



Alliance



Абдуллаев Абдумавлон Абдуллаевичнинг  
90-йиллигига бағишиланган

# «ҒЎЗА ВА БОШҚА ЭКИНЛАР ГЕНОФОНДИ БИОХИЛМА-ХИЛЛИКЛАРИНИ ЎРГАНИШ, РИВОЖЛАНТИРИШ, САҚЛАШ ВА САМАРАЛИ ФОЙДАЛАНИШ ИСТИҚБОЛЛАРИ»

## «ИЗУЧЕНИЕ, РАЗВИТИЕ, СОХРАНЕНИЕ, ПЕРСПЕКТИВЫ ЭФФЕКТИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ГЕНОФОНДА ХЛОПЧАТНИКА И ДРУГИХ КУЛЬТУР»

## «STUDY, DEVELOPMENT, CONSERVATION AND PROSPECTS OF EFFECTIVE USE OF COTTON AND OTHER CROPS BIODIVERSITY»

МАВЗУСИДАГИ ХАЛҚАРО ИЛМИЙ АНЖУМАН МАТЕРИАЛЛАРИ

2020 йил 20–21 октябрь

### 3-СЕКЦИЯ

## МОЛЕКУЛЯР ГЕНЕТИКА ВА ҚИШЛОҚ ХЎЖАЛИГИ ЎСИМЛИКЛАРИНИНГ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ МАСАЛАЛАРИ

### ВОПРОСЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

### ISSUES OF MOLECULAR GENETICS AND BIOTECHNOLOGY OF CROPS

## ҒЎЗАНИНГ АЛОҲИДА ХРОМОСОМАСИ АЛМАШГАН МОНОСОМИК $BC_1F_1$ ДУРАГАЙЛАРИДА 6 ХРОМОСОМАСИНИ ДНК МАРКЕРЛАР ЁРДАМИДА ТАҲЛИЛ ҚИЛИШ

<sup>1</sup>Абдукаримов Ш. С., <sup>1</sup>Макамов А. Х., <sup>2</sup>Бобохужаев Ш. У., <sup>2</sup>Санамъян М. Ф., <sup>1</sup>Буриев З. Т.

<sup>1</sup> ЎзР ФА Геномика ва биоинформатика маркази, Қибрай тумани Университет кўчаси, 2 уй,  
тел: +998712605170, e-mail: sharofiddinabdukarimov@gmail.com

<sup>2</sup>Ўзбекистон Миллий Университети, Олмазор тумани, Университет кўчаси, 4-уй

Ғўзада маданий турларни ёввойи турлар билан ўзаро чатиштириш муҳим аҳамиятга эга. 2003 йилда J.-M. Lacape ва бошқалар *G.hirsutum* x *G.barbadense* нинг ўзаро чатиштиришдан олинган беккросс популяцияларининг RFLP-SSR-AFLP маркерлардан фойдаланиб, уларнинг генетик харитасини тузишди. Улар жами 1014 та маркер: 576 та AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism – амплификацияланган фрагмент узунлиги полиморфизми) маркер, 234 та SSR маркер, 200 та RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism – рестрикцияланган фрагмент узунлиги полиморфизми) маркер ва 4 та морфологик маркерлардан фойдаланишди. Бундан ташқари улар гомоелогик хромосомаларда бир хил маркерлар учрашини аниқлашди [1].

2005 йилда АҚШ олимлари D. M. Stelly ва бошқалар *G.hirsutum* билан *G.barbadense* ни ўзаро чатиштириб, *G.barbadense* нинг 1, 2, 4, 6, 7, 16, 17, 18, 25 хромосомаларни тўлиқ, 5, 11, 12, 14, 15, 22 хромосомаларнинг кичик елкаси ва 22 ҳамда 26 хромосомаларнинг узун елкаси *G.hirsutum* га кўчиб ўтганлигини аниқлашди [2].

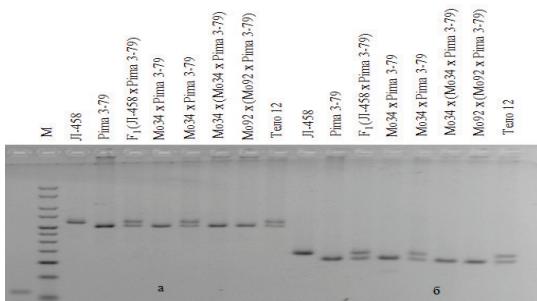
Ўзбекистонда М. Ф. Санамъян раҳбарлигига ғўзанинг *G.hirsutum* L. турига мансуб Л-458 линияси (нормал,  $2n=52$ ) асосида моносомик ва монотелодисомик линиялар яратилган [3]. Ноёб цитогенетик коллекциядаги моносомик ва монотелодисомик линиялар ёрдамида алоҳида хромосомаси ёки бир елкаси алмашган линиялар яратиш устида тадқиқотлар олиб борилмоқда. Цитогенетик таҳлиллар ёрдамида дисомик ва моносомик  $F_1$  дурагайларни ажратиб олинган [4] [5].  $F_1$  дурагайлар анеуплоид линиялар билан қайта чатиштирилди ва  $BC_1F_1$  авлод олинди. Улар орасидан моносомик ўсимликлар ажратиб олинди. Моносомик  $BC_1F_1$  дурагайларда *G.barbadense* нинг қайси хромосомаси кўчиб ўтганлигини аниқлаш мақсадида ҳар бир хромосомага хос бўлган SSR маркерлар ёрдамида молекуляр таҳлиллар олиб борилмоқда [6] [7] [8].

Тадқиқот обьекти сифатида ЎзМУ нинг Ботаника боғидаги иссиқхонада ўсаётган цитогенетик коллекциянинг 8 та материали: она (Л-458), ота (Pima 3-79), нормал дисомик  $F_1$  ва 6 чи хромосомани алмашган тасдиқлаш учун 3 та  $F_1$  анеуплоид дурагайлар ҳамда 2 та  $BC_1F_1$  моносомик дурагай ўсимликлари олинди. Дастрраб ўсимликдан СТАВ усулида геном ДНК ажратиб олинди. Ажратилган ДНК ларнинг концентрацияси Nanodrop 2000 ускунасида ўлчанди. Ажратиб олинган ДНК ларга ғўзанинг 6 хромосомасига ПЗР қўйиш учун полиморф SSR маркерлар танлаб олинди (1-жадвал).

*SSR маркерлар ва нуклеотидлар кетма-кетлиги*

№	SSR маркер номи	Нуклеотидлар кетма-кетлиги	Такрорланиши
1	Gh039	F: CCAGTTTATAATAAGAATCATAGTTGGTGG R: CACATTCACTTCAAAGTCCATCAC	AAG(15)
2	TMB1538	F: TTGTCAAGTTCAAGGGCACA R: TTAGTTCATAGTTGGATTGATGC	CA(17)

ПЗР ни амалга оширишда битта намуна учун 10 мкл ҳажмда ишчи эритма тайёрланди. Хромосомалар учун хос бўлган специфик маркерлар учун қўйилган ПЗР Германияда ишлаб чиқарилган Mastercycler nexus gradient ускунасида амалга оширилди. ПЗР жараёни 1 соат 50 дақиқа давом этди. Шу вақт ичиди электрофорез ускунасининг маҳсус идишчасига 3,5 % ли Hi-Res агароза гели тайёрланди. ПЗР тугагач, ПЗР маҳсулотини бромфенол кўки бўёғи билан бўяб, 3,5 % ли Hi-Res агароза гелидаги уячаларга жойлаштирилди ва 40 дақиқа давомида 100 V кучланишда ҳаракатлантирилди. ПЗР маҳсулоти гелда ҳаракатлангач, Bio-Rad Gel Doc™ System ускунасида фотохужжатланди. Молекуляр таҳлиллар натижасига кўра, F<sub>1</sub> Mo34xPima 3-79, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Mo34xPima 3-79 ва BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> Mo92xPima 3-79 дурагайларида **6**-хромосоманинг алмашганлиги тола узунлиги ва тола пишиқлигига ассоциацияланувчи Gh039 [9] ва TMB1538 SSR маркери ёрдамида аниқланди (1-расм).



**1-расм.** 6 хромосоманинг 3,5 % ли Hi-Res агароза гелида кўриниши.  
a-TMB1538, b-Gh039

Шундай қилиб, молекуляр таҳлиллар шуни кўрсатдики, моносомик BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> беккроссли авлодларда *G.barbadense* нинг хромосомаси локализация бўлганлигини кўришимиз мумкин.

### Фойдаланилган адабиётлар

1. Lacape J.-M., Nguyen T. B., Thibivilliers S., Bojinov B., Courtois B., Cantrell R.G., Burr B., Hau B. // A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross population // Genome. 2003. V. 46. – P. – 612-626.
2. Stelly D. M., Saha S., Raska D. A., Jenkins J. N., McCarty J. C., Gutie'rrez O.A.// Registration of 17 Upland (*Gossypium hirsutum*) Cotton Germplasm Lines Disomic for Different *G. barbadense* Chromosome or Arm Substitutions // Crop Science Society of America Published in Crop Sci. 2005. V.45. – P. 2663-2665.
3. Sanamyan M. F., Petlyakova J., Rakhatullina E. M., Sharipova E. «World Cotton Germplasm Resources». Chapter 10. «Cytogenetic Collection of Uzbekistan». – Intech. – Croatia. – 2014. - P. - 247-287.
4. Бобохужаев Ш. У., Санамьян М. Ф. Цитологическое изучение межвидовых гибридов F<sub>1</sub> с замещениями отдельных идентифицированных хромосом вида *Gossypium barbadense* L. // Респ. науч. конф. «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии». Ташкент. - 18 мая 2018 г. - С. 184-186.
5. Бобохужаев Ш. У., Санамьян М. Ф. Цитологические особенности межвидовых гибридов F<sub>1</sub> с замещениями отдельных хромосом // Академия Наук Республики Узбекистан Центр гено-

мики и биоинформатики сборник тезисов Республиканской научной конференции современные «Проблемы генетики, геномики и биотехнологии» 18 мая 2017. С.101-102.

6. Макамов А. Х., Холмурадова М. М., Буриев З. Т., Абдурахмонов И. Ю., Бобохужаев Ш. У., Санамъян М. Ф. // Фўзанинг (*G.hirsutum* L.) F<sub>1</sub> моносомик дурагайларида йўқолган хромосомаларни ДНК маркерлари ёрдамида аниқлаш // Центр геномики и биоинформатики АН РУз, сборник тезисов Республиканской научной конференции современные «Проблемы генетики, геномики и биотехнологии» 18 мая 2017. - С.51-52.

7. Абдукаримов Ш. С., Макамов А. Х., Санамъян М. Ф., Бобохужаев Ш. У., Буриев З. Т. // Ўзбекистонда фўзанинг янги хромосомаси – алмаштирилган линиялари яратишда SSR-маркерларнинг аҳамияти. // A collection of materials of the international conference «Prospects of an intensive approach to innovative development". Namangan. Uzbekistan. 2018. – Р. 124-126.

8. Абдукаримов Ш. С., Макамов А. Х., Санамъян М. Ф., Бобохужаев Ш. У., Буриев З. Т. // Фўзанинг BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> моносомик дурагай авлодларини идентификация қилишда SSR маркерларнинг аҳамияти // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари республика илмий анжуманининг тезислар тўплами // 16 май 2019 йил. 26-28 б.

9. Abdullayev Al., Salakhutdinov I., Khurshut E., Abdurakhmonov I.Y.// Genetic diversity, linkage disequilibrium, and association mapping analyses of *Gossypium barbadense* L. germplasm //PLoS ONE. - 2017. – Р. 16-30

## ENHANCEMENT OF TRANSGENE EXPRESSION AND SIMULTANEOUS TARGET GENE SILENCING IN PLANTS

Abduraxmanova Sh.A.<sup>1</sup> Mamadaminov<sup>1</sup> H., Ruziboyev<sup>2</sup> X., Matkarimova<sup>1</sup> A. And Shapulatov U. M. <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Botany and Plant Physiology,

<sup>2</sup>Department of Biophysics, National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek, 100174, Tashkent, Vuzgorodok, University street-4

<sup>3</sup>Institute of Genetics and Plant Experimental Biology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

Plant traits have been engineered with single gene manipulation to great success, either by isolating mutants of a single gene<sup>1</sup>, by overexpression of a single gene, or through silencing of a single gene. However, because of the complexity of gene- and metabolic-networks the effect of many single-gene disturbances may be largely buffered in such networks. Moreover, plant trait manipulation may potentially benefit from synergistic interaction between different trait manipulations involving multiple gene manipulations. Efficient engineering of plant traits may therefore benefit from techniques that can target multiple genes by a single transformation event. Here, we have explored the feasibility of artificial gene constructs which allow for the overexpression of one gene and simultaneous silencing of another gene. The silenced gene is targeted by an artificial miRNA encoded in the intron of the overexpressed gene. The concept is based on so-called miRtrons found in nature and we therefore name our gene constructs amiRtrons.

We have used a set of building blocks to construct an artificial miRtron gene to test the feasibility and requirements for dual gene overexpression and targeted gene-silencing. For overexpression we used the ffLuciferase gene with a single intron, allowing for easy monitoring of gene activity and splicing accuracy. As template for the miRNA sequence in the intron we used the natural miR319a in which the target sequence was replaced by a 21 nucleotide sequence targeting either the *Arabidopsis* PHYB gene or the *Arabidopsis* TCP gene (which is targeted by the miR319a). Results showed that insertion of the miRNA sequence at the correct site within the intron resulted in higher LUC activity compare to the ffLUC gene without miRNA sequence in the intron. These suggest that the interaction between the spliceosome complex and the microprocessor complex modulates the expression of the miRtron gene.

<i>Алиходжаева С.С., Усманов С.А., Кахарова К.М., Кахарова М.М.</i>	
РОЛЬ ДИКИХ И РУДЕРАЛЬНЫХ РАЗНОВИДНОСТЕЙ <i>G. HIRSUTUM L.</i> В СОЗДАНИИ ЛИНИЙ ХЛОПЧАТНИКА, УСТОЙЧИВЫХ К ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ И СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ .....	70
<i>Б.Х.Аманов, М.Т.Хидиров, Л.Ф.Умирова</i>	
GOSSYPIUM L. ТУРКУМИГА МАНСУБ <i>G.MUSTELINUM Miers ex Watt</i> ВА <i>G.HERBACEUM L.</i> ТУРЛАРИНИ БИОЛОГИК ВА ХЎЖАЛИК БЕЛГИЛАРИ ТАСНИФИ .....	72
<i>Бабоева С.С.</i>	
ЎЗБЕКИСТОН ШАРОИТИДА БУҒДОЙНИНГ ҚУРҒОҚЧИЛИККА ЧИДАМЛИЛИК ФЕНОЛОГИЯСИ.....	74
<i>Матяқубова Э.У., Халикова М.Б., Сайдалиев Х.</i>	
<i>G.BARBADENSEL.</i> ТУРИГА МАНСУБ ҒҮЗА КОЛЛЕКЦИЯСИ НАМУНАЛАРИНИНГ ТОЛА УЗУНЛИГИ .....	75
<i>Мўминов Х.А., Ризаева С.М.</i>	
ҒҮЗАНИНГ <i>G.HIRSUTUM L.</i> ВА <i>G.ARBOREUM L.</i> ТУРЛАРАРО $F_1$ - $F_2$ ДУРАГАЙЛАРИДА ТОЛА ИНДЕКСИ БЕЛГИСИННИНГ ИРСИЙЛАНИШИ .....	77
<i>Н.Г.Губанова, З.Ю. Садикова</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ПРИЗНАКА МАСЛИЧНОСТИ В ФИЛОГЕНЕЗЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ РОДОВ ХЛОПЧАТНИКА .....	79
<i>Эрназарова З.А., Рафиева Ф.У., Раҳимова Г., Ризаева С.М., Абдуллаев А.А.</i>	
НАСЛЕДОВАНИЕ ДЛИНЫ И ВЫХОДА ВОЛОКНА У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ХЛОПЧАТНИКА.....	81

### 3-СЕКЦИЯ

#### МОЛЕКУЛЯР ГЕНЕТИКА ВА ҚИШЛОҚ ХЎЖАЛИГИ ЎСИМЛИКЛАРИНИНГ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ МАСАЛАЛАРИ

#### ВОПРОСЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ISSUES OF MOLECULAR GENETICS AND BIOTECHNOLOGY OF CROPS

<i>Абдукаримов Ш.С., Макамов А.Х., Бобохужаев Ш.У., Санамъян М.Ф., Буриев З.Т.</i>	
ҒҮЗАНИНГ АЛОҲИДА ХРОМОСОМАСИ АЛМАШГАН МОНОСОМИК $Bc_1 F_1$ ДУРАГАЙЛАРИДА 6 ХРОМОСОМАСИНИ ДНК МАРКЕРЛАР ЁРДАМИДА ТАҲЛИЛ ҚИЛИШ .....	84
<i>Sh.A.Abduraxmanova, N.Mamataminov, X.Ruziboev, A.Matkarmanova And U.M.Shapulatov</i>	
ENHANCEMENT OF TRANSGENE EXPRESSION AND SIMULTANEOUS TARGET GENE SILENCING IN PLANTS .....	86
<i>М.Ф.Абзалов, А.А.Юлдашев, А.М.Аманов</i>	
ЎСИМЛИКЛАРДА ЎХШАШ ЎЗГАРУВЧАНЛИКНИНГ ТАКРОРЛАНИШИНИНГ ГЕНЕТИК АСОСЛАРИ ( <i>G. HIRSUTUM L.</i> ВА <i>GLYCINE MAX L.</i> МИСОЛИДА).....	87
<i>Бабаева Д.Т., Нурматова М.И., Ахунов А.А., Хашимова Н.Р</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ СТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИЙ ПРЕПАРАТА ДАГ-1 С ФУНГИЦИДАМИ ДЛЯ ПРОТРАВЛИВАНИЯ СЕМЯН ХЛОПЧАТНИКА.....	88
<i>А.С. Имамходжаева, Ш.Б. Кадырова, А. Мамаджанов</i>	
СЕЛЕКТИВНЫЙ МАРКЕРНЫЙ ГЕН В БИОТЕХНОЛОГИИ .....	89
<i>Кадирова Ш.Б., Имамходжаева А.С.</i>	
ПОРЛОҚ ҒҮЗА НАВЛАРИНИНГ СЕЛЕКТИВ МАРКЕР ГЕНИСИЗ (СМГ) ГЕНОТИПЛАРИНИ АНИҚЛАШ .....	90
<i>Кадырова Ш.Б., Маматраимова Г, Имамходжаева А.С.</i>	
ГЕН НЕОМИЦИНФОСФОТРАНСФЕРАЗЫ II И ГЕН-НОКАУТНЫЙ ХЛОПЧАТНИК .....	91