

5-10-2019

MOLECULAR EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY AMONG PARENTAL GENOTYPES IN NAM POPULATION

Jurabek Kushbokovich Norbekov
Center of Genomics and Bioinformatics

Ozod Sunnatalievich Turaev
Center of Genomics and Bioinformatics

Naim Nutfulloevich Khusenov
Center of Genomics and Bioinformatics

Abdusalom Khasanboevich Makamov
Center of Genomics and Bioinformatics

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/namdu>



Part of the [Education Commons](#)

Recommended Citation

Norbekov, Jurabek Kushbokovich; Turaev, Ozod Sunnatalievich; Khusenov, Naim Nutfulloevich; and Makamov, Abdusalom Khasanboevich (2019) "MOLECULAR EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY AMONG PARENTAL GENOTYPES IN NAM POPULATION," *Scientific Bulletin of Namangan State University*. Vol. 1 : Iss. 5 , Article 19.

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/namdu/vol1/iss5/19>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in Scientific Bulletin of Namangan State University by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact sh.erkinov@edu.uz.

MOLECULAR EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY AMONG PARENTAL GENOTYPES IN NAM POPULATION

Cover Page Footnote

???????

Erratum

???????

БУҒДОЙ УАК ПОПУЛЯЦИЯСИ ОТА-ОНА НАМУНАЛАРИНИ МОЛЕКУЛЯР ГЕНЕТИК ХИЛМА-ХИЛЛИГИНИ БАҲОЛАШ

Норбеков Журабек Кушбокович, Тураев Озод Суннаталиевич, Хусенов Наим
Нутфуллаевич, Макамов Абдусалом Хасанбоевич, Хошимов Сирожиддин
Қуроқбоевич, Холмурадова Мафтуна Махмуджановна, Кушанов Фахриддин
Неъматуллаевич, Буриев Забардаст Таджибоевич
Геномика ва Биоинформатика маркази

Аннотация: Микросателлит ДНК-маркерлар тўпламидан фойдаланган ҳолда бугдойнинг УАК популяцияси ота-она намуналари генотипланди. Бунинг натижасида локусдаги аллеллар сони ҳамда навлараро генотипик хилма-хиллик аниқланди. Ўрганилаётган намуналарнинг ўзаро генетик полиморфизми кластер таҳлили натижалари асосида акс эттирилди.

Калит сўзлар: бугдой, QTL, маркер, UPGMA, УАК популяция

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РОДИТЕЛЬСКИХ ГЕНОТИПОВ В ГАК ПОПУЛЯЦИИ

Норбеков Журабек Кушбокович, Тураев Озод Суннаталиевич, Хусенов Наим
Нутфуллаевич, Макамов Абдусалом Хасанбоевич, Хошимов Сирожиддин
Қуроқбоевич, Холмурадова Мафтуна Махмуджановна, Кушанов Фахриддин
Неъматуллаевич, Буриев Забардаст Таджибоевич
Центр Геномики и Биоинформатики

Аннотация: Родительские образцы ГАК популяции пшеницы были генотипированы с использованием набора микросателлитных ДНК-маркеров. В результате были определены в локусе количество аллелей и генетическое разнообразие. Взаимный генетический полиморфизм исследуемых образцов был отражен в результатах кластерного анализа.

Ключевые слова: пшеница, QTL, маркер, UPGMA, ГАК популяция

MOLECULAR EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY AMONG PARENTAL GENOTYPES IN NAM POPULATION

Norbekov Jurabek Kushbokovich, Turaev Ozod Sunnatalievich, Khusenov Naim
Nutfulloevich, Makamov Abdusalom Khasanboevich, Khoshimov Sirojiddin
Kurakboevich, Kholmuradova Maftuna Makhmudjanovna, Kushanov Fakhriddin
Ne'matullaevich, Buriev Zabardast Tojiboevich.
Center of Genomics and Bioinformatics

Abstract: The founders of NAM population have been genotyped using set of DNA primer pairs. As a result, the number of alleles in the loci and genetic diversity among cultivars has been identified. Genetic polymorphism among investigating objects were described through results of cluster analysis.

Keywords: *Wheat, QTL, marker, UPGMA, NAM population.*

Кириш. Буғдой (*Triticum aestivum* L.) экилиши жиҳатидан дунё миқёсида бошоқли дон экинлари орасида биринчи ўринда турганлиги сабабли, глобал аҳамиятга эга экинлардан бири ҳисобланади [1]. Буғдойга энг кўп жиддий зарар келтирадиган касалликлардан бири - *Puccinia striiformis f. sp. tritici* замбуруғи қўзғатувчи сариқ занг касаллигидир [2]. Ушбу касалликни тез ва самарали бартараф этиш учун аввало керакли генотипларни тўғри танлаш ҳамда молекуляр тадқиқодлар олиб бориш зарур [3].

Сўнги йилларда молекуляр биология ва геномика соҳаларида эришилган ютуқлар ДНК-маркерларига асосланган селекция (МАС) технологиясининг ишлаб чиқилишига хизмат қилди. МАС технологияси қисқа муддатда исталган нав геномига бир пайтнинг ўзида генларнинг мақсадли равишда гуруҳларини ўтказиш имконини беради. Бунинг самарасида навнинг мослашувчанлиги, барқарорлиги ва чидамлилигини белгилайдиган генетик хилма-хиллиги янада кенгаяди. Мазкур технологияни амалий селекцияга тадбиқ қилиш учун энг аввало белгига генетик жиҳатдан бириккан ДНК-маркерлар идентификация қилиниши талаб этилади [4].

Янги молекуляр-генетик усулларни қўллаш ва интеграция қилиш йўли билан тадқиқ этилаётган материалларни баҳолаш, улардан селекция ишларида фойдаланиш ҳамда керакли хусусиятдаги генотипларни яратиш муддатини сезиларли даражада қисқартиради [3,4]. Бунинг учун эса энг аввало қимматли хўжалик белгиларни назорат қилувчи генлар ёки QTLлари (*Quantitative Trait Loci* – миқдорий белгилар локуслари) идентификация қилинган ва уларга бириккан ДНК маркерлари аниқланган бўлиши керак [5]. Ҳозирги кунда ДНК маркерларининг бир қанча турлари ишлаб чиқилган бўлиб, улар ўсимликларни тадқиқ этишда кенг фойдаланилмоқда [4]. Хусусан, молекуляр маркерлар ёрдамида сариқ занг касаллигига чидамлилиқ локуслари молекуляр карталаштирилиб, ушбу белгига жавоб берувчи QTLлар ДНК маркерлари билан маркерланган [5,6]. Кўпчилик олимлар томонидан SSR маркерлари қўлланилиб, сариқ занг касаллигининг чидамлилиқ белгиси билан бириккан бир қатор QTLлар аниқланган [6].

Баъзи олимларнинг таъкидлашича, микросателлитларнинг юқори стабиллиги сабаб уларни генетик маркерлашда, популяцион тадқиқотларда ва ҳаттоки геном дактилоскопияси усулидан фойдаланиб шахснинг идентификациясида ишлатилилади [7]. Микросателлит маркерлардан фойдаланиб тадқиқотчи ва олимлар томонидан бир қанча илмий тадқиқотлар олиб борилган. Хусусан геномни карталаштириш, ўсимликларда қимматли хўжалик белгиларга жавоб берувчи QTL локусларини аниқлаш, турларнинг бир-бирлари билан филогенетик қардошлигини аниқлаш каби ишлар бунга мисол бўла олади [8].

Материал ва тадқиқот услублари

Буғдойнинг сариқ занг касаллигига чидамлилигини молекуляр таҳлил қилиш мақсадида ушбу касалликга чидамсиз бўлган Морокко нави ҳамда генотипик ва фенотипик сариқ занг касаллигига турли даражада чидамлик белгиларини намоён

қилган, Генетика ва ўсимликларнинг экспериментал биологияси институтидан келтирилган 17 та изоген линиялар танлаб олинди. Буғдой баргидан геном ДНК ажратиш учун СТАВ услубининг такомиллаштирилган усулидан фойдаланилди [5]. ДНК концентрация миқдори NanoDrop 2000 ускунаси ёрдамида, 260 нм оралигида (битта оптик бирликка 47 μ л ДНК мос келади) ассимиляция қилинди.

УАК популяцияси ўртасидаги генетик полиморфизмларни аниқлаш мақсадида SSR маркерлар тўпламидан 51 та праймерлари билан ПЗР скрининг қилинди.

1-жадвал

SSR маркерлар номи	Маркерлар сони	Алеллар сони
BARC	2	7
WMC	24	103
WMS	25	78
Жами:	51	188

ПЗР реакцияси (hot-start дастури) ишчи аралашмаси 10 μ л ҳажмда қуйдаги тартибда амалга оширилди: 1 μ л геном ДНК, 1 μ л 10X ПЗР буфери, ҳар бири учун 0,02 μ л dNTP, ҳар бир праймердан 0,2 μ л, 0,2 μ л Taq полимераз (5 бирл./ μ л), H₂O – 7,32 μ л.

Амплификация 45 циклдан иборат hot-start дастурида қуйдаги ҳарорат режимларида амалга оширилади: Бошланғич денатурация – 94°C 2 дақиқа 1 та цикл, денатурация 94°C 20 сония 45 та цикл, праймерларни эритиш даражаси 55°C \pm 5°C 30 сония 45 та цикл, элонгация 72°C 50 сония 45 та цикл ҳамда яқунловчи элонгация 72°C 7 дақиқа 1 та цикл. Реакция яқунлангандан кейин намуналар гел-электрофорезда кўрилди.

Микросателлит ПЗР маҳсулотларининг полиморфизмини текшириш учун 3.5%ли горизонтал тарздаги агароза (HiRes) гели этидийли бромид ёрдамида бўялди ва ултрабинафша нури таъсир эттирилиб Alpha Imager 3400 (Alpha Innotech, АҚШ) гел-ҳужжатлаштирувчи қурилмада суратга олинди.

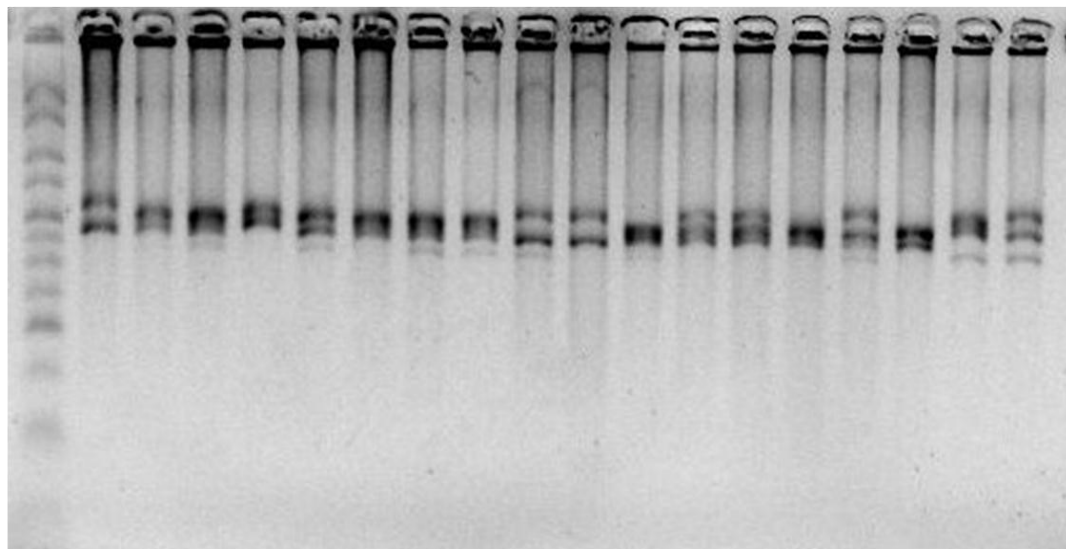
Олинган натижаларни генотиплаш учун махсус GelAnalyzer дастури ёрдамида амалга оширилди.

SSR маркерлар полиморфизм ахборот таркиби PIC (Polymorphism Information Content) билан таҳрирланди [8]. Генетик хилма-хилликни аниқлашнинг PIC калькуляторидан бошқа бир тури (He) гетрозиготалиқдир. Бу битта локусдаги ҳар хил аллелларни ўртача бир қисмга бириктиради [9]. Ушбу таҳрирлар асосида кластер таҳлили амалга оширилди.

Тадқиқот натижалари

Таҳлил натижаларига кўра ота-она генотиплари ўртасида 49 та ДНК-маркери полиморф 2 таси эса мономорф эканлиги кузатилди.

М 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18



1-расм. Ота-она намуналарининг WMC-453 праймери билан гел-электрофореграммаси.

М-Молекуляр оғирлик маркери, **1-**Morocco, **2-**Yr 5/6 Avocet S, **3-**Yr 6/6 Avocet S, **4-**Federation, **5-**Yr 15/6 Avocet S, **6-**Carstens V (W; Yr32), **7-** Yr SP/6* Avocet S, **8-**Avopcet R, **9-**Inia 66, **10-**Avocet "S", **11-**Yr 18/3* Avocet S, **12-**Jupateco "R" (S), **13-**Jupateco "S", **14-**Cock (S), **15-**ATTILA CM85836-50Y, **16-**Lal Bahadur/Pavon 1B L, **17-**Cham 4, **18-**Bohouth 6.

Тадқиқот намуналарини микросателлит маркерлар билан таҳлил қилинганда, полиморфлиги энг юқори бўлган маркер WMC149 (155-245 молекуляр оғирликда) PIC қиймати 0.7932 ни, мономорф бўлган маркер эса WMC104 (149 молекуляр оғирликда) PIC қиймати 0 га тенг эканлиги қайд этди (2-жадвал).

2-жадвал

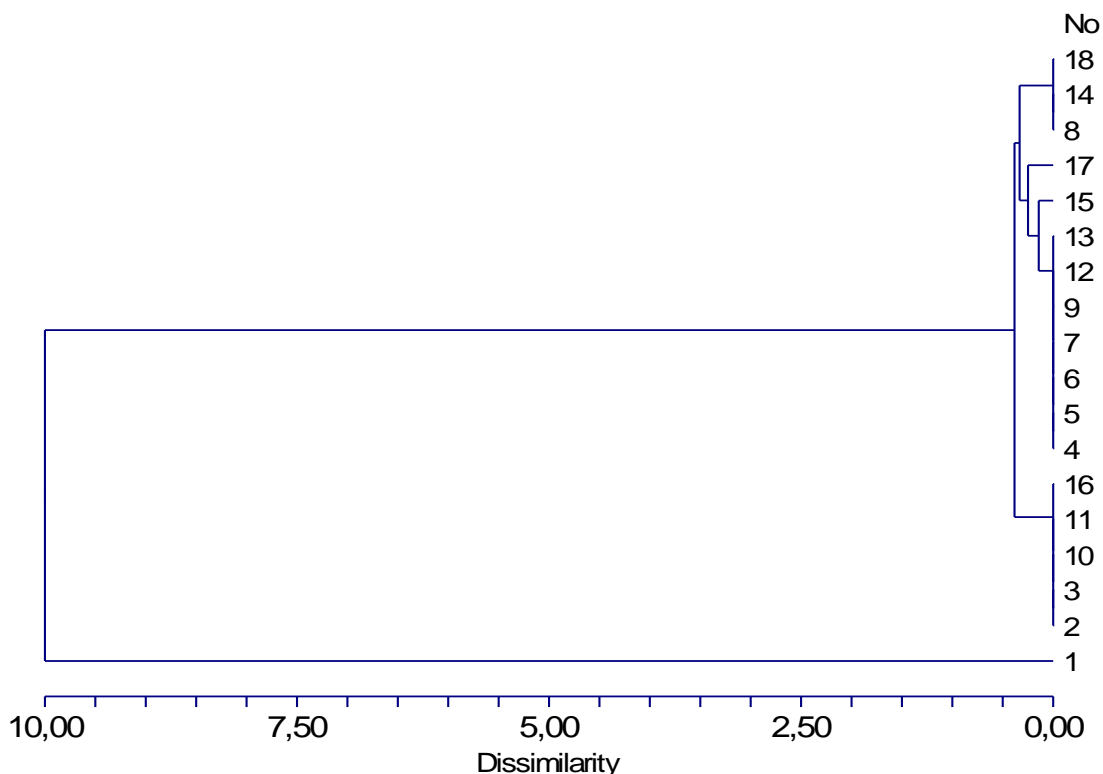
Маркерлар сони, полиморизм ахборот таркиби (PIC), гетрозиготалик ҳолати (PIC билан тартибланган).

Marker	PIC	He	Marker	PIC	He	Marker	PIC	He
WMC-149	0.7932	0.8188	WMS-291	0.3739	0.4978	WMC-198	0,6279	0,6279
WMC-522	0.7873	0.8145	WMS-432	0.3725	0.495	WMC-471	0,6245	0,6829
BARC-181	0.781	0.8087	WMC-332	0.3705	0.3495	WMC-360	0,5767	0,6505
WMS-382	0.6952	0.7417	WMC-245	0.369	0.4882	WMS-359	0,5652	0,6358
WMC-314	0.6629	0.7147	WMS-636	0.3671	0.4844	WMC-397	0,5498	0,5498
WMS-374	0.6555	0.7	WMS-498	0.3405	0.4352	WMS-264	0,5404	0,6194
WMC-154	0.6413	0.6909	WMS-445	0.3257	0.345	WMS-388	0,5253	0,6038
WMS-448	0.6234	0.685	WMS-367	0.2859	0.3457	WMS-130	0,5115	0,5496
WMS-443	0.5849	0.6429	WMS-295	0.2583	0.3047	WMC-494	0,5009	0,5864
WMS-294	0.5757	0.642	WMS-495	0.2037	0.2037	WMC-407	0,471	0,5494
WMS-349	0.5117	0.5617	BARC-101	0.178	0.1975	WMS-413	0,4578	0,5184
WMC-181	0.51	0.5816	WMC-382	0,8321	0,8503	WMC-419	0,4332	0,4763
WMS-484	0.4831	0.5391	WMC-453	0,7425	0,7756	WMS-165	0,3705	0,4911
WMC-257	0.4264	0.5123	WMC-626	0,7005	0,7347	WMS-261	0,1861	0,2076
WMC-175	0.419	0.5286	WMC-344	0,7004	0,7392	WMC-167	0,1638	0,18

WMS-456	0.375	0.5	WMC-341	0,6726	0,7188	WMS-102	0	0
WMS-630	0.3748	0.4996	WMC-486	0,6668	0,7202	WMC-104	0	0

Кластер таҳлили, дендрограмманинг горизонтал ўқи кластерлар орасидаги масофани ёки хилма-хилликни англатади. Вертикал ўқи объект ва кластерларни ифодалайди. Графикда икки кластернинг ҳар бирлашиши горизонтал чизиқнинг икки горизонтал чизиққа бўлиниши билан кўрсатилган. Бўлинманинг икки кластер ўртасидаги масофани (фарқни) берувчи горизонтал позицияси қисқа вертикал чизиқ билан кўрсатилган.

Тирик организмларнинг молекуляр кўрсаткичларидан фойдаланган ҳолда уларнинг филогенетик дарахтдаги ўрнини ҳисоблашнинг жуда кўплаб усуллари (UPGMA, WPGMA, Neighbor-joining, Maximum-likelihood, Bayesian inference ва бошқалар) мавжуд. Тадқиқотда УАК популяцияси ота-она намуналарининг ўзаро генетик полиморфизми маълумотларидан фойдаланиб, ушбу усуллар ичида кенг қўлланадиган UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* – гуруҳдаги жуфтликларни ўртача таққосланмаган ҳисоблаш) усулидан [11] фойдаланилиб, уларнинг филогенетик шажараси тузилди (2-расм).



2-расм. Тадқиқот намуналарининг филогенетик шажара дарахти.

1-Morocco, 2-Yr 5/6 Avocet S, 3-Yr 6/6 Avocet S, 4-Federation, 5-Yr 15/6 Avocet S, 6-Carstens V (W; Yr32), 7- Yr SP/6* Avocet S, 8-Avocet R, 9-Inia 66, 10-Avocet "S", 11-Yr 18/3* Avocet S, 12-Jupateco "R" (S), 13-Jupateco "S", 14-Cock (S), 15-ATTILA CM85836-50Y, 16-Lal Bahadur/Pavon 1B L, 17-Cham 4, 18-Bohouth 6.

Кластер таҳлили натижалари шуни кўрсатдики, танланган 18 та буғдой намуналари асосий уч гуруҳга бўлинди. Учта гуруҳнинг биринчи гуруҳи алоҳида

эканлиги ва ўзига кичик гуруҳлар олмаганлиги кузатилди. Иккинчи ва учинчи гуруҳлар эса ўз навбатида кичик гуруҳларни ўз ичига олганлигини кузатиш мумкин. Ушбу таҳлил натижалари, танланган “Morocco” нави алоҳида гуруҳ эканлиги яни сариқ занг касаллигига чидамлилиги бўйича қолган навлардан кескин фарқ қилишини кўрсатади.

Хулоса

Буғдойнинг уяли ассоциатив карталаштириш популяцияси бошланғич намуналарини молекуляр маркерлар ёрдамида скрининг қилиш, уларнинг генетик хилма-хиллигини ўрганиш тадқиқотлари асосида қуйидагилар хулоса қилинади:

Тадқиқот намуналари буғдой геномига хос 51 та микросателлит маркерлар билан генотиплаш натижасида, уларнинг генетик полиморфизми ҳамда ўзаро филогенетик муносабатлари аниқланди. Бу эса ўз навбатида, намуналарнинг генетик жиҳатдан бир-биридан узоқ ёки яқинлини фарқлаш имконини берди.

Бундан ташқари, тадқиқот намуналарини генотиплашда занг касаллигига ассоциация бўлган ДНК маркерларидан фойдаланилганлиги, уларнинг касалликка чидамlilik хусусиятлари бўйича ўзаро генетик муносабатларини аниқлашга ёрдам берди. Бу эса, келгусида, тегишли УАК популяцияси оиласида занг касаллигига чидамlilik билан генетик боғланган янада ишончли ДНК маркерларини аниқлаш имконини беради.

Ушбу тадқиқот натижалари келгусида УАК популяциясини тегишли ота-она намуналари ўртасида полиморф бўлган маркерлардан фойдаланиб генотиплаш, маркерланган локуслар асосида бирикканлик гуруҳлари генетик картасини тузиш, генотипик ҳамда фенотипик маълумотлар асосида буғдойнинг муҳим агрономик белгиларини QTL карталаштиришга йўл очиб беради.

References:

1. Pooja, Vikram Singh, Meenakshi Rathi, and Bunty Sharma “Molecular Characterization of Diverse Genotypes of Indian Bread Wheat (*Triticum aestivum* L. Em. Thell) by Using SSRs Markers for Leaf and Stripe Rust Resistance” Annual Research & Review in Biology 12(2): 1-8, 2017; Article no.ARRB.32651 ISSN: 2347-565X, NLM ID: 101632869 SCIENCEDOMAIN international www.sciencedomain.org
2. Hou L, Chen X, Wang M, See DR, Chao S, Bulli P, et al. (2015) Mapping a Large Number of QTL for Durable Resistance to Stripe Rust in Winter Wheat Druchamp Using SSR and SNP Markers. PLoS ONE 10(5): e0126794. doi:10.1371/journal.pone.0126794
3. [Chen W](#), [Wellings C](#), [Chen X](#), [Kang Z](#), [Liu T](#) “Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici*” [Mol Plant Pathol](#). 2014 Jun;15(5):433-46. doi: 10.1111/mpp.12116
4. J.Q. Norbekov, F.N. Kushanov, O.S. Turaev, M.M. Darmanov, N.N. Xusenov, Z.T. Buriev “Bug‘doyda zang kasalliklariga chidamlilik xususiyatini o‘rganishda DNK markerlar texnologiyasining roli” O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi,

YOsh olimlar kengashi «Yosh olimlar axborotnomasi» №1 (2) 2018 ilmiy jurnal 49-54 betlar

5. N. Boukhatem, P.V. Baret, D. Mingeot, J.M. Jacquemin. Quantitative trait loci for resistance against Yellow rust in two wheat-derived recombinant inbred line populations. Springer-Verlag. Theor Appl Genet (2002) 104:111–118.
6. Ma, J.B., Huang, X.L., Wang, X.J., Chen, X.M., Qu, Z.P., Huang, L.L. and Kang, Z.S. (2009). Identification of expressed genes during compatible interaction between stripe rust (*Puccinia striiformis*) and wheat using a cDNA library. BMC Genomics, 10, 586-597.
7. Singh, R.P., Nelson, J.C. and Sorrells, M.E. (2000). Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat. Crop Sci. 40, 1148-1155.
8. Botstein D., White, R. L., Skolnick, M. & Davis, R. W /Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // American Journal of Human Genetics. 1980. № 3, (32). C. 314–331.
9. Chesnokov Yu.V, Artemeva A.M. Otsenka meri informatsionnogo polimorfizma geneticheskogo raznoobraziya //Selskoxozyaystvennaya biologiya, 2015, T.50, №5, S.571-578.
10. Norbekov J.K., Xurshut E.E., Adilova A.T., Tulanov A.A., Raxmatov F.N. Xodjaeva U.S.H., Kushanov F.N., Abduraxmonov I.YU. // Genotipirovanie sortov myagkoy pshenitsi Uzbekistanskoy seleksii s ispolzovaniem mikrosatellitnix DNK-markerov // «DAN». 2017 g. Tashkent 2017 g. №4 St. 73-77
11. Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. 1973. Numerical taxonomy — the principles and practice of numerical classification. (W. H. Freeman: San Francisco.).