

**MARKERLARGA
ASOSLANGAN
SELEKSIYA (MAS)
ASOSIDA SARIQ ZANG
KASALIGIGA CHIDAMLI
BO‘LGAN BUG‘DOYNING
YANGI NAV VA
TIZMALARINI TANLASH****Boysunov Nurzod Bekmurodov**
*qishloq xo‘jaligi fanlari bo‘yicha
falsafa doktori (PhD),
katta ilmiy xodim.***Jo‘rayev Kamoljon Xayrulla o‘g‘li,**
*kichik ilmiy xodim.***G‘aniyev Alisher Melikul o‘g‘li,**
*kichik ilmiy xodim.*Janubiy dehqonchilik ilmiy tadqiqot
instituti. Qarshi Sh.E-mail: nurzod.noysunov@mail.ru

Tel: +998 97 316 55 11.

ORCID: 0000-0003-2948-7513

Annotatsiya. Ushbu maqolada, Janubiy dehqonchilik ilmiy-tadqiqot instituti “Genom va biotexnologiya” laboratoriyasida (*Puccinia striiformis f.s. tritici*) sariq zang kasalligiga qarshi kurashning zamonaviy MAS usullari hamda amalga oshirilayotgan tadqiqotlar keltirilgan. Zero, qishloq xo‘jaligida har qanday kasallikka qarshi kurashning eng samarali, arzon va atrof muhitga xavfsiz bo‘lgan ekologik usuli bu chidamli, yuqori hosildor va don sifati yuqori navni ekishdir. Bu borada zang kasalliklari virulentlik tarkibini o‘rganish g‘allachilik uchun katta ilmiy-amaliy ahamiyatga egadir.

Kalit so‘zlar: yumshoq bug‘doy, MAS, marker, SSR, don, sariq zang.

Аннотация: В статье представлены современные методы MAS и исследования, проводимые в лаборатории «Геном и биотехнология» Южного научно-исследовательского института сельского хозяйства по борьбе с желтой ржавчиной (*Puccinia striiformis f.s. tritici*). Ведь самый эффективный, доступный и экологически чистый способ борьбы с любыми болезнями в сельском хозяйстве — это выращивание устойчивых, высокоурожайных и качественных сортов зерна. В связи с этим изучение вирулентного состава ржавчинных болезней имеет большое научное и практическое значение для зернового производства.

Ключевые слова: мягкая пшеница, MAS, маркер, SSR, зерно, ржавчина.

Abstract: This article presents modern MAS methods and research conducted in the “Genome and Biotechnology” laboratory of the Southern Agricultural Research Institute to combat yellow rust disease (*Puccinia striiformis f.s. tritici*). After all, the most effective, affordable and environmentally friendly ecological method of combating any disease in agriculture is planting resistant, high-yielding and high-quality grain varieties. In this regard, the study of the virulence composition of rust diseases is of great scientific and practical importance for grain growing.

Keywords: bread wheat, MAS, marker, SSR, grain, yellow rust.

Kirish. Dunyo g‘alla dehqonchiligida asosiy muammoga aylangan va yumshoq bug‘doy yetishtirishda eng katta iqtisodiy zararni keltirayotgan sariq zang (*Puccinia striiformis f.s. tritici*) kasalligi epidemiyalari bizni Respublikamizni ham tabiiyki chetlab o‘tmadi va aksincha ushbu kasallikning dunyodagi asosiy “qaynoq nuqtalari” dan biriga aylandi [6]. Asosiy maydonda ekilayotgan yumshoq bug‘doyning 25-30 ga yaqin navlarining deyarli barchasi ushbu zang kasalliklariga beriluvchan ekanligi aniqlangan [7].

Keyingi yillarda respublikaning g‘alla maydonlariga ekib kelinayotgan navlarning aksariyati chidamsizligi natijasida g‘alla hosildorligiga jiddiy zarar keltirmoqda va ularga qarshi kimyoviy kurash olib borishda, birgina kasallik yopasiga tarqalgan yillar Qashqadaryo viloyati misolida sarf harajatlar o‘rtacha 8-12 mlrd. so‘mni tashkil qilmoqda [8]. Zang kasalliklarining epifitotiyalari



tarqalgan yillarda yetishtirilgan don hosildorligining yo'qotilishi va sifat ko'rsakichlarining yomonlashuvi natijasida donning eksportboplik xususiyatini pasayishiga olib kelmoqda[9]. Ushbu muammoni hal qilishda zang kasalliklariga chidamlilik genlari mavjud bo'lgan navlar yaratish respublikamiz g'allachiligida zang kasalliklariga qarshi kurash olib borishda yaxshi samara beradi hamda zang kasalliklarning irqlari differinsiator navlarda virulentligi va avirulentligini aniqlash hamda yangi tarqalgan irqlarga mutloq bardoshli genlardan iborat navlarni yaratish lozim[10].

Material va uslublar. STAV usuli. Bu usulni qo'llab o'simlik to'qimasidan genom DNKsini ajratish anchagina samarali va sifatlidir[1]. Barcha o'simlik turlaridan DNK larini ajratish mumkin [2]. Ishlatilayotgan reagentlar inson salomatligi uchun xavfsiz va boshqa usullarga qaraganda arzon[3]. Biz tadqiqot ishida bug'doyning yosh bargidan genom DNK sini ajratish uchun ancha foydali va ommaviy bo'lgan STAV usulidan foydalanildi[4].

To'qimalarni xujayraga maydalash. Barg to'qimasini xujayralarga maydalash uchun uni farfor idishga solib ustiga - 80°C suyuq azot quyib chinni tayoqcha bilan bir xil massa (pudra) xosil bo'lguncha maydalandi. Hosil bo'lgan hujayralarni birinchi navbatda lizirlovchi buffer orqali qayta ishlandi. Hujayra membrana qobig'i va uning yadrosini eritish uchun 65°C haroratda 45 daqiqa davomida 2x STAB buferida inkubatsiya qilinib, aralashma yopishqoq, cho'ziluvchan, hujayraning oldingi suyuqligiga nisbatan ancha shaffof bo'lgan supernatant olindi[5].

Bizga ma'lumki DNK bilan oqsillar bir-biriga juda mustahkam bog'langan. Oqsillarni aralashmadan olib tashlashning bir necha etaplari mavjud. Bizning sharoitda o'simlik DNK sini oqsillardan holi qilish uchun bir necha daqiqa probirkalarni sentrafuga qilindi. Bundan so'ng hamma yoki katta-kichik hujayra bo'laklari, parchalangan oqsillar va boshqa moddalar cho'kma bo'lib probirka tubiga tushadi. Tarkibida asosan nuklein kislotalar-DNK va RNK bo'lgan probirkaning ustki qatlamidagi suyuqlik (supernatant) ni boshqa probirkaga olindi va ustiga suyuqlikdagi DNK ni ivishi uchun STAB presipitation buferidan qo'shib +650C haroratli suv hammomida 30 minut saqlandi.

DNK ni RNK dan tozalash. Bundan keyingi jarayonda supernatant tarkibidagi suyuqlikni sentrafugalash yo'li bilan olib tashlanadi. Keyin probirka tubida toza cho'kma olinib va unga RNKzaga qo'shidi yuqori tuzli bufer bilan qayta ishlandi. Bu bosqich molekulyar genetikada juda ham zarur. Supernatant tarkibidagi DNK yetarlicha RNK lardan holi qilindi.

DNK ni cho'ktirish. Probirkadagi suyuqlik ustiga 96% izopropanol qo'shildi va bu holda DNK kristal holatiga o'tadi. Shu sababli izopropanol qo'shildi DNKli suyuqlik sekin astalik bilan - 20°C li muzlatkichga bir soatga qo'yildi. Bunday sharoitda DNK ni ajralib chiqishi ancha tezlashadi. Muzlatkichdan so'ng DNKni sentrafugada cho'ktirib olindi. Probirkani yuqori qismida hosil bo'lgan suyuqlikni olib tashlab keyingi jarayonga o'tildi.

DNK ni tuzlardan tozalash va eritish. DNK ni har hil tuzlardan tozalash uchun uni 70% li spirt bilan ikki marta yuvildi. Tuzlardan tozalangan DNK yashilab AiRDry uskunasida 45 minut davomida quritildi. Quritilgan DNK ni TE buferda eritildi va PZR maqsadlarda ishlatish uchun qisqa muddatga 40S li muzlatgichda saqlash uchun ko'yildi.

Har bir namunadan ajratib olingan genom DNKlari 1% li agarozaga gelida elektroforez qilindi va ularning konsentratsiyasi vizual tarzda aniq konsentratsiyali λ fag DNKsiga taqqoslanib aniqlandi. Ularning konsentratsiyasi ishchi konsentratsiyaga (25 ng./mkl) olib kelindi va muzlatilgan holda - 20°C haroratli muzlatgichda saqlandi.

Agoroza gelini tayyorlash.

1) 1 % li agarozaga gelini tayyorlash uchun 1 gramm agarozaga kukuni 100 ml o'lchangan 0.5×TVE buferida eritildi.

2) Qorishmani mikroto'lqinli pechda agarozaga eriguncha qizdirildi.

3) Agarozali iliq eritmani iqtisoslashgan mahsus shaklli idishlarga quyildi va idishning yuqori tomonidan boshlab uyachalar hosil qiluvchi mahsus taroq uskunasi gelga kiritildi. Gel qotgandan so'ng taroqcha olib tashlandi va uning o'rnida tubida 0.5-1 mm qalinlikdagi agarozaga geli qolgan teshikchalar xosil qilindi. Keyinchalik shu teshikchalarga tekshirilayotgan DNK lar qo'yiladi.

4) Elektroforez kamerasiga kerakli miqdorda elektroforez bufferi gel yuzasi 1 mm qalinlikdagi buffer bilan qoplangan xolda quyildi.

5) elektroforez jarayonini tris barat YEDTA (TBE) tarkibli buferidan foydalanildi. U katta buffer sig‘imiga ega va u DNK qismlarini yaxshi ajralishini ta‘minlaydi.

6) DNK ni ajralishini gelda kuzatish uchun DNKni gelga quyishdan oldin uni rang beruvchi brom fenol ko‘ki yoki kisosionol bilan aralastirildi. Tadqiqot ishida brom fenol ko‘kini DNK bilan aralastirish uchun quyidagi tarkibli buffer ishlatildi. 0.25% brom fenol ko‘ki, 0.25% ksiloltsionol, 30% glistsirin va N2O. Bu tayyor buferni 5mkl DNK ga 1mkl buffer qo‘shildi.

7) DNK elektroforez jarayoni davomiyligini vaqt bilan o‘lchaganda 40 daqiqa qilib belgiladik.

8) Agoroza geli plastinkasini elektroforez kamerasidan olindi va UF nurlari ostida ko‘rib chiqildi. Loyiha ishida DNK ni ko‘rishda MultiDoc-It™ 125 Imaging Sestem LM-20 Transilluminator P/N 97-0193-02 (MultiDoc-It™ 125 Imaging Sestem, SSHA) qurilmasidan foydalanildi.

Praymerlar bilan PZR reaksiyalari o‘tkazildi. Mikrosatellitlar amplifikatsiyasi polimorfizmi 3,5% li Hi-Res agoroza gelida 6 v/sm elektr kuchlanishi ostida 0,5 x TVE buferida amalga oshirildi. Gellar etidium bromli eritmada bo‘yalib MultiDoc-It™ 125 Imaging Sestem LM-20 Transilluminator P/N 97-0193-02 (MultiDoc-It™ 125 Imaging Sestem, SSHA) uskunasiida suratga olib elektron holda saqlab qo‘yildi.

Ctastitik tahlil genetik qarindoshlikni aniqlashga asoslangan programma usullar asosida Nei (PopGene32, UPGMA – *Unweighted PairGroup Methods*) programmada amalga oshirilgan.

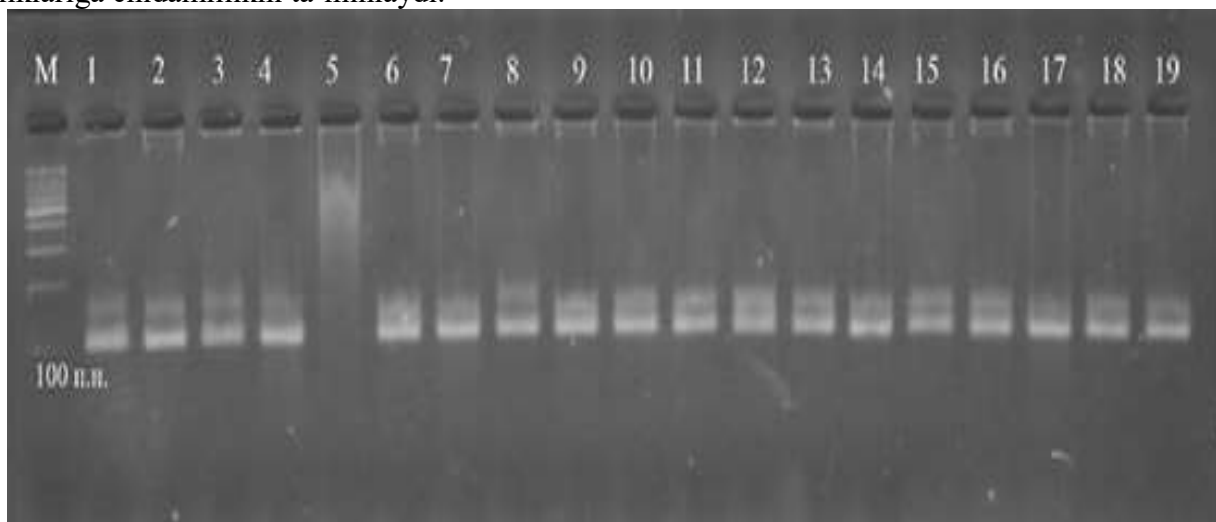
Markerlar informativ indeksi PIC (*polymorphism information content*) fomula asosida ishlandi:

$$PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Dastlabki PZR reaksiyalarining tahliliga ko‘ra o‘simliklar o‘rtasida barcha markerlar polimorfizm namoyon etdi va bu markerlar keyingi avlod o‘simliklarini skrining qilish maqsadi uchun tanlab olindi.

Natijalar va munozara. Bug‘doyda Markerga asoslangan seleksiya (MAS – Marker-Assisted Selection) uchun ishlatiladigan asosiy markerlar Yr9, Yr18, Yr36 – sariq zangga (stripe rust) chidamlilik hisoblanadi. MAS seleksiya bug‘doyda yuqori hosildor, kasalliklarga va stress sharoitlariga chidamli navlarni tezroq yaratishga imkon beradi.

Tadqiqotda WMC473 – bu SSR (Simple Sequence Repeat) markerlarida foydalanilgan bo‘lib, MAS (Markerga asoslangan seleksiya) texnologiyasida bug‘doyning zang kasalliklariga chidamliligini aniqlash uchun ishlatiladi. U Lr34/Yr18/Pm38 kompleks geni bilan bog‘liq bo‘lib, bu gen barg zang (Leaf Rust - Lr), sariq zang (Stripe Rust - Yr) va unshudring (Powdery Mildew - Pm) kasalliklariga chidamlilikni ta‘minlaydi.



1-rasm. WMC473 SSR (Simple Sequence Repeat) markerlarida foydalanib 19 ta yumshoq bug‘doy navlari agaroz gelida elektroforezi.

Tadqiqotda M belgisi bo'lgan yo'lak mavjud bolga marker ladder bo'lib, DNK fragmentlarining uzunligini aniqlash uchun ishlatildi. 100 bp (juft nukleotid) belgilangan, shundan kelib chiqib, qolgan yo'laklardagi DNK fragmentlari taxminan 100 bp yoki undan kattaroq bo'lishi mumkinligi aniqlandi.

PCR mahsulotlari 1-19 yo'laklarda ekildi va ba'zi yo'laklarda aniq DNK bantlari ko'rindi, boshqalarida esa biroz sust namoyon bo'ldi. 5-yo'lakda kuchli signal bor bo'lib, bu PCR mahsuloti muvaffaqiyatli amplifikatsiyalanganini ko'rsatadi. Qolgan yo'laklarda 6-19 zaiyroq yoki teng kuchli DNK bantlari mavjud, bu esa amplifikatsiya bo'lganini anglatadi. 1-4 yo'laklarda hech qanday DNK tasmasi ko'rinmadi, va PCR salbiy baholandi.

1-jadval

O'rganilgan yumshoq bug'doy namunalarining nomi va kelib chiqishi

ry	2023-Entry	PEDIGREE
1	KR19-19thDSBW YT-29639	HUBARA-1/5/KAUZ/3/MYNA/VUL//BUC/FLK/4/MILAN
2	KR19-19thDSBW YT-29782	HUBARA-1//ACHTAR/INRA 1764/7/CHAM-8/6/SAKER'S'/5/RBS/ANZA/3/KVZ/HYS//YMH/TOB/4/BOW'S'
3	KR19-19thDSBW YT-29872	ATTILA-1/NS732/HER//PARUS/PASTOR/3/TEMPORALERA M 87*2/KONK
4	KR19-19thDSBW YT-29979	DEBEIRA/ETBW 4922//SKAUZ/BAV92
5	KR20-20thDSBW YT-07	WEEBILL-1/2*QAFZAH-21//KAMB2/PANDION/3/TEG/MIAN YANG 20//CHUM18/5*BCN
6	KR20-20thDSBW YT-26	ZEMAMRA-1/LAKTA-3//NAANAA-1
7	KR20-20thDSBW YT-44	KAUZ/PASTOR//PBW343/4/HD2206/HORK'S'/3/2*NS732/HER//KAUZ'S'/5/JAWAHIR-17
8	KR20-20thDSBW YT-49	ALTAR 84/AE.SQUARROSA (JBANGOR)//ESDA/3/HEILO/5/CNO79//PF70354/MUS/3/PASTOR/4/BAB AX/6/PRL/2*PASTOR//SERI/4/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BABAX
9	KR20-20thESBW YT-05	06W31476//MILAN/PASTOR/4/HEILO/3/SW89.5277/BORL95//SKAUZ
10	KR20-20thESBW YT-12	KRONSTAD/3/FRET2/KUKUNA//FRET2/6/ALTAR 84/AE.SQUARROSA (JBANGOR)//ESDA/3/HEILO/5/CNO79//PF70354/MUS/3/PASTOR/4/BAB AX
11	KR20-20thESBW YT-39	Chakwal/3/SHI#4414/CROWS"//GK SAGVARI/CA8055
12	KR20-20thESBW YT-46	MILAN/SHA7/3/THB/CEP7780//SHA4/LIRA/4/SHA4/CHIL/5/AGUILAL

13	KR20- 20thHTSB WYT-35	BOW #1/FENGGANG 15//NESMA*2/261-9/3/DUCULA/4/SIDS- 1/5/Gladius
14	KR20- 20thHTSB WYT-38	DEBEIRA /KABEER
15	KR20- 20thHTSB WYT-41	ATTILA/HEILO//Libya # 3
16	KR20- 20thHTSB WYT-45	HUBARA-15/ZEMAMRA- 8//MASSIRA/4/FRAME//MILAN/KAUZ/3/PASTOR
17	KR20- 20thHTSB WYT-48	HUBARA-3*2/SHUHA-4//TOROS
18	KR20- 20thDSBW YT-04	HUBARA-3*2/SHUHA-4//BASHIR
19	KR20- 20thDSBW YT-05	06W31476//MILAN/PASTOR/4/HEILO/3/SW89.5277/BORL95//SKAUZ

O'rganilgan barcha SSR- markerlar (PIC, *polymorphism information content*) ma'lumot koeffitsiyenti 0.3663 (**WMC473-06**) dan 0.6785 (**WMC473-19**) gacha bo'lib, o'rtacha PIC qiymati 0,532 ga teng bo'ldi.

Genotiplarda geterozigotalik qiymati o'rtacha 0,5 ga mos kelib, 0.4829 dan (**WMC473-02**) to 0.7269 (**WMC473-4**) gacha o'zgarib turishi kuzatildi.

O'rganilgan genotiplar guruhlarida lokuslardagi allellarning uchrash chastotasini tavsiflovchi ko'rsatkich – samarali allellar soni o'rtacha 1,9 dan (WMC 149) 2,0 gacha (BARC 76) ekanligi aniqlandi.

Xulosa o'rnida aytish mumkinki, genom seleksiyasining MAS (markerlarga asoslangan seleksiya) yordamida sariq zang kasalligiga chidamli genlari mavjud yangi seleksion ashyolar tanlab olinib, yangi avlod yumshoq bug'doy navlarini yaratish natijasida sug'oriladigan maydonlarda hosildorlik 10-15 s/ga oshirishga erishiladi. Bu halqimizni yuqori sifatli don mahsulotlariga bo'lgan talabini qondirishga xizmat qiladi.

ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Akter, N., Rafiqul Islam, M. Heat stress effects and management in wheat. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **37**, 37 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0443-9>
2. Bao Y, Wang S, Wang X, Wang Y, LI X. Wang L, Wang H (2009). Heterosis and combining ability for major yield traits of a new wheat germplasm Shannong 0095 derived from *Thinopyrum intermedium*. *Agri. Sci. China* 8(6): 753-760.
3. Barot HG, Patel MS, Sheikh WA, Patel LP, Allam CR (2014). Heterosis and combining ability analysis for yield and its component traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Electr. J. Plant Breed.* 5(3): 350-359.
4. Abdel-Lateif KS, Hewedy OA (2018). Genetic diversity among Egyptian wheat cultivars using SCoT and ISSR markers. *SABRAO J. Breed. Genet.* 50: 36-45.
5. Attyaf J.T. Al-Tamimi, Ali S. Al-Janabi (2019). Genetic diversity among bread wheat genotypes using RAPD and SSR markers. *SABRAO J. Breed. Genet.* 51: 325339.
6. Dilmurodovich D. S. et al. CREATION OF NEW DROUGHT-RESISTANT, HIGH-YIELDING AND HIGH-QUALITY VARIETIES OF BREAD WHEAT FOR RAINFED AREAS //British Journal of Global Ecology and Sustainable Development. – 2022. – T. 2. – C. 61-73.
7. Boysunov N. B. et al. DIALLEL ANALYSIS FOR 1000-KERNEL WEIGHT IN WINTER WHEAT //Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации. – 2021. – С. 52-54.
8. Dilmurodovich D. S. CREATION OF NEW DROUGHT-RESISTANT, HIGH-YIELDING AND HIGH-QUALITY VARIETIES OF BREAD WHEAT FOR RAINFED AREAS //World scientific research journal. – 2023. – T. 13. – №. 1. – С. 117-125.
9. Bekmurodovich B. N. et al. " RESISTANT TO THE COMPLEX STRESS FACTORS (SALT, DROUGHT, DISEASE) OF THE" OROLBO'YI" REGION, THE YIELD OF SPRING WHEAT, THE QUALITY INDICATORS OF THE GRAIN WILL BE STABLE HIGHER. ACTIVITY IMPLEMENTED WITHIN THE FRAMEWORK OF DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY //Intent Research Scientific Journal. – 2023. – T. 2. – №. 6. – С. 193-200.
10. Juraev DT, Amanov O, Dilmurodov Sh, Boysunov N, Turaeva S, Mamadjanova N, Raimova D (2023). Winter wheat assessment for growth, grain yield, and quality parameters under diverse soil and climatic conditions. *SABRAO J. Breed. Genet.* 55(4): 1193-1204. <http://doi.org/10.54910/sabrao2023.55.4.15>.