



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 katta ilmiy xodimi, b.f.n

Ozod TO'RAYEV,

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi, PhD

Faxriddin KUSHANOV,

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

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi, b.f.n X.To'raqulov taqrizi asosida

DNK MARKERLARI YORDAMIDA AD₁, A₁, G GENOMLI G'O'ZA TURLARI MOLEKULYAR FILOGENETIK TAHLILI

Annotatsiya

Ushbu maqolada, DNK markerlari yordamida AD₁, A₁ va G genomli g'o'za turlarini ierarxik klasterlash usuli asosida, ularning filogenetik shajara daraxtini tuzishga yo'naltirilgan tadqiqotlarning natijalari keltirilgan. O'rganilgan tur va nav namunalari o'rtasidagi o'zaro filogenetik munosabatga oydinlik kiritilgan. Filogenetik tahlil natijalari, *Gossypium* L. avlodi g'o'za turlari 2 ta asosiy klasterga ajralganligini ko'rsatgan. Filogenetik daraxtning yuqori qismidagi 1-klasteridan *G. hirsutum* turiga mansub Ravnaq-1, Ravnaq-2 va Baraka navlari o'rin olgan. 2-klasterning 1-subklasteridan *G. bickii* Prokh., *G. nelsonii* Fryx. va *G. australe* F.Mull. g'o'za turlari joy olgan bo'lsa, 2-subklaster o'z navbatida 2 ta kichik subklasterlarga ajralgan hamda 1-kichik subklasterdan *G. herbaceum* L. kenja turlari vakillari joy olib, 2- kichik subklasterdan *G. sturtianum* var.*nandewarensense* va *G. sturtianum* var.*sturtianum* lar joy olgan. Bu esa o'z navbatida 13 ta g'o'za namunalarining bir-biri bilan genetik jihatdan o'zaro yaqin yoki uzoqligini ko'rsatib bergan.

Kalit so'zlar: g'o'za, yovvoyi turlar, madaniy turlar, diploid, tetraploid, DNK, markerlar, genotip.

МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИДОВ ХЛОПКА С ГЕНОМОМ AD₁, A₁, G С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ

Аннотация

В данной статье приведены результаты исследований, направленных на составление филогенетического дерева AD₁, A₁, G геномных видов хлопчатника, с помощью ДНК маркеров на основе метода иерархического кластерирования. Уточнены филогенетические взаимосвязи между изученными видами и сортообразцами. Результаты филогенетического анализа показали, что виды рода *Gossypium* L. подразделяются на 2 основных кластера. Сорта Равнак-1, Равнак-2 и Барака вида *G. hirsutum* L. расположены в верхней части 1-кластера филогенетического дерева. Виды *G. bickii* Prokh., *G. nelsonii* Fryx. и *G. australe* F.Mull. расположены в первом субкластере 2-кластера, субкластер в свою очередь подразделяется на 2 младших субкластера. Следует отметить, что представители подвидов *G. herbaceum* L. расположены в первом младшем субкластере, а во втором младшем субкластере расположены виды *G. sturtianum* var.*nandewarensense* и *G. sturtianum* var.*sturtianum*. Подобное расположение, в свою очередь указывает на генетическую близость или отдаленность 13 видов и сортообразцов хлопчатника.

Ключевые слова: хлопчатник, дикие виды, культивируемые виды, диплоид, тетраплоид, ДНК, маркеры, генотип.

MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS OF COTTON SPECIES WITH AD₁, A₁, G GENOME USING DNA MARKERS

Annotation

This article presents the results of studies aimed at compiling a phylogenetic tree of AD₁, A₁, G genomic cotton species using DNA markers based on the hierarchical clustering method. The phylogenetic relationships between the studied species and varieties were clarified. The results of phylogenetic analysis showed that species of the genus *Gossypium* L. are divided into 2 main clusters. The varieties Ravnaq-1, Ravnaq-2 and Baraka of the species *G. hirsutum* L. are located in the upper part of cluster 1 of the phylogenetic tree. The species *G. bickii* Prokh., *G. nelsonii* Fryx. and *G. australe* F.Mull. are located in the first subcluster of the 2-cluster, the subcluster in turn is subdivided into 2 junior subclusters. It should be noted that representatives of the subspecies *G. herbaceum* L. are located in the first junior subcluster, and the species *G. sturtianum* var.*nandewarensense* and *G. sturtianum* var.*sturtianum* are located in the second junior subcluster. This arrangement, in turn, indicates the genetic proximity or distance of 13 species and varieties of cotton.

Key words: cotton, wild species, cultivated species, diploid, tetraploid, DNA, markers, genotype.

Kirish. *Gossypium* L. turlarining morfobioxilma-xilliklaridan samarali foydalanish, seleksiya jarayoniga yovvoyi turlarning yangi allel genlarini jalb etish, qishloq xo'jalik zararkunandalariga va kasalliklariga bardoshlilik yangi genini sistemali potentsialga ega bo'lgan, foydali belgili noyob boshlang'ich manbalarni yaratish istiqbolini belgilab beradi.

Genetik gibridizasiya 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 [1,2]. 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'oz'a genomikasi davrida muhim manba hisoblanadi. Xususan, *G.australe* F.Mull. vilt (*Verticillium dahliae*) kasalligiga o'ta chidamli [3, 4] va shu sababli genetik tadqiqotlar uchun muhim manba sifatida qo'llaniladi. *G.australe* F.Mull. xromosomalarini *G.hirsutum* L. genomiga introgressiya qilish, genomida diploid g'oz'a xromosomalari bo'lgan liniyalarning olinishi *Verticillium dahliae*, zararkunandalar va kasalliklarga chidamliligini oshirishi mumkin [5, 6, 7].

G. bickii Prokh. turining urug'lari gossipol bezsiz, lekin o'simliklarida gossipol bezli bo'lish xususiyati g'oz'a seleksiyasida muhim ahamiyatga ega. O'rta tolali (*G. hirsutum* L.) g'oz'a turini *G. bickii* Prokh. bilan oddiy va bekkros duragaylash orqali genomida diploid g'oz'a *G. bickii* Prokh. xromosomalarini tutgan tetraploid g'oz'a germplazmasi yaratilgan [8].

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 chidamlidir. Agar, bu belgilar tetraploid *G. hirsutum* L. genomiga ($2n=4x=52$, AADD) o'tkazilsa, hosil bo'lgan genotiplar qimmatli xususiyatlarga ega bo'lishi ko'rsatilgan [9].

Yovvoyi g'oz'a germoplazmasi qimmatli xo'jalik belgilarini boshqaruvchi genlarning boy manbai sifatida katta ahamiyatga ega bo'lib, ulardan amaliy seleksiyada samarali foydalanish istiqbolini, tur va shakllarning o'zaro filogenetik munosabatlari belgilab beradi.

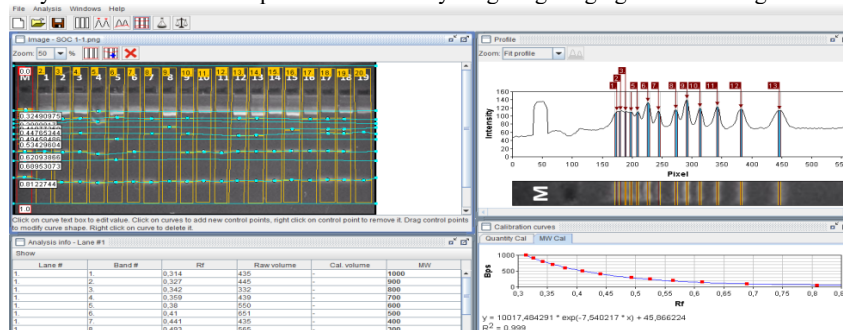
Tadqiqot materiallari va uslublari. Ushbu tadqiqotlar, DNK markerlari yordamida, yovvoyi avstraliya turlari, afro-osiyo g'oz'alari turichi xilma-xilliklari xamda o'rta tolali nav namunalarining o'zaro molekulyar-filogenetik munosabatlarini aniqlash va filogenetik shajara daraxtini tuzishga yo'naltirilgan.

Genom DNKsini ajratish. Molekulyar-genetik tadqiqotlar davomida, namunalari unib chiqqan yosh nihollarining barg to'qimalaridan STAV usulida genom DNK ajratib olindi. Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) tahlillari qo'shimcha 185 ta turli qimmatli belgilarga genetik bog'langan mikrosatellit (DPL, Gh, HAU, JESPR va BNL markerlar kolleksiyasi) DNK markerlari yordamida amalga oshirildi hamda jami 192 ta DNK markerlarini tashkil etdi. G'oz'a namunalarini genetik tiplashda (genotiplash) Gel Analyzer dasturidan foydalanildi (1-rasm).

G'oz'a namunalarining genotipik ma'lumotlari Microsoft Excel dasturiga kiritildi hamda namunalarning filogenetik shajarasini NSS bioinformatik dasturi asosida ishlab chiqildi.

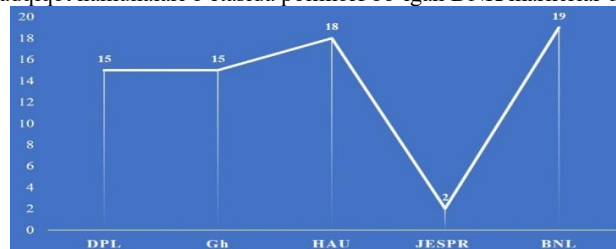
Olingan natijalar. PZR tahliliga ko'ra 92 ta DNK markerlari g'oz'a namunalari orasida o'zaro polimorfizmi namoyon etdi (2-3-rasmlar). 92 ta markerlar g'oz'a namunalarida monomorf bo'lgan bo'lsa, 8 tasida g'oz'a genotiplari genomida amplifikasiya bo'lmadi. Mikrosatellit markerlar kolleksiyasining BNL to'plamidan 19 ta, HAU to'plamidan 18 ta, DPL va Gh to'plamlaridan 15 tadan hamda JESPR to'plami markerlaridan 2 tasi polimorf bo'lgan (2-rasm).

1-rasm. Gel Analyzer dasturida PZR amplikonlari molekulyar og'irligining og'irlik markeriga nisbatan vizual tahlili.

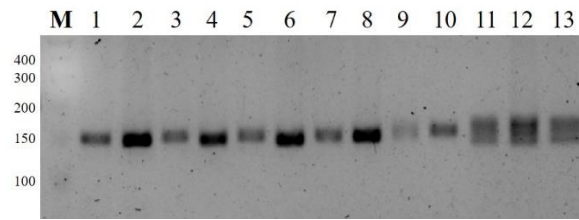


G'oz'ada tola sifatini boshqarishda ishtirok etuvchi lokus, BNL3171 DNK markeri bo'yicha PZR tahlili natijasi tadqiqot namunalari o'rtasida polimorfizm namoyon qilganligini ko'rsatdi. PZR tahlili natijalariga ko'ra, *G.sturtianum* var.*sturtianum*, *G.australe* F.Mull., *G.bickii* Prokh. va *G.herbaceum* ssp.*pseudoarboresum* yovvoyi g'oz'a turlarida ushbu marker alleli 150 nukleotid juft (n.j.)ni, *G.sturtianum* var.*nandewarensis*, *G.nelsonii*, *G.herbaceum* ssp.*africanum* (Watt) Mauer g'oz'a turlarida 145 n.j. ni tashkil etdi. *G.herbaceum* ssp.*frutescens* va *G.herbaceum* 833 navida 160 n.j.ni, *G. hirsutum* turiga mansub Ravnaq-1, Ravnaq-2 va Baraka navlarida esa 180, 160 va 140 nukleotid juft ekanligi kuzatildi.

2-rasm. Tadqiqot namunalari o'rtasida polimorf bo'lgan DNK markerlar diagrammasi.



3-rasm. Tadqiqot namunalarida tola sifatiga aloqador BNL3171 DNK markeri asosidagi PZR tahlili gel-elektroforegrammasi.

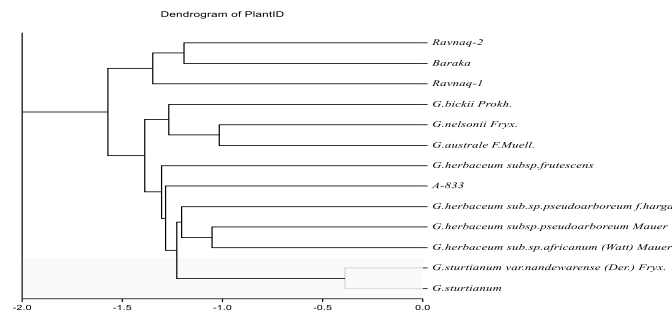


M – Molekulyar og'irlik markeri (50 ng/μl konsentratsiyali);

1 – *G.sturtianum* Willis var.*sturtianum*; **2** - *G.sturtianum* var.*nandewareense* (Der.) Fryx.; **3** - *G.australe* F.Muell; **4** - *G.nelsonii* Fryx; **5** - *G.bickii* Prokh; **6** - *G.herbageum* ssp.*africanum* (Watt) Mauer; **7** - *G.herbageum* sub.sp. *pseudoarboreum* Mauer; **8** - *G.herbageum* ssp.*pseudoarboreum* f.*harga*; **9** - *G.herbageum* ssp.*frutescens*; **10** - *G.herbageum* L. 833 navi; **11** - Ravnaq-1; **12** - Ravnaq-2; **13** - Baraka navi.

G'o'za namunalarning genotipik ma'lumotlari Microsoft Excel dasturiga kiritildi hamda namunalarning filogenetik shajarasini ishlab chiqishda foydalanildi(4-rasm).

4-rasm. G'o'za namunalarning filogenetik shajara daraxti.



DNK markerlari asosidagi PZR tahlili natijalari diploid hamda tetraploid g'o'za turlari vakillarining yuqori darajada polimorf ekanligini namoyon etdi. G'o'za turlari ierarxik klusterlash usuli asosida tahlil qilinib, ularning filogenetik shajara daraxti tuzildi. Namunalar o'rtasidagi o'zaro filogenetik munosabatga oydinlik kiritildi. Filogenetik tahlil natijasiga ko'ra *Gossypium* L. avlodi g'o'za turlari 2 ta asosiy klasterga ajraldi.

Filogenetik daraxtning yuqoriqismidagi 1-klasteridan *G. hirsutum* turiga mansub Ravnaq-1, Ravnaq-2 va Baraka navlari o'rin oldi. 2-klasterning 1-subklasteridan *G.bickii* Prokh., *G.nelsonii* Fryx. va *G.australe* F.Muell. g'o'za turlari joy olgan bo'lsa, 2-subklaster o'z navbatida 2 ta kichik subklasterlarga ajraldi hamda 1-kichik subklasterdan *G. herbageum* kenja turlari vakillari joy olib, 2- kichik subklasterdan *G.sturtianum* var.*nandewareense* va *G. sturtianum* var.*sturtianum* lar joy oldi. Bu esa o'z navbatida 13 ta g'o'za namunalarning bir-biri bilan genetik jihatdan o'zaro yaqin yoki uzoqligini ko'rsatib berdi.

Xulosa va takliflar. Shunday qilib, ushbu dendrogrammadagi ma'lumotlar g'o'za namunalarning o'zaro eng uzoq filogenetik munosabatda bo'lgan keng genetik xilma-xillikka ega seleksion manba sifatida foydalanish mumkinligini tasdiqlaydi. Buning natijasida, bunday xilma-xillikka ega namunalar tadqiqotlarda amalga oshiriladigan genetik xaritalash, an'anaviy va molekulyar seleksiya asosida hosildor yangi navlarni yaratish imkonini beradi.

ADABIYOTLAR

- 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.
- Abdurakhmonov IY, Buriev Z.T., Shermatov SE, 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.
- Benkang G. and Cun M. (1996) China Cotton Breeding resistant to Disease. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing Press.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- He, J. X., and S. W. Sun, 1994: A Scheme for introgression of delayed gland morphogenesis gene from wild *G.bickii* Prokh. into cultivated upland cotton (*G. hirsutum*). *Acta Genet. Sin.* (Chinese Journal of Genetics) 21, 52-58.
- Yin X, Zhan R, He Y, Song S, Wang L, Ge Y, et al. (2020) Morphological description of a novel synthetic allotetraploid ($A_1A_1G_3G_3$) of *G. herbageum* L. and *G.nelsonii* Fryx. Suitable for disease-resistant breeding applications. *PLOS ONE* 15(12): e0242620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242620>