genimun sistemali potentsialga ega bo'lgan, foydali belgili noyob boshlang'ich manbalarni yaratish istiqbolini belgilab beradi.

Genetik gibridizatsiya xususiyatlariga asoslanib, *Gossypium* L. turlari birlamchi, ikkilamchi va uchinchi darajali genofondlarga birlashtiriladi. G'o'zaning birlamchi genofondini ham madaniy (*G. hirsutum* L. va *G. barbadense* L.) ham

yovvoyi allotetraploidlar (*G. tomentosum* Nutt.ex Seem, *G. mustelinum* Miers ex Watt. va *G. darwinii* Watt.) tashkil qiladi. Ikkilamchi genofondga A, B, D va F genomlariga ega bo'lgan diploidlar kiradi. Uchinchi darajali genofond esa C, E, G va K genomlariga ega bo'lgan turlardan iborat [1]. Bu genetik xilma-xillik, *Gossypium* L. turlarini zararkunandalar va kasalliklarga chidamliligi, hosildorligi, tola sifati va abiotik omillarga bardoshliligi bo'yicha xilma-xil turlarini nomoyon etadi [2].

Gossypium australe F.Mull. zamonaviy g'o'za genomikasi davrida muhim manba hisoblanadi. Xususan, *G.australe* F.Mull. vilt (*Verticillium dahliae*) kasalligiga o'ta chidamli [4] va shu sababli genetik tadqiqotlar uchun muhim manba sifatida qo'llaniladi. *G.australe* xromosomalarini *G.hirsutum* L. genomiga introgressiya qilish, genomida diploid g'o'za xromosomalari bo'lgan liniyalarning olinishi *Verticillium dahliae*, zararkunandalar va kasalliklarga chidamliligini oshirishi mumkin [6].

Avstraliya yovvoyi g'o'zasiga mansub *G.australe* F.Mull. turida gossipol bezi morfogenezi kechikkan bo'lib, bunda anabioz holatdagi urug'larda gossipol bezi bo'lmaydi [4]. Ammo unib chiqqan koteledonlarda gossipol bezlarini uchratish mumkin. Ushbu turdan foydalanib, zararkunanda va kasalliklarga chidamliligi yaxshilangan hamda oziq-ovqat sifatida foydalanishga yaroqli bo'lgan yangi navlarini yaratish mumkin.

G. bickii Prokh. turining urug'lari gossipol bezisiz, lekin o'simliklarida gossipol bezli bo'lish xususiyati g'o'za selektsiyasida muhim ahamiyatga ega. O'rta tolali (*G. hirsutum* L.) g'o'za turini *G. bickii* Prokh. bilan oddiy va bekkros duragaylash orqali genomida diploid g'o'za *G. bickii* Prokh. xromosomalarini tutgan tetraploid g'o'za germplazmasi yaratilgan [10].

G. nelsonii Fryx. tolasining cho'ziluvchanligi va pishiqiligi yuqori, bakterial kuyish, *Verticillium dahliae*, shira, o'rgimchak kana, yuqori harorat hamda qurg'oqchilik kabi biotik va abiotik stress sharoitlariga chidamli turdir. Ushbu belgilar tetraploid *G. hirsutum* L. genomiga ($2n=4\times 52$, AADD) o'tkazilsa, hosil bo'lgan genotiplar qimmatli xususiyatlarga ega bo'lishi ko'rsatilgan [11].

An'anaviy usullar bilan bir nechta yovvoyi turlar va kenja turlaridan foydali genlarni madaniy g'o'za navlariga muvaffaqiyatli o'tkazilganligiga qaramay, *Gossypium* L. turlari ichida keng duragaylanishlar ko'lamini cheklangan. Turlararo duragaylashda bepustlik, sitologik anomalialar, segregatsiyaning buzilishi, gomologik xromosomalar o'rtasidagi cheklangan rekombinatsiya va keraksiz belgilarini yuzaga chiqishiga olib keladigan ko'plab genomik nomuvofiqliklar mavjuddir [3].

Yovvoyi g'o'za germplazmasi qimmatli xo'jalik belgilarini boshqaruvchi genlarning boy manbai sifatida g'o'za navlarini takomillashirishda katta ahamiyatga ega.

Tadqiqot materiallari va uslublari. Tajribada yovvoyi avstraliya g'o'za turlari (*G.australe* F.Mull., *G.nelsonii* Fryx., *G. bickii* Prokh.) afro-osiyo turichi xilma-xilliklari (*G.herbaceum* subsp.*africanum*, *G.herbaceum* subsp. *pseudoarbareum*, *G.herbaceum* subsp. *pseudoarbareum* f. *harga*, *G.herbaceum* subsp. *frutescens*) turlararo duragaylash bo'yicha tadqiqotlar olib borilgan.

Turlararo duragaylash ishlari umumiy qabul qilingan uslublar asosida olib borildi. Statistik tahlillar B.A.Dospexov [12] uslublari asosida olib borilgan. Vegetatsiya davri davomida fenologik kuzatuvlar amalga oshirildi. Diploid g'o'za turlarining yovvoyi shakllari qisqa kunga talabchanligini inobatga olgan holda o'simliklar maxsus Vagner idishlarida, maxsus fotoperiodik uychalari ostida o'stirildi.

Genom DNKsini ajratish. Tadqiq qilinayotgan namunalardan barg to'qimalari yig'ib olindi va STAB usulidan foydalanib genom DNKsini ajratildi.

Polimeraza zanjir reaksiyasi oldindan tanlab olingan SSR (SSR – Simple Sequence Repeat - Oddiy takrorlanuvchi ketma-ketliklar) markerlaridan foydalanib (Hot-start dasturi) 10 mkl xajmda amalga oshirildi. PZR mahsulotlari 0,5 x TBE buferidagi 3,5% li Hi-Res (High Resolution) agoroza gelida 6 v/sm elektr kuchlanishi ostida amalga oshirildi. Gellar bromidli etidiy bo'yog'ida bo'yali, GelDoc Imaging System (Bio-Rad Inc., AQSh) uskunasida fotokujatlashtirib qo'yildi.

Olingan natijalar. G'o'zaning *G.herbaceum* L. turi va turichi xilma-xilliklarining hamda avstraliya yovvoyi g'o'za turlarining turlararo filogenetik munosabatlarini aniqlash, o'rganilayotgan kenja tur va shakllarning bir-biriga mutanosiblik darajalarini, turlararo duragaylar olish imkoniyatlarini aniqlash maqsadida (300 dan ziyod) chatishtirish ishlari olib borildi.

G.bickii Prokh. yovvoyi avstraliya turi bilan *G.herbaceum* sub.sp *pseudoarbareum* kenja turini chatishtirish natijasida 10 ta duragay ko'saklari olingan. Bunda duragay ko'saklarni tugilishining o'rtacha ko'rsatkichi 19,6 % ni, duragay ko'saklardagi to'liq urug'lar tugilishining o'zgaruvchanligi 47,6-86,7 % ni, o'rtacha ko'rsatkichi $66,7\pm 1,5$ ni, koeffitsient variatsiyasi esa 7% ni tashkil etdi. *G.herbaceum* sub.sp *euherbaceum* (A-256) madaniy nav namunasi bilan *G.bickii* Prokh. o'zaro chatishtirilganda ko'rsatkichlar past bo'lib, 2 ta duragay ko'saklar olishga muvaffaq bo'lindi. Bunda duragay ko'saklarni tugilishining o'rtacha ko'rsatkichi 5,3 % ni, duragay ko'saklardagi to'liq urug'lar tugilishining o'zgaruvchanligi 50,0-55,0 % ni, o'rtacha ko'rsatkichi $50,0\pm 0,5$ ni, koeffitsient variatsiyasi esa 6,7% ni tashkil etdi.

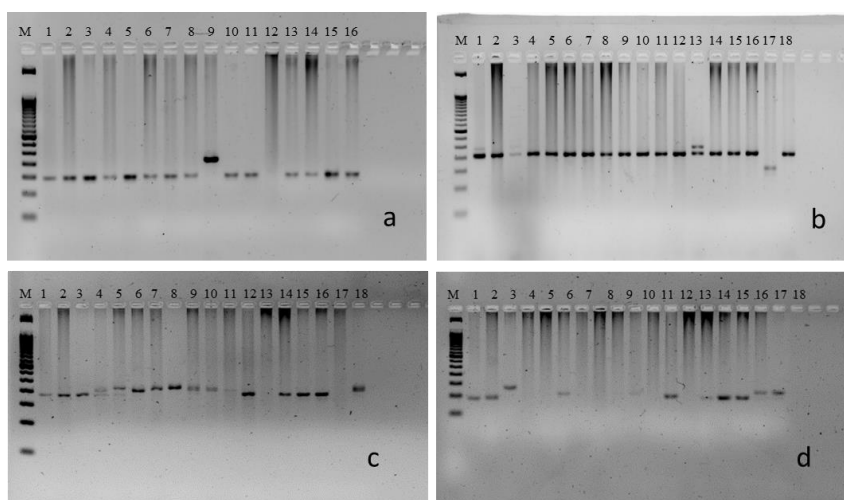
G.nelsonii Fryx. va *G.herbaceum* ruderal, madaniy-tropik, madaniy kenja tur va shakllari bilan o'zaro chatishtirilganda, duragay ko'saklar, ulardagi to'liq urug'lar tugilishi borasida turlicha natijalar olindi.

G.herbaceum sub.sp *pseudoarbareum* va *G.nelsonii* Fryx. o'zaro chatishtirilganda duragay ko'saklar tugilishi 32% ni, ulardagi to'liq urug'lar tugilishi 30,0 dan 86,4 % gacha bo'lib, o'rtacha ko'rsatkichi 55,8% ni tashkil etdi. Eng yuqori ko'rsatkich *G.herbaceum* subsp *euherbaceum* (A-256) madaniy nav namunasi va *G.nelsonii* o'zaro chatishtirilganda olinib, duragay ko'saklar tugilishi 66,7% ni, ulardagi to'liq urug'lar tugilishi esa bir oz past bo'lib, 30,0-61,5 % ni, belgining o'rtacha ko'rsatkichi $41,0\pm 3,8$ tashkil etdi. *G.nelsonii* va madaniy-tropik shakl sub.sp *frutescens* o'zaro chatishtirilishi natijasida 2 dona duragay olindi. Ushbu kombinatsiyada duragay ko'saklar tugilishi juda past bo'lib, 5,6% ni, to'liq urug'lar tugilishi esa mos ravishda 26,1-26,7% ni tashkil etdi. Ta'kidlash kerakki, bu kombinatsiyaning retsiprok duragaylarida duragay ko'saklar tugilishi juda past bo'lsada (1,8%), duragay ko'saklardagi to'liq urug'lar tugilishining o'rtacha ko'rsatkichi yuqori – $62,6\pm 7,5$, belgi limiti 55,2-70,0 %, variatsiya koeffitsienti xam mos ravishda, 16,7% bo'lishi kuzatildi. *G.nelsonii* bilan *G.herbaceum* subsp. *pseudoarbareum* f. *harga* ruderal shaklini o'zaro chatishtirish natijasida 2 dona duragay ko'sak olindi. Duragay ko'saklar tugilish foizi 33,3% ni, ulardagi to'liq urug'lar tugilishi 77,0-78,3% ni, belgining o'rtacha ko'rsatkichi $77,8\pm 0,7$ bo'lib, variatsiya koeffitsienti mos ravishda 1,2% ni tashkil etdi.

G.herbaceum sub.sp *pseudoarbareum* ruderal shakli va *G.australe* o'zaro chatishtirilishi natijasida, 5 ta F₀ duragay ko'saklar olishga muvaffaq bo'lindi. Tahlillar natijasi duragay ko'saklarning tugilishi 27,8% ni, ulardagi to'liq urug'lar tugilishi esa 42,1-77,8% ni, variatsiya koeffitsienti mos ravishda 21,1% ni, belgining o'rtacha ko'rsatkichi esa $60,4\pm 5,3$ ni tashkil etdi (1-jadval).

№	Genomlararo duragay kombinatsiyalari	Chatishtirishlar soni, dona	Tugilgan ko'saklar soni, dona	Duragay ko'saklar tugilish foizi, (%)	Tugilgan urug'lar soni, dona		To'liq urug'lar tugilishi foizi, %			
					To'q	Puch	$\bar{X} \pm s \bar{X}$	limit	S	V%
1	<i>G. herbaceum</i> subsp <i>pseudoarboreum</i> x <i>G. bickii</i>	51	10	19,6	130	66	66,7±1,5	47,6-86,7	4,7	7,1
2	<i>G. herbaceum</i> subsp <i>euherbaceum</i> A-256 x <i>G. bickii</i>	38	2	5,3	20	20	50,0±0,5	50-55	3,5	6,7
3	<i>G. herbaceum</i> subsp <i>pseudoarboreum</i> x <i>G. nelsonii</i>	47	15	32	198	155	55,81±4,2	30,0-86,4	16,2	28,96
4	<i>G. nelsonii</i> x <i>G. herbaceum</i> subsp. <i>pseudoarboreum</i> f. <i>harga</i>	6	2	33,3	28	8	77,8±0,7	77-78,3	0,95	1,2
5	<i>G. herbaceum</i> subsp <i>frutescens</i> x <i>G. nelsonii</i>	109	2	1,8	37	22	62,6±7,5	55,2-70	10,5	16,7
6	<i>G. nelsonii</i> x <i>G. herbaceum</i> subsp <i>frutescens</i>	36	2	5,6	10	28	26,4±0,3	26,1-26,7	0,4	1,6
7	<i>G. herbaceum</i> subsp <i>euherbaceum</i> A-256 x <i>G. nelsonii</i>	9	6	66,7	53	82	41,0±3,8	30-61,5	29,4	9,3
8	<i>G. herbaceum</i> subsp <i>pseudoarboreum</i> x <i>G. australe</i>	18	5	27,8	69	58	60,4±5,3	42,1-77,8	12,7	21,1

Shuningdek, tadqiqot namunalari sifatida tanlab olingan ota-ona shakllari o'rtasida genetik polimorfizmni o'rganish maqsadida qimmatli xo'jalik belgilariga javob beruvchi belgilar bilan genetik birikkan DNK markerlari yordamida PZR (polimeraza zanjir reaksiyasi) tahlillari olib borildi. Olib borilgan PZR tahlillari natijasida ABI5, SAPK2, BNL 1604, BNL 1122, NAU 3478,



JESPR156 DNK markerlarida ota-ona namunalari o'rtasida polimorfizm kuzatildi (1-rasm).

1- rasm. PZR tahlillari gel elektroforegrammasi. a- ABI5, b- SAPK2, c- NAU3478, d- JESPR156 DNK markerlari. 1- *G. australe*, 2-*G. nelsonii*, 3-*G. bickii*, 4-*G. herbaceum* subsp. *africanum*, 5- *G. herbaceum* subsp *pseudoarboreum*, 6-*G. herbaceum* subsp *pseudoarboreum* f. *harga*, 7- *G. herbaceum* subsp *frutescens*, 8- A-256 liniyasi, 9- A-833 liniyasi, 10- Surxon 18 navi, 11- Termiz-14 navi, 12- Ravnaq-1 navi, 13- Ravnaq-2 navi, 14- Baraka navi, 15-*G. sturtii*, 16- *G. nandewarense*.

Xulosa va takliflar. Shunday qilib, turlararo duragaylash tadqiqotlarining dastlabki natijalari, o'rganilgan G genomga mansub avstraliya yovvoyi g'o'zalari A₁ genomli *G. herbaceum* L. kenja tur va shakllaridan uzoqligini, shu bilan birga, ruderal shakllariga (*sub.sp pseudoarboreum*, *sub.sp pseudoarboreum* f. *harga*) filogenetik jixatdan nisbatan yaqinligini ko'rsatdi. Duragay ko'saklarning tugilish foizi ko'rsatkichlarining asosan pastligi, yovvoyi turlarda tabiiy genetik to'siq mavjudligidan dalolat beradi.

G genomga mansub avstraliya yovvoyi g'o'zalari A₁ genomli *G. herbaceum* L. kenja tur va shakllari o'rtasidagi genetik polimorfizmni aniqlash maqsadida, qimmatli xo'jalik xossalari javob beruvchi belgilar bilan genetik birikkan DNK markerlari ishtirokida PZR (polimeraza zanjir reaksiyasi) tahlillari olib borish natijasida, ABI5, SAPK2, BNL 1604, BNL 1122, NAU 3478, JESPR156 DNK markerlarida o'rganilgan tur va shakllar o'rtasida polimorfizm mavjudligi aniqlandi.

Avstraliya yovvoyi g'o'zalari xamda *G. herbaceum* L. kenja tur va shakllarini o'zaro turlararo chatishtirish natijasida olingan duragay kombinatsiyalarining karioplazmasida bir qator qimmatli xo'jalik belgilari xususan tashqi muhitning biotik va abiotik ta'sirlariga bardoshlilik potentsiali mavjud bo'lib, yangi intensiv tipdagi g'o'za navlarini yaratish borasidagi seleksiya loyihalari uchun noyob boshlang'ich manba sifatida katta ahamiyatga egadir.

ADABIYOTLAR

1. Campbell BT, Saha S, Percy R, Frelichowski J, Jenkind JN, et al. (2010) Status of the global cotton germplasm resource. *Crop Sci* 50: 1161-1179.
2. Abdurakhmonov I.Y., Buriev Z.T., Shermatov S.E., Abdullaev A.A., Urmonov K, et al. (2012) Genetic diversity in *Gossypium* genus. In: Calixan M (ed.). Genetic diversity in plants. InTech, Uzbekistan, Central Asia.
3. Khush G, Brar DS (2017) Alien introgression in rice. *Nucleus* 60: 251-261.
4. Benkang, G. and Cun, M. (1996) China Cotton Breeding resistant to Disease. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing Press.

5. Wang, C., Ulloa, M., Duong, T. and Roberts, P.A. (2018a) Quantitative trait loci mapping of multiple independent loci for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races 1 and 4 in an interspecific cotton population. *Phytopathology*, 108, 759-767.
6. Wang, Y., Feng, S., Li, S., Tang, D., Chen, Y., Chen, Y. and Zhou, B. (2018c) Inducement and identification of chromosome introgression and translocation of *Gossypium australe* on *Gossypium hirsutum*. *BMC Genom.* 19, 15.
7. Benbouza, H., Lognay, G., Scheffler, J., Baudoin, J.P. and Mergeai, G. (2009) Expression of the 'glanded-plant and glandless-seed' trait of Australian diploid cottons in different genetic backgrounds. *Euphytica*, 165, 211–221.
8. Chen, Y., Wang, Y., Wang, K., Zhu, X., Guo, W., Zhang, T. and Zhou, B. (2014) Construction of a complete set of alien chromosome addition lines from *G. australe* in *G. hirsutum*: morphological, cytological, and genotypic characterization. *Theor. Appl. Genet.* 127, 1105–1121.
9. Wendel, J.F., Stewart, J.M. and Rettig, J.H. (1991) Molecular evidence for homoploid reticulate evolution in Australian species of *Gossypium*. *Evolution*, 45, 694-711.
10. He, J. X., and S. W. Sun, 1994: A Scheme for introgression of delayed gland morphogenesis gene from wild *G. bickii* into cultivated upland cotton (*G. hirsutum*). *Acta Genet. Sin.* (Chinese Journal of Genetics) 21, 52-58.
11. Yin X, Zhan R, He Y, Song S, Wang L, Ge Y, et al. (2020) Morphological description of a novel synthetic allotetraploid (A1A1G3G3) of *G. herbaceum* L. and *G. nelsonii* Fryx. Suitable for disease-resistant breeding applications. *PLoS ONE* 15(12): e0242620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242620>.
12. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта // Москва: Агропромиздат, 1985. – 351 с.