

UO‘T: 631.523.5/ 633.111.1

BAHORGI YUMSHOQ BUG‘DOYDA DOUBLED HAPLOIDLAR OLISH USULLARI: ZAMONAVIY YONDASHUVLAR VA ISTIQBOLLAR

Eshmuradova Aqida Avlaqulovna, tayanch doktorant,
<https://orcid.org/0009-0000-0431-7521>

Seitnazarova Tillaxan Yelmuratovna

Sitogenetika va seleksiya laboratoriyasi mudiri, q.x.f.f.d., k.i.x.

<https://orcid.org/0009-0001-1005-0250>

O‘simliklar genetik resurslari ilmiy-tadqiqot instituti.

Annotatsiya. Maqolada Doubled haploid (DH) texnologiyasining qishloq-xo‘jaligi seleksiyasida, genetik tadqiqotlarda ahamiyati va qo‘llanish istiqbollari keltirilgan. Doubled haploid (DH) texnologiyasi seleksion-genetik tadqiqotlarda zamonaviy yondashuvlardan biri bo‘lib, qisqa vaqt ichida gomozigota holatdagi sof liniyalarini yaratish imkonini beradi. Doubled haploid navlar yaratilishida bir qator usullardan foydalaniladi, ushbu maqolada mazkur usullarning afzallaklari va cheklovchi omillari tahlil qilingan.

Kalit so‘zlar: bahorgi yumshoq bug‘doy, Doubled-Haploid, gomozigota, mikrosporogenez, in-vitro, gaploid shakllar, xromosoma.

Аннотация. В статье представлены значение и перспективы применения технологии двойных гаплоидов (ДГ) в сельскохозяйственной селекции и генетических исследованиях. Технология двойных гаплоидов (ДГ) - один из современных подходов в селекции и генетических исследованиях, позволяющий в короткие сроки создавать чистые линии в гомозиготном состоянии. Для создания сортов с двойными гаплоидами используются ряд методов; в данной статье проанализированы преимущества и ограничивающие факторы этих методов.

Ключевые слова: мягкая яровая пшеница, двойной гаплоид, гомозигота, микроспорогенез, in vitro, гаплоидные формы, хромосома.

Abstract. The article presents the significance and prospects of applying Doubled haploid (DH) technology in agricultural breeding and genetic research. Doubled haploid (DH) technology is one of the modern approaches in breeding and genetic studies that makes it possible to rapidly produce pure lines in a homozygous state. A number of methods are used for the development of double haploid varieties; this article analyzes the advantages and limiting factors of these methods.

Keywords: soft spring wheat, doubled haploid, homozygote, microsporogenesis, in vitro, haploid forms, chromosome.

Kirish. Dunyo aholisi sonining o‘shib borishi, oziq-ovqat mahsulotlari bilan taminlashdek dolzarb muammoni yuzaga keltirmoqda. Yumshoq bug‘doy (*Triticum aestivum* L.) dunyo bo‘yicha strategik ahamiyatga ega bo‘lgan ekinlaridan biri hisoblanib, oziq-ovqat havfsizligini taminlashda muhim o‘rinni egallaydi. Dunyoda bug‘doy ekiladigan maydonlar taxminan 220 mln gektarni tashkil etadi, bu donli ekinlar egallagan maydonning 31% iga to‘g‘ri keladi. 2024 yilda (FAO ma‘lumotlariga ko‘ra) dunyo bo‘ylab taxminan 757 mln tonna bahorgi bug‘doy yetishtirilgan. O‘zbekistonda bug‘doy yetishtirish qishloq xo‘jaligining ustuvor yo‘nalishlaridan biri hisoblanib, Toshkent, Farg‘ona, Jizzax, Buxoro va boshqa viloyatlarida keng maydonlarda yetishtiriladi.

Doubled haploid (DH) texnologiyasi bo‘yicha ilmiy tadqiqotlar XX asrning boshlarida boshlangan bo‘lib, ushbu davrda gaploid o‘simliklar asosan tabiiy sharoitda kuzatilgan (Blakeslee A.F., Belling J. 1924). 1950-yillarga kelib gaploid o‘simliklarni laboratoriya sharoitida olinib boshlagan. In vitro usullaridan foydalangan holda eksperimental gaploidlarni olishda yuqori natijalarga erishilgan (Maheshwari S.C. et al. 1980). 1960 - 1970 yillarda changchi va mikrospora kulturasi asosida gaploid hamda Doubled haploid o‘simliklar olish texnologiyalari sezilarli darajada takomillashtirilgan (Maheshwari S.C. et al. 1980). 1970 - 1980 yillardan boshlab esa DH texnologiyasi seleksiya tadqiqotlariga joriy etilib, genetik jihatdan bir xil (gomozigot) liniyalarini qisqa muddatda yaratila boshlagan (Kasha K.J., Kao K.N. 1970). 1990 - yillardan boshlab DH texnologiyasi molekulyar genetika va biotexnologiya usullari bilan integratsiyalashib, irsiy belgilarni

aniqlashda muhim ahamiyat kasb eta boshlagan (Wedzony M. et al. 2009). 2010 - yillardan boshlab esa ushbu texnologiya CRISPR/Cas texnologiyalari bilan uyg‘unlashgan holda qo‘llanila boshlagan (Ravi M., Chan S.W.L. 2010). Hozirgi kunda Doubled Haploid texnologiyasi seleksion - genetik tadqiqotlarda eng samarali va istiqbolli usullardan biri sifatida keng qo‘llanilmoqda (Forster B.P., Thomas W.T.B. 2005).

Doubled Haploid texnologiyasi dastlab gaploid shakllar olish va keyingi bosqichda gaploidlarning xromosoma to‘plamini ikki baravarga oshirish natijasida qo‘sh gaploidlarning yaratilishiga asoslangan bo‘lib, yaratilgan liniyalar 100% gomozigota holatdagi sof liniyalar hisoblanadi (Forster et al., 2007; Dunwell, 2010).

Materiallar va uslublar. Gaploid o‘simliklar - gametik (n) xromosoma to‘plamiga ega bo‘lgan regenerantlar bo‘lib, ularni olish seleksiya, genetika va molekulyar biologiyada muhim o‘rin tutadi (Germana, 2011). Gaploid o‘simliklarni olishda asosan qo‘yidagi usullar qo‘llaniladi:

1. Androgenez (erkak gametofit xujayralarda) - changchi yoki mikrospora kulturasi. Bunda mikrosporalar changchilar sifatida emas balki, embrion sifatida rivojlana boshlaydi. Asosan bug‘doy, arpa, sholi, tamaki va raps ekin turlarida keng qo‘llaniladi.

2. Ginogenez (urg‘ochi gametofitidan) - gaploid o‘simliklar urug‘lanmagan tuxum hujayralaridan olinadi. Asosan androgenez samarali bo‘lmagan ekin turlarida (piyoz, qand lavlagisi) qo‘llaniladi. Partenogenezdan farqi tuxum hujayra rivojlanishi uchun changchilar stimulyator sifatida qo‘llaniladi, lekin genetik material qo‘shilmaydi.

3. Xromosoma eliminatsiyasi - turlararo duragaylarda kuzatiladi. Chatishtirishlar o‘tkazilgandan keyin ota - ona shakllaridan birining (odatda otalik shakli) xromosomasi yo‘qolish (bug‘doy va makkajo‘xori duragaylarida makkajo‘xori xromosomalarning yo‘qolishi) hisobidan gaploid o‘simliklar olinadi.

4. Partenogenez - urug‘lanmagan tuxum hujayrasidan embrion hosil bo‘lishi (tabiiy va sun‘iy). Tamaki, piyoz, qalampir, karam o‘simliklarida qo‘llaniladi.

Changchi (anther) kulturasi asosida gaploid shakllar va ulardan qo‘sh gaploidlar (*DH*) olish eng samarali va keng qo‘llaniladigan usul hisoblanadi. Mazkur usulda mikrosporalar ma‘lum ontogenetik bosqichda ajratib olinadi va sterillangan sharoitda oziqlantiruvchi muhitga ko‘chiriladi. Changchi kulturasi usulida asosiy regenerativ manba sifatida mikrosporalar xizmat qiladi. Stress omillar ta‘sirida mikrospora o‘zining normal gametofitik rivojlanish yo‘nalishidan chetlanib, sporofitik (embriogen) rivojlanish yo‘liga o‘tadi (Touraev et al., 2001). Natijada embriogen kalluslar yoki bevosita gaploid embrionlar hosil bo‘ladi.

Natijalar va munozara. Changchi kulturasi asosida qo‘sh gaploidlarning olinishi quyidagi bosqichlardan iborat: donor o‘simlikni tanlash -gaploid olish samaradorligi, avvalo, donor o‘simlikning fiziologik holatiga bog‘liq (Dunwell, 2010; Germana, 2011); changchi yoki mikrosporalarni ajratib olish - boshloqlardan to‘liq yetilmagan changchilar ehtiyotkorlik bilan yuqori sterillik holatlarida ajratib olinadi. Bu bosqichda mikrosporalarni mexanik shikastlanishining oldini olish muhim ahamiyatga ega (Datta, 2005; Maluszynski et al., 2003); sterilizatsiya qilish - mikrosporalar tashqi kontaminatsiyadan himoya qilish maqsadida etanol (70%) bilan sterilizatsiya qilinadi (George et al., 2008). ozuqa muhitiga ko‘chirish - sterilizatsiya qilingan mikrosporalar *in vitro* sharoitida oziqa muhitlariga ko‘chiriladi. Ozuqa muhiti tarkibi mikro va makrotuzlardan vitaminlar hamda fitogormonlardan iborat (Murashige, Skoog, 1962; Chu et al., 1975); stress induksiyasi - mikrosporalarni gametofit yo‘nalishidan sporofit (embriogen) yo‘nalishga o‘tkazish uchun stress omillari qo‘llaniladi. Eng keng tarqalgan usullar - past harorat (4 - 10 °C) e‘ki yuqori harorat (32 - 35 °C) hisoblanadi (Touraev et al., 1997; Shariatpanahi et al., 2006); mikrospordan embrioid hosil bo‘lishi - stress ta‘sirida mikrospora normal chang donasiga aylanish o‘rniga embrioid yoki kallus hosil qiladi (Raghavan, 2004; Germana, 2011); kallus hosil bo‘lishi va regeneratsiya - hosil bo‘lgan embrioidlar yoki kalluslar regeneratsiya muhitiga ko‘chiriladi. Bu muhitda novda va ildiz hosil bo‘lib, to‘liq o‘simlik shakllanadi va gaploid o‘simliklar olinadi (Forster et al., 2007); xromosomalarni ikki baravar oshirish (kolxitsin yordamida) - olingan gaploidlar kolxitsin yoki boshqa antimetotik moddalar ta‘sir ettiriladi va xromosoma to‘plami ikki barabarga oshirilib, *Doubled haploid (DH)* yani, to‘liq gomozigota holatdagi sof liniyalar yaratiladi (Maluszynski et al., 2003; Castillo, Cistue, 2022); morfobiologik belgilari bo‘yicha baholash - xromosomalarni ikki baravar oshirilgan o‘simliklar issiqxona yoki ochiq dala sharoitiga ko‘chiriladi va morfologik belgilari hamda ploid darajasi bo‘yicha baholanadi (Forster et al., 2007; Dunwell, 2010).

Bugungi kunda zamonaviy genom injeneriyasi yutuqlari gaploid induksiyasining yangi imkoniyatlarini ochib berdi. Jumladan, *CRISPR/Cas* texnologiyasi yordamida *CENH3* genining tahrirlanishi urug‘lanishdan so‘ng zigotada ota genomining parchalanishi yoki to‘liq yo‘qolishiga sabab bo‘ladi (Castillo, Cistue, 2022).

Gaploid induktor liniyalar (*HIL*) o‘simliklarda tabiiy sharoitda gaploid avlodlarni olish imkonini beruvchi samarali genetik usullardan biri hisoblanadi. Xususan, makkajo‘xorida yaratilgan Stock 6 gaploid induktori yordamida dalada changlanish jarayonida gaploid o‘simliklar yuqori chastotada hosil qilinishi mumkin (Dunwell, 2010). Ushbu induktor liniyalar ota genomining embrion

rivojlanishining dastlabki bosqichlarida yo‘qolishiga olib keladi. Bug‘doyda esa *CENH3* genida mutatsiyaga ega induktor liniyalar qo‘llanilib, urug‘lanishdan so‘ng ota genomining selektiv ravishda eliminatsiyalanishi kuzatiladi (Castillo, Cistue, 2022). Natijada faqat ona genomiga ega gaploid embrionlar shakllanadi. Genetik induksiya va gen tahriri asosidagi gaploid induksiyasi yuqori aniqligi, keng qo‘llanish imkoniyati hamda seleksiya samaradorligini oshirishi bilan zamonaviy seleksiya va genetikaning eng istiqbolli yo‘nalishlaridan biri sifatida qo‘llanilmoqda (Dunwell, 2010; Maluszynski et al., 2003).

Xulosa qilib aytganda, gaploid va qo‘sh gaploid (*DH - doubled haploid*) texnologiyalaridan foydalanish seleksiya jarayonini sezilarli darajada jadallashtiradi hamda yangi navlar yaratish uchun zarur bo‘lgan muddatni an‘anaviy usullarga nisbatan 4 - 6 yilgacha qisqartirish imkonini beradi.

Qo‘sh gaploidlar olinishida bir qator usullardan foydalanilib, donli ekinlira jumladan, bahorgi yumshoq bug‘doyda changchi kulturasi eng samarali hisoblanadi. *Doubled haploid* liniyalarini olishi donor o‘simlikning genotipi va fiziologik holati, ozuqa muhitining tarkibi, stress induksiyasi rejimi hamda genotipning digaploidizatsiyaga moyilligi kabi bir qator omillarga bog‘liq bo‘ladi.

ADABIYOTLAR

1. Blakeslee A.F., Belling J. Chromosomal mutations in *Datura stramonium* // Journal of Heredity. – 1924. – Vol. 15, № 5. – P. 195–206.
2. Castillo A.M., Cistué L. Doubled haploid production in cereals: Recent advances and future prospects // Plants. - 2022. - Vol. 11, № 3. - P. 1-21.
3. Chu C.C., Wang C.C., Sun C.S., Hsu C., Yin K.C., Chu C.Y., Bi F.Y. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice // Scientia Sinica. - 1975. - Vol. 18. - P. 659-668.
4. Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: Origins and exploitation // Plant Biotechnology Journal. - 2010. - Vol. 8, № 4. - P. 377-424.
5. Food and Agriculture Organization (FAO). FAOSTAT Statistical Database. - Rome: FAO, 2024. - URL: <https://www.fao.org/faostat>
6. Forster B.P., Heberle-Bors E., Kasha K.J., Touraev A. The resurgence of haploids in higher plants // Trends in Plant Science. - 2007. - Vol. 12, № 8. - P. 368-375.
7. Forster B.P., Thomas W.T.B. Doubled haploids in genetics and plant breeding // Plant Breeding Reviews. - 2005. - Vol. 25. - P. 57-88.
8. Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. - 2011. - Vol. 104, № 3. - P. 283-300.
9. Kasha K.J., Kao K.N. High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.) by anther culture // Nature. - 1970. - Vol. 225. - P. 874-876.
10. Laurie D.A., Reymondie S. High frequencies of fertilization and haploid seedling production in crosses between wheat and maize // Plant Breeding. - 1991. - Vol. 106, № 3. - P. 182-189.
11. Maheshwari S.C., Rashid A., Tyagi A.K. Haploids from pollen grains-Retrospect and prospect // American Journal of Botany. – 1980. – Vol. 67, № 1. - P. 1-17.
12. Maluszynski M., Kasha K.J., Forster B.P., Szarejko I. Doubled haploid production in crop plants: A manual. - Dordrecht: Springer, 2003. - 428 p.
13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. - 1962. - Vol. 15, № 3. - P. 473-497.