



Создание новой серии анеуплоидных линий у хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) с идентификацией отдельных хромосом с помощью транслокационных и SSR-маркеров

М.Ф. Санамьян¹✉, Ш.У. Бобохужаев¹, А.Х. Макамов², С.Г. Ачилов², И.Ю. Абдурахмонов²

¹ Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, Ташкент, Узбекистан

² Центр геномики и биоинформатики Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Использование моносомных линий значительно увеличивает эффективность молекулярно-генетического анализа и получения высококачественных селекционных линий с замещением определенных хромосом. В связи с этим было важно создать полный набор анеуплоидных линий для каждой хромосомы хлопчатника. Достижению этой цели способствовало получение новых моносомных линий хлопчатника узбекской коллекции с использованием хромосом-специфичных маркеров (SSR) и транслокационных линий для идентификации хромосом. В статье обобщены данные многолетних исследований, посвященных созданию моносомных линий, включая происхождение 95 первичных моносомиков хлопчатника, их цитогенетические и морфологические особенности, а также идентификацию унивалентных хромосом с помощью транслокационного теста и SSR-маркеров. Линии идентифицированы по хромосомам 2, 4, 6 A_t-субгенома и хромосомам 18, 22 D_t-субгенома, а также выявлен телоцентрик для 11 хромосомы A_t-субгенома хлопчатника. Остальные 22 моносомные линии были идентифицированы как дубликаты трех хромосом (2, 4, 6). Созданный материал будет полезен для молекулярно-генетического картирования, создания линий с замещением хромосом и для селекции хлопчатника.

Ключевые слова: хлопчатник (*Gossypium hirsutum* L.); моносомные линии; микроспорогенез; SSR-маркеры.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Макамов А.Х., Ачилов С.Г., Абдурахмонов И.Ю. Создание новой серии анеуплоидных линий у хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) с идентификацией отдельных хромосом с помощью транслокационных и SSR-маркеров. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):643-652. DOI 10.18699/VJ16.186

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Sanamyan M.F., Bobokhujayev Sh.U., Makamov A.X., Achilov S.G., Abdurakhmonov I.Y. The creation of new aneuploid lines of the cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with identification of chromosomes by translocation and SSR-markers. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(5):643-652. DOI 10.18699/VJ16.186

УДК 633.511:576.316.3+578.52
Поступила в редакцию 05.07.2016 г.
Принята к публикации 29.09.2016 г.
© АВТОРЫ, 2016

✉ e-mail: sanam_marina@rambler.ru

The creation of new aneuploid lines of the cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with identification of chromosomes by translocation and SSR-markers

M.F. Sanamyan¹✉, Sh.U. Bobokhujayev¹,
A.X. Makamov², S.G. Achilov², I.Y. Abdurakhmonov²

¹ National University of Uzbekistan named M. Ulugbek,
Tashkent, Uzbekistan

² Center of Genomics and Bioinformatics UAS, Tashkent,
Uzbekistan

The use of monosomic lines significantly increases the effectiveness of molecular-genetic analysis and the development of superior quality breeding lines via substitutions by alien chromosomes. A complete set of aneuploid series for each cotton chromosome was required. Simple sequence repeats (SSR) have been applied as useful markers for understanding cotton genetics. Several DNA markers have already been assigned to the individual chromosomes of *Gossypium hirsutum*. The primary objective of this paper is to report the creation of new monosomic lines and the use of chromosome specific simple sequence repeat (SSR) markers and translocation lines for chromosome identification to confirm chromosome specificity of monosomic lines in the Uzbek collection. Here, we summarize data on the development of a monosomic stock collection of cotton (*G. hirsutum* L.) from Uzbekistan, including the origin of 95 primary monosomics, their cytogenetic characteristics, morphological features and their identification by translocation tests and chromosome SSR-markers. Our results indicated several different monosomic lines identified by chromosomes 2, 4, 6 and telosome 11 of the A_t subgenome and chromosomes 18 and 22 of the D_t subgenome, 22 monosomes were identified as duplicates of three monosomes (chromosomes 2, 4 and 6). Chromosome 4 of the A_t subgenome was recovered more frequently (18 times) than chromosome 2 of the A_t subgenome (4 times) and chromosome 6 of the A_t subgenome (3 times) during pollen irradiation at different doses and in the progeny of the desynaptic plants. These lines will be useful for molecular mapping and enhancement of Upland cotton.

Key words: cotton (*Gossypium hirsutum* L.); monosomic lines; microsporogenesis; SSR-markers; identification of chromosomes.

Культивируемый хлопчатник *Gossypium hirsutum* L. ($2n = 52$) является аллотетраплоидом и включает два субгенома (A_1 и D_1), поэтому он толерантен к потере отдельных хромосом или их плечей. На протяжении длительного времени в США проводились исследования по выявлению моносомиков хлопчатника среди сортовых, гибридных и облученных популяций, а также среди цитогенетических линий (Brown, Endrizzi, 1964; Endrizzi, Brown, 1964; Galen, Endrizzi, 1968; Endrizzi, Ramsay, 1979). До 1985 г. были выделены и идентифицированы моносомики по 15 из 26 негомологичных хромосом *G. hirsutum*.

Процесс создания моносомных линий растянулся на долгие годы из-за невозможности использовать гаплоиды в качестве источников новых моносомиков, как это сделано у пшеницы (Sears, 1954), и вследствие высокой стерильности гаплоидов (Endrizzi, 1966), а также появления в потомстве гаплоидов нормальных дисомных растений (Санамьян, 2010). Поэтому созданная в США цитогенетическая коллекция хлопчатника характеризуется моносомией не по всем хромосомам генома *G. hirsutum* – отсутствуют моносомики и телоцентрики по пяти негомологичным хромосомам (хромосома 13 A_1 -субгенома и хромосомы 20, 21, 23 и 24 D_1 -субгенома) (Saha et al., 2015). Тем не менее существующие анеуплоидные линии хлопчатника широко использовались для хромосомной локализации маркерных генов (White, Endrizzi, 1965; Stelly, 1990; Endrizzi, Ray, 1991, 1992; Samora et al., 1994; Kakani et al., 1999; Kohel et al., 2002) и биохимических локусов (Saha, Stelly, 1994). В последнее время в США проводятся исследования по созданию серии замещенных линий хлопчатника с целью переноса генетического материала от других тетраплоидных видов в геном *G. hirsutum* посредством контролируемой межвидовой интрогрессии (Saha et al., 2004, 2006, 2013). Кроме того, использование гипоанеуплоидных гибридов F_1 , полученных от скрещивания анеуплоидов вида *G. hirsutum* с линией Pima 3-79 вида *G. barbadense* L. в молекулярно-генетических анализах, позволило начать хромосомную локализацию молекулярных микросателлитных маркеров (Liu et al., 2000).

Как известно, в Национальном университете Узбекистана (НУУз) в течение многих лет под руководством академика Д.А. Мусаева (1979) проводились исследования по созданию генетической коллекции хлопчатника *G. hirsutum*. Необходимость использования цитогенетически маркированных линий хлопчатника в генетическом анализе и недоступность на то время линий американской цитогенетической коллекции способствовали началу работ по получению растений хлопчатника с различными хромосомными абберациями в результате воздействия нескольких типов облучения (Санамьян, Мусаев, 1990). В итоге была создана уникальная цитогенетическая коллекция, которая по числу линий занимает второе место в мире после аналогичной американской коллекции (Sanamyan et al., 2014).

В статье представлены данные о создании моносомных линий цитогенетической коллекции хлопчатника НУУз с унифицированной идентификацией унивалентов с помощью транслокационного теста и молекулярных маркеров.

Происхождение первичных моносомиков хлопчатника *G. hirsutum*

Вся коллекция первичных моносомиков хлопчатника НУУз создавалась в единой генотипической среде на основе высокоинбредной линии Л-458 сорта 108-Ф, полученной М.Ф. Абзаловым и Г.А. Фатхуллаевой. При этом использовались разные методы облучения семян и пыльцы, а также изучалось потомство растений с транслокациями и десинапсисом.

Большая часть коллекции моносомиков была получена в результате воздействия двух видов радиации: облучение семян тепловыми нейтронами и облучение пыльцы гамма-лучами, причем между ними наблюдались значительные различия по числу растений с отсутствием отдельных хромосом (табл. 1). Так, в результате облучения семян тепловыми нейтронами в дозах 15, 25, 27 и 35 Гр было получено 11 первичных моносомиков из 335 растений непосредственно в M_1 , M_2 и M_3 поколениях, причем четыре моносомика являлись одновременно гетерозиготами по транслокациям (Санамьян, 2003а; Рахматуллина, Санамьян, 2007а, б).

Большинство первичных моносомиков хлопчатника (34) было получено в M_1 поколении в результате опыления пыльцой, облученной гамма-лучами в дозах 10, 15, 20 и 25 Гр, из которых 7 моносомиков характеризовались одновременным присутствием транслокаций (Санамьян, 2003б). В последующих поколениях происходило снижение числа моносомиков (24 и 9 соответственно), так же как и моносомиков с транслокациями (1) (Санамьян, 2003в). В целом в результате использования двух видов радиации, а также анализа трех поколений после облучения было получено 78 первичных моносомиков, из которых 12 имели одновременно транслокации, вовлекшие негомологичные хромосомы (Sanamyan et al., 2000, 2011).

Кроме того, для получения анеуплоидов мы использовали десинаптические формы, являющиеся ценным источником моносомии у других видов растений. Так, шесть исходных растений с десинаптическим эффектом были получены в результате опыления облученной пыльцой, а одно (356/8) – в результате облучения семян тепловыми нейтронами (Sanamyan et al., 2011). Все десинаптики различались между собой по числу неспаренных хромосом (от 2 до 28 унивалентов). Нарушения в расхождении хромосом приводили к случайному распределению унивалентов между полюсами и формированию значительного числа тетрад с микроядрами (до $13,42 \pm 0,87\%$), а также к снижению мейотического индекса (до $75,07 \pm 1,11$). Фертильность пыльцы у десинаптиков различалась существенно, вплоть до полустерильности ($61,35 \pm 2,43\%$). В целом в потомстве шести десинаптических генотипов и одного растения с неустановленным кариотипом, ранее обнаруженного в потомстве десинаптика, было выделено 16 первичных моносомиков (Sanamyan et al., 2011).

В потомствах двух растений M_2 , гетерозиготных по транслокациям, были выделены два первичных моносомика (Мо30 и Мо67). Поскольку исходные растения M_1 характеризовались небольшим десинапсисом и высокой частотой формирования квадριвалентов, точное определение идентичности унивалента и хромосом, вовлеченных в транслокацию, станет возможным лишь после

Таблица 1. Происхождение первичных моносомиков хлопчатника *G. hirsutum*

Обработка	Доза облучения, Гр	Число первичных моносомиков			Моносомные линии
		M ₁	M ₂	M ₃	
Облучение семян тепловыми нейтронами	15	3	1	0	Мо58, Мо59, Мо60, Мо74
	25	0	1	0	
	27	0	1	2	Мо1
	35	1	2	0	Мо56, Мо62
Всего		4	5	2	7
Облучение пыльцы гамма-лучами	10	5	4	3	Мо10, Мо39, Мо40, Мо41, Мо50, Мо81, Мо82
	15	4	9	1	Мо3, Мо21, Мо31, Мо53, Мо78
	20	11	8	5	Мо4, Мо7, Мо11, Мо22, Мо27, Мо28, Мо34, Мо35, Мо36, Мо66, Мо75, Мо90, Мо94
	25	14	3	0	Мо9, Мо13, Мо15, Мо16, Мо17, Мо19, Мо38, Мо46, Мо48, Мо76, Мо77
Всего		34	24	9	36

их идентификации. У мягкой пшеницы в потомстве растения с транслокацией также был получен моносомик, но унивалент и транслоцированная хромосома были негомологичными хромосомами генома (Sears, 1954).

Цитогенетические особенности растений хлопчатника с отсутствием отдельных хромосом

Как известно, культивируемый аллотетраплоидный хлопчатник *G. hirsutum* ($2n = 52$) толерантен к потере отдельных хромосом. Модальной конъюгацией первичных моносомиков тетраплоидного хлопчатника в метафазе I мейоза являются 25 бивалентов и один унивалент. Анализ метафазы I 95 первичных моносомиков нашей цитогенетической коллекции обнаружил модальную конъюгацию только у 40 первичных моносомиков, тогда как у 32 наблюдалось формирование дополнительных унивалентов. Однако присутствие унивалентов и нарушения в их расхождении привели к небольшому снижению мейотического индекса (до $89,00 \pm 0,86$) лишь у одного моносомика, хотя по наличию микроядер в тетрадах некоторые из них сильно отличались от растений контроля.

У семи моносомиков (Мо6, Мо7, Мо19, Мо30, Мо56, Мо61, Мо62) помимо унивалентов и бивалентов формировались редкие триваленты, которые свидетельствовали о конъюгации унивалента с двумя гомеологами. Другие 12 моносомиков характеризовались присутствием квадривалентов в материнских клетках пыльцы (МКП), что указывало на их гетерозиготность по межхромосомным обменам.

При анализе унивалентных хромосом у 44 моносомиков коллекции обнаружены средние по величине униваленты, тогда как 23 моносомика имели крупные униваленты. Число моносомиков с мелкими унивалентами было немногим больше (27), причем среди них выделено шесть моносомиков с очень мелкими унивалентами.

Исследования по субгеномной приписке моносом в США установили A_h-субгеномную принадлежность унивалентов, ранее классифицированных как хромосомы

среднего размера, а также выявили значительное отклонение от отношения 1 : 1, ожидаемого на случайной основе, числа унивалентов субгенома A_h к числу унивалентов субгенома D_h (5 : 1) (Edwards et al., 1980a). Дополнительные исследования внесли уточнения в это соотношение, где из 95 идентифицированных унивалентных хромосом 79 имели A_h-субгеномную и только 16 – D_h-субгеномную принадлежность (4 : 1) (Edwards et al., 1980b). Это позволило считать, что преимущественная потеря хромосом, принадлежащих к A_h-субгеному, обусловлена существованием генетической системы регуляции расхождения хромосом, а не их размером (Myles, Endrizzi, 1989).

Анализ микроспор выявил высокий мейотический индекс у большинства моносомиков хлопчатника, что говорит о регулярном расхождении унивалентов. Небольшое снижение мейотического индекса наблюдалось лишь у 12 моносомиков нашей коллекции. Два моносомика (Мо4 и Мо74) характеризовались большим снижением мейотического индекса (до $68,32 \pm 1,10$ и $76,07 \pm 0,93$ % соответственно) и увеличением доли тетрад с микроядрами (до $6,87 \pm 0,60$ и $21,56 \pm 0,89$ % соответственно).

При изучении фертильности пыльцы после окраски ацетокармином обнаружена высокая фертильность только у 30 первичных моносомиков хлопчатника, тогда как у остальных этот показатель был снижен (до 5 %). У восьми моносомиков (Мо5, Мо7, Мо10, Мо44, Мо45, Мо47, Мо57, Мо74) пыльца отличалась стерильностью, в том числе у двух из них (Мо5 и Мо44) семян вообще не завязалось, что свидетельствует о их полной стерильности.

Воспроизводство моносомного состояния у растений хлопчатника с отсутствием отдельных хромосом

Воспроизводство моносомного состояния изучалось в само- и перекрестноопыленных потомствах в условиях поля и теплицы. В условиях поля короткий летний период не позволил изучить большую часть растений и установить точную частоту воспроизводства, хотя моносомики и были воспроизведены в 18 семьях исходных

первичных моносомиков. Воспроизводство моносомного состояния в условиях теплицы выявило большие различия по этому признаку между разными моносомиками – от высокой частоты (44,44 % у Мо16 и Мо84) до очень низкой (1,79 % у Мо34). Самые высокие частоты воспроизводства наблюдались у 12 моносомиков (Мо16, Мо31, Мо58, Мо59, Мо62, Мо66, Мо71, Мо72, Мо77, Мо82, Мо84, Мо90), что указывало на высокую частоту передачи гамет с отсутствием хромосомы. Другие 12 моносомиков (Мо3, Мо4, Мо9, Мо15, Мо34, Мо35, Мо40, Мо41, Мо56, Мо61, Мо67, Мо85) имели наименьшую частоту воспроизводства (от 1,79 % у Мо34 до 9,38 % у Мо67) вследствие редкой передачи $n-1$ гамет и требовали больших популяций для их обнаружения. У 29 первичных моносомиков частота воспроизведения была средней (от 14,29 % у Мо10 и Мо74 до 29,41 % у Мо11). Значительные различия в частоте передачи моносомного состояния в потомстве объяснялись разной жизнеспособностью гамет с отсутствием хромосомы, вовлекших специфические хромосомы. Помимо моносомиков, в потомствах девяти моносомных растений (Мо2, Мо6, Мо19, Мо21, Мо22, Мо34, Мо49, Мо61, Мо68) регистрировались растения с телоцентриками и с изохромосомой, что свидетельствует о нестабильности унивалента у исходных моносомиков. Известно, что унивалентные хромосомы у трех моносомиков хлопчатника (Мо12, Мо22 и Мо25) американской коллекции значительно чаще остальных хромосом претерпевали *misdivision* (неправильные поперечные деления унивалентов в районе центромеры), что указывало на их нестабильность (Endrizzi, Ramsay, 1980; Endrizzi et al., 1985). Показано также, что хромосома 5А чаще претерпевала поперечное деление в генотипической среде сорта Чайниз Спринг (39,7 %), поскольку генотип Чайниз Спринг был наиболее благоприятен для высокой степени *misdivision*, причем свыше половины их приводило к образованию изохромосом (Sears, 1952).

Некоторые особенности моносомных линий хлопчатника

Цитогенетический анализ мейоза у моносомных линий, полученных в потомстве исходных моносомиков, обнаружил модальную конъюгацию хромосом у 30 моносомных линий, тогда как остальные 20 линий характеризовались присутствием в МКП дополнительных унивалентов. Кроме того, линия Мо4 отличалась присутствием редких тривалентов ($0,12 \pm 0,06$ в среднем на клетку), что было следствием конъюгации унивалентной хромосомы с гомеологичными хромосомами. При изучении моносомных линий на стадии тетрад выявлен высокий мейотический индекс у большинства из них, за исключением линии Мо19, характеризующейся небольшим снижением мейотического индекса и увеличением числа тетрад с микроядрами (до $3,00 \pm 0,20$ %), а также линии Мо84 с варьированием как мейотического индекса в различных бутонах (от $49,90 \pm 1,12$ до $95,48 \pm 0,27$ %), так и тетрад с микроядрами (от $12,44 \pm 0,74$ до $0,53 \pm 0,10$ %). Анализ фертильности пыльцы у моносомных линий показал высокую фертильность у большинства из них, за исключением четырех линий (Мо27, Мо53, Мо56, Мо67) с небольшим снижением фертильности (до $87,71 \pm 0,99$ %) и линии

Мо10 со значительным снижением фертильности пыльцы (до $19,35 \pm 2,37$ %), что говорит о частичной стерильности пыльцы с анеуплоидией.

Моносомия оказала специфическое действие на морфологические признаки: большинство моносомных линий характеризовалось тонкостью стебля, слабой облиственностью, мелким размером листьев и цветков, укороченностью междоузлий, деформированностью и небольшим размером коробочек (рис. 1). Вместе с тем четыре моносомные линии (Мо35, Мо36, Мо40, Мо50) практически не отличались от дисомных сибсов. Кроме того, у двух линий (Мо7 и Мо56) отмечалось искривление плодовых ветвей, а у трех (Мо75, Мо76 и Мо82) – удлинение междоузлий. Четыре моносомные линии (Мо4, Мо10, Мо46, Мо67) характеризовались слабой бутонизацией и цветением, тогда как три линии (Мо22, Мо39, Мо56) выделялись обильной бутонизацией и цветением, но низкой завязываемостью семян и коробочек. Многие моносомные линии имели мелкие размеры цветков и прицветников, однако шесть линий (Мо4, Мо10, Мо16, Мо34, Мо46, Мо48) выделялись значительной редукцией размеров цветка, а четыре линии (Мо17, Мо19, Мо28, Мо62) – укороченностью рыльца. Самые заметные изменения произошли с размером и формой коробочек, которые изначально имели более мелкие размеры и преимущественно шаровидную или удлиненную форму. Многие коробочки моносомиков характеризовались ребристостью или деформированностью за счет присутствия в большом количестве abortивных яйцеклеток в виде улукнов и невызревших семян (рис. 2).

Использование моносомных межвидовых гибридов и SSR-маркеров для идентификации унивалентных хромосом

В последние годы получили развитие работы по идентификации хромосом с помощью молекулярных микросателлитных локусов (SSR-маркеров), которые ранее были картированы на хромосомах генома хлопчатника при помощи гипоанеуплоидных замещенных гибридов. Подобные молекулярно-генетические исследования проводятся и в Узбекистане. Они позволяют охарактеризовать специфические последовательности ДНК, ассоциированные с важнейшими хозяйственно ценными признаками хлопчатника (Abdurakhmonov et al., 2007). Современная коллекция SSR-маркеров, используемая для изучения генома хлопчатника, включает около 500 BNL SSR-маркеров (Национальная Брукхейвенская лаборатория, USA (Blenda et al., 2012)), 309 JESPR SSR-маркеров (Reddy et al., 1998), а также 418 CIR SSR-маркеров (Nguyen et al., 2004; Lacape et al., 2009). При этом в последнее время стали использоваться EST специфичные микросателлитные маркеры (Blenda et al., 2012), а также SSR-маркеры на основе бактериальных искусственных хромосом (BACs) (Yu et al., 2012).

С целью создания хромосом-замещенных линий хлопчатника были проведены скрещивания моносомных линий цитогенетической коллекции с линией Pima 3-79 (USA) вида *G. barbadense*, полученной в результате спонтанного удвоения хромосом у гаплоидного растения. Среди гибридной популяции F_1 при помощи цитогенетического анализа выделяли моносомные межвидовые гибридные



Рис. 1. Моносомные линии хлопчатника.

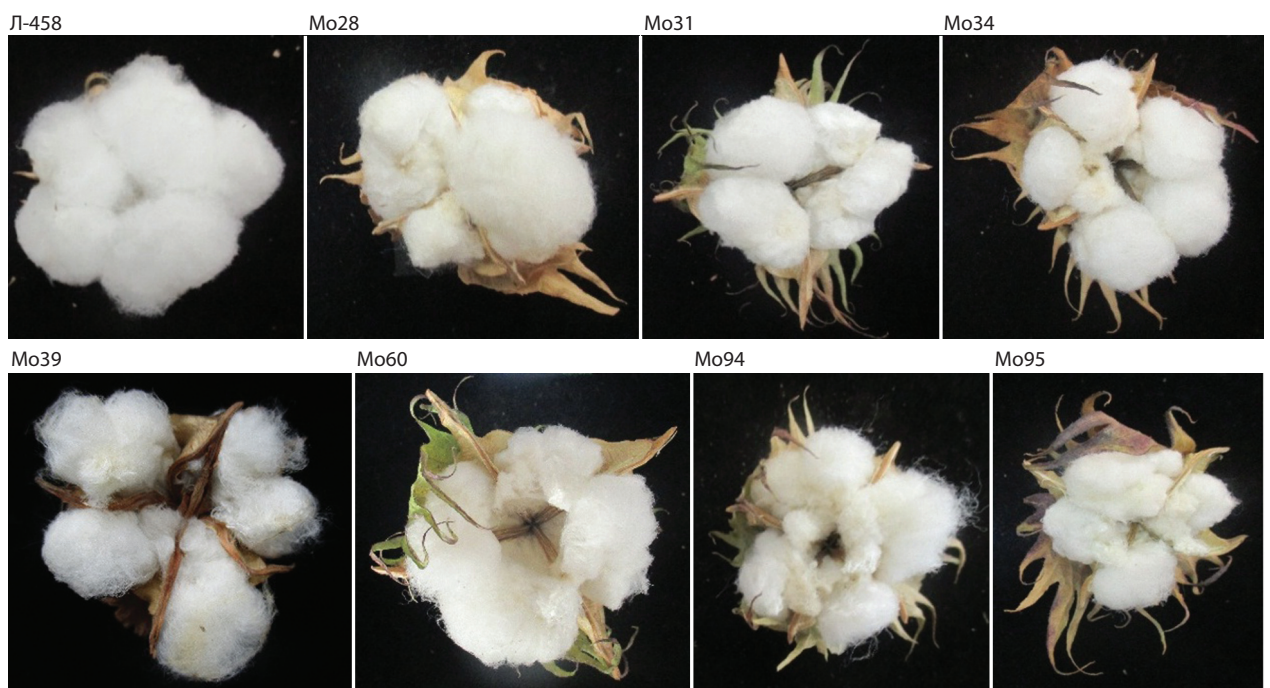


Рис. 2. Коробочки моносомных линий хлопчатника.

Таблица 2. Микросателлитные маркеры, использованные при анализе моносомных межвидовых гибридов хлопчатника

Хромосома	SSR-маркеры	Коллекция	Размер ПЦП-продуктов SSR-маркера, н. п. о.*		Литературный источник
			<i>G. hirsutum</i> (Л-458)	<i>G. barbadense</i> (Pima 3-79)	
2	BNL3590	BNL	173, 181	175, 179	Reddy et al., 1998
	GH-198	Gh	190	180	Hoffman et al., 2007
	BNL3971	BNL	144	119	Reddy et al., 1998
	BNL1897	BNL	145	136	»
	BNL1434	BNL	245	262	»
4	BNL2572	BNL	250	236	»
	CIR122	CIR	142	146	Nguyen et al., 2004
	CIR048	CIR	125, 134	132, 143	»
	CIR249	CIR	186	194	»
	GH-107	Gh	380	280	Hoffman et al., 2007
	Gh117	Gh	260	240	»
	BNL4047	BNL	157	163	Reddy et al., 1998
6	BNL2884	BNL	164	172	»
	BNL1064	BNL	141	152	»
	Gh032	Gh	90	80	Hoffman et al., 2007
	CIR203	CIR	164	172	Nguyen et al., 2004
	Gh082	Gh	90	80	Hoffman et al., 2007
	TMB0853	TMB	250	240	Yu et al., 2012
	TMB1277	TMB	245	255	»
11	BNL3442	BNL	115, 130	115, 145	Reddy et al., 1998
	Gh246	Gh	121	140, 145	Hoffman et al., 2007
18	BNL3280	BNL	230	210, 255, 265	Reddy et al., 1998
22	JESPR235	JESPR	142	112	Yu et al., 2012

* Н. п. о. – нуклеотидные пары оснований.

растения. Для хромосом-специфичной характеристики использовали микросателлитные маркеры хлопчатника, полученные из международной коллекции. Микросателлитные маркеры являлись специфичными к 26 негомолотичным хромосомам *G. hirsutum*, по четыре полиморфных маркера на каждую хромосому. Для молекулярного анализа моносомных гибридных растений F_1 использовались принципы молекулярного делеционного анализа (Liu et al., 2000). Поскольку ряд ДНК-маркеров ранее уже был картирован на соответствующих хромосомах хлопчатника вида *G. hirsutum*, мы использовали хромосом-специфичные SSR-маркеры для идентификации моносомных линий нашей коллекции. Выявление и генотипирование аллелей SSR-маркеров выполнялось способом, описанным ранее, где микросателлитные локусы амплифицировали стандартным ПЦП-методом. Для локализации SSR-локусов на хромосомах скринировались моносомные гибридные растения F_1 по аллели линии Л-458 с использованием полиморфных и/или неполоморфных пар праймеров. При локализации SSR-локусов в местах, отличных от сегмента с отсутствием хромосом, наблюдалось присутствие маркера линии Л-458 и гетерозиготный фенотип у гибридов. Если же SSR-локус находился в сегменте с отсутствием хромосомы у гибридных анеуплоидных

растений, то на электрофореграмме отсутствовала аллель линии Л-458, но наблюдалась донорская аллель от линии 3-79 вида *G. barbadense* вследствие гемизиготности.

В результате молекулярно-генетического анализа у четырех моносомных межвидовых гибридов F_1 (Мо11 × Pima 3-79, Мо16 × Pima 3-79, Мо19 × Pima 3-79, Мо93 × Pima 3-79) было обнаружено присутствие полиморфных аллелей только от вида *G. barbadense*, тогда как аллели линии Л-458 вида *G. hirsutum* отсутствовали, что указывало на локализацию хромосом-специфичных SSR-маркеров BNL3590 и GH-198 у гибрида F_1 Мо11 × Pima 3-79, маркеров BNL3590, BNL3971, GH-198 – у гибридов F_1 Мо16 × Pima 3-79 и Мо19 × Pima 3-79, а маркеров BNL1434, BNL1897 и BNL3971 – у гибрида F_1 Мо93 × Pima 3-79. Поскольку ранее перечисленные маркеры были локализованы на хромосоме 2 A_1 -субгенома хлопчатника, можно заключить, что четыре моносомные линии коллекции НУУз – Мо11, Мо16, Мо19 и Мо93 – являются дубликатами и имеют моносомию по хромосоме 2 A_1 -субгенома (табл. 2).

Анализ шести моносомных межвидовых гибридов F_1 (Мо70 × Pima 3-79, Мо71 × Pima 3-79, Мо76 × Pima 3-79, Мо81 × Pima 3-79, Мо89 × Pima 3-79, Мо90 × Pima 3-79) также выявил наличие только полиморфных аллелей

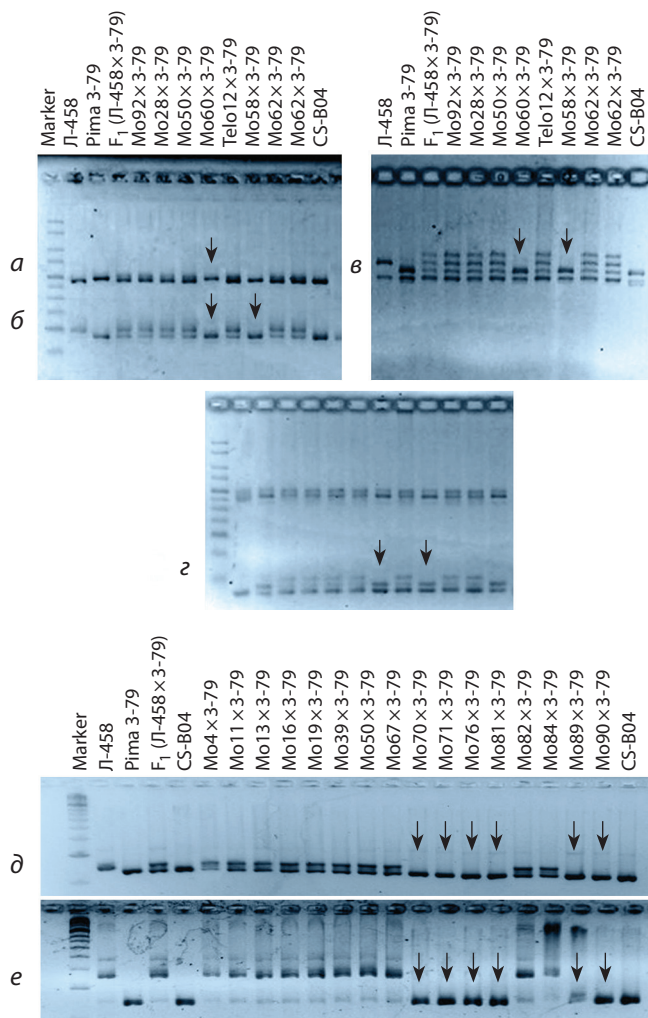


Рис. 3. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у моносомных межвидовых гибридов F_1 по хромосоме 4 A_1 -субгенома: а – CIR249; б – BNL2572; в – Gh117; г – BNL4047; д – BNL2572; е – Gh107. Стрелками указаны отсутствующие у гибридов локусы.

G. barbadense, тогда как аллели линии Л-458 не регистрировались, что свидетельствовало о локализации трех хромосом специфичных маркеров BNL2572, CIR122 и GH-107 в геноме вышеперечисленных моносомных межвидовых гибридов F_1 . Исследование еще 12 моносомных межвидовых гибридов F_1 (Мо7 × Pima 3-79, Мо31 × Pima 3-79, Мо38 × Pima 3-79, Мо58 × Pima 3-79, Мо59 × Pima 3-79, Мо60 × Pima 3-79, Мо66 × Pima 3-79, Мо69 × Pima 3-79, Мо72 × Pima 3-79, Мо73 × Pima 3-79, Мо75 × Pima 3-79, Мо79 × Pima 3-79) также выявило присутствие только полиморфных аллелей линии 3-79, тогда как аллели линии Л-458 отсутствовали, что указывает на локализацию хромосом-специфичных маркеров BNL2572, CIR122 и CIR048 на вышеперечисленных 12 гибридах F_1 . Поскольку ранее данные маркеры уже были картированы на хромосоме 4 хлопчатника, можно считать, что 18 моносомных линий – Мо7, Мо31, Мо38, Мо58, Мо59, Мо60, Мо66, Мо69, Мо70, Мо71, Мо72, Мо73, Мо75, Мо76, Мо79, Мо81, Мо89 и Мо90 нашей цитогенетической коллекции являются дубликатами и ха-

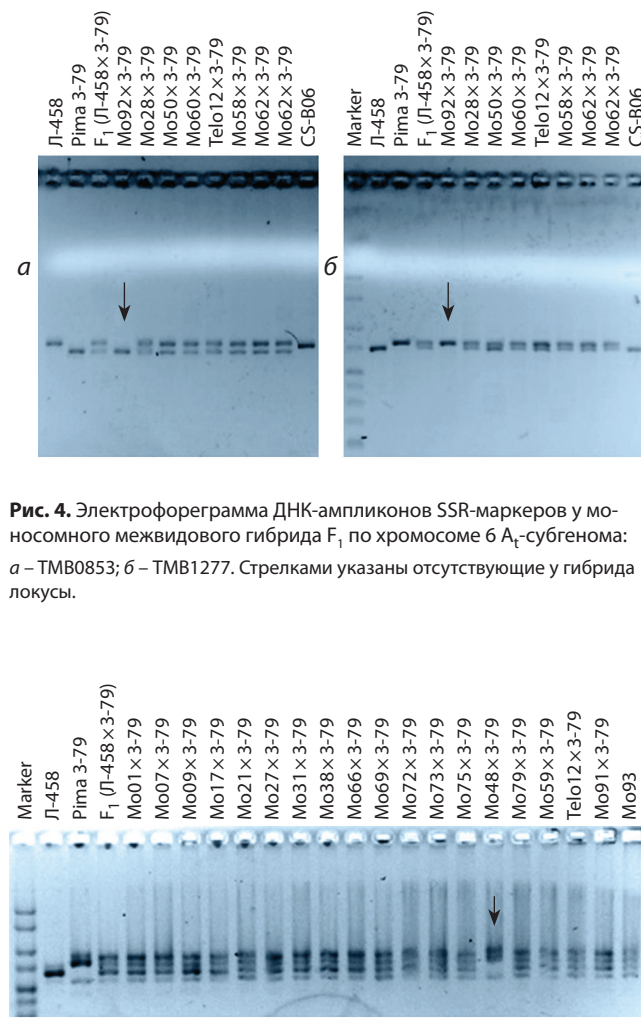


Рис. 4. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у моносомного межвидового гибрида F_1 по хромосоме 6 A_1 -субгенома: а – TMB0853; б – TMB1277. Стрелками указаны отсутствующие у гибрида локусы.

Рис. 5. Электрофореграмма ДНК-ампликонов SSR-маркеров у моносомного межвидового гибрида F_1 по хромосоме 18 D_1 -субгенома (BNL3280). Стрелкой указан отсутствующий у гибрида локус.

актеризуются отсутствием хромосомы 4 A_1 -субгенома хлопчатника (рис. 3).

Анализ трех моносомных межвидовых гибридов F_1 (Мо13 × Pima 3-79, Мо67 × Pima 3-79, Мо92 × Pima 3-79) также выявил присутствие только полиморфных аллелей *G. barbadense*, тогда как аллели линии Л-458 отсутствовали, что продемонстрировало локализацию восьми хромосом-специфичных маркеров (BNL1064, BNL2884, BNL3650, CIR203, Gh032, Gh039, Gh082 и TMB1538) на изучаемых моносомных межвидовых гибридах F_1 . Ранее эти маркеры были картированы на хромосоме 6 A_1 -субгенома хлопчатника, поэтому можно считать, что три моносомные линии цитогенетической коллекции – Мо13, Мо67 и Мо92 – также являются дубликатами с отсутствием по хромосоме 6 A_1 -субгенома (рис. 4).

Моносомная линия Мо48 была идентифицирована с помощью маркера BNL3280. Поскольку ранее он был картирован на хромосоме 18 D_1 -субгенома хлопчатника, можно считать, что линия Мо48 цитогенетической коллекции является моносомной по хромосоме 18 D_1 -субгенома (рис. 5).

Моносомная линия Мо17 также была идентифицирована, поскольку с помощью молекулярного анализа один маркер – JESPR235 – был локализован на унивалентной хромосоме. Ранее он был картирован на хромосоме 22 D₁-субгенома хлопчатника, поэтому можно считать, что линия Мо17 цитогенетической коллекции является моносомной по хромосоме 22 D₁-субгенома.

Растение с телоцентрической хромосомой, выделенное в потомстве Мо21, тоже было изучено с помощью молекулярного анализа. Показано наличие трех маркеров – BNL3442, Gh246, CIR212, локализованных на телоцентрическом плече хромосомы. Поскольку ранее маркеры BNL3442, Gh246 и CIR212 были картированы на хромосоме 11 A₁-субгенома хлопчатника, можно считать, что телоцентрическая линия – тело 21 цитогенетической коллекции – характеризуется отсутствием плеча по хромосоме 11 A₁-субгенома.

Таким образом, использование SSR-маркеров позволило идентифицировать отсутствие отдельных хромосом и одного плеча хромосомы у 28 анеуплоидных линий хлопчатника, что значительно облегчило процесс идентификации хромосом.

Идентификация и нумерация унивалентных хромосом с помощью транслокационного теста

Отсутствие четких морфологических маркеров, а также большое число мелких хромосом в кариотипе хлопчатника *G. hirsutum* не позволяют идентифицировать хромосомы с помощью общепринятых методов кариологического анализа. Поэтому для идентификации отдельных хромосом у хлопчатника в США использовались специально созданные транслокационные линии с пронумерованными хромосомами. Для этого M.S. Brown с сотрудниками (Brown, 1965, 1978, 1980) на протяжении более 20 лет создавала 63 транслокационные линии у хлопчатника *G. hirsutum* с помощью X-, гамма-, Бикини-радиации и облучения быстрыми нейтронами семян или пыльцы различных сортов, а также нескольких линий. В 58 линий было вовлечено две негомологичные хромосомы, в три – три хромосомы и в одну – четыре. Для идентификации и нумерации хромосом проводились исследования по отнесению транслоцированных хромосом к субгеномам. В результате выяснилось, что хромосома 26 не была вовлечена ни в одну из транслокаций и определялась методом исключения.

Унифицированная идентификация унивалентных хромосом у моносомных линий хлопчатника цитогенетической коллекции Узбекистана была начата путем скрещиваний с тестерной серией идентифицированных транслокаций с пронумерованными хромосомами, полученными от проф. Д. Стелли через ARS-USDA программу обмена и анализа конъюгации у гибридов. Выявление в МКП у гибридных моносомиков квадριвалента и унивалента указывало на негомологичность унивалентной хромосомы транслоцированной хромосоме. Если же в МКП у гибридных моносомиков обнаруживались триваленты, это указывало на гомологичность унивалента и одной из транслоцированных хромосом. В таком случае проводилось скрещивание этого моносомика с другими

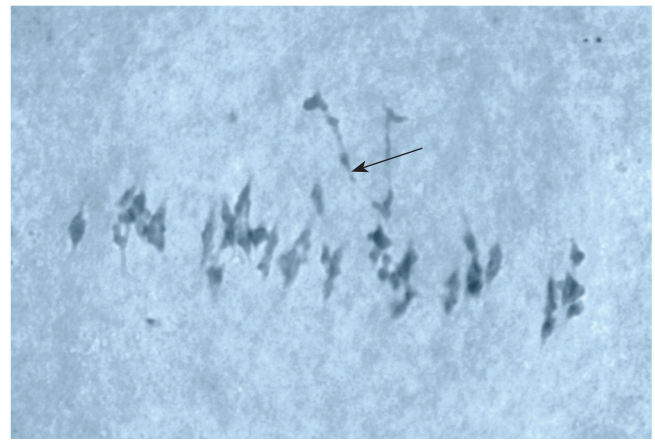


Рис. 6. «Критическая» конфигурация хромосом в метафазе I мейоза с 24^{II} + 1^{III} у моносомного транслокационного гибрида Мо19 × ТТ 2R-8Rb.

Стрелкой указан тривалент.

линиями, у которых одна из транслоцированных хромосом была такая же, как и у первой линии. Анализ ассоциаций хромосом у гибридов позволял идентифицировать унивалентную хромосому как специфическую хромосому набора (Endrizzi et al., 1985).

В результате проведенных скрещиваний была обнаружена негомологичность унивалентной хромосомы у Мо19 одной из транслоцированных хромосом в тестерных линиях ТТ 6L-7L и ТТ 10R-11R, поскольку у моносомных гибридов в метафазе I мейоза наблюдалось 23 бивалента плюс один квадριвалент и один унивалент. В случае скрещиваний с линиями ТТ 2R-8Rb и ТТ 2L-6R установлена гомологичность унивалента у Мо19 и одной из транслоцированных хромосом, поскольку у моносомных гибридов в метафазе I мейоза наблюдалось 24 бивалента плюс один тривалент. У тестерной линии ТТ 2R-8Rb в транслокацию вовлечены хромосомы 2 и 8, а у линии ТТ 2L-6R транслокация затронула хромосомы 2 и 6, следовательно, одна из этих хромосом гомологична унивалентной хромосоме у моносомной линии Мо19. Поскольку в обеих линиях участвует одна общая хромосома 2, то унивалентной хромосомой у моносомной линии Мо19 является хромосома 2 A₁-субгенома хлопчатника (рис. 6).

При анализе гибридов моносомной линии Мо75 с линиями ТТ 4L-19R и ТТ 4R-15L была установлена гомологичность унивалента линии Мо75 одной из транслоцированных хромосом, поскольку у моносомных гибридов в метафазе I мейоза наблюдалось 24 бивалента плюс один тривалент. У транслокационной линии ТТ 4L-19R в транслокацию вовлечены хромосомы 4 и 19, а у линии ТТ 4R-15L в транслокации участвуют хромосомы 4 и 15, следовательно, одна из этих трех хромосом гомологична унивалентной хромосоме у моносомной линии Мо19. Так как в обе транслокационные линии – ТТ 4L-19R и ТТ 4R-15L – вовлечена одна общая хромосома 4, значит, унивалентная хромосома у линии Мо75 является хромосомой 4 A₁-субгенома хлопчатника.

При исследовании моносомной линии Мо67 в двух вариантах скрещиваний с линиями ТТ 3R-5R и ТТ 9R-25

была обнаружена негомологичность унивалентной хромосомы Мо67 и одной из транслоцированных хромосом, поскольку у моносомных гибридов в метафазе I мейоза наблюдалось 23 бивалента плюс один унивалент и один квадрилвалент. В варианте скрещивания с линией **ТТ 6L-7L** в метафазе I мейоза были обнаружены 24 бивалента плюс один тривалент, которые свидетельствовали о гомологичности унивалентной хромосомы Мо67 и одной из транслоцированных хромосом у тестерной линии. Поскольку присутствие восьми хромосом специфических микросателлитных маркеров – BNL1064, BNL2884, BNL3650, CIR203, Gh032, Gh039, Gh082 и TMB1538 – было установлено у моносомного межвидового гибрида F₁ от скрещивания Мо67 × Pima 3-79, а ранее эти маркеры были локализованы на хромосоме 6 A₁-субгенома хлопчатника, можно утверждать, что унивалентная хромосома у моносомной линии Мо67 цитогенетической коллекции НУУз является хромосомой 6 A₁-субгенома хлопчатника.

Заключение

Таким образом, использование SSR-маркеров и тестерных транслокационных линий позволило провести унифицированную идентификацию и нумерацию унивалентных хромосом у 28 анеуплоидных линий цитогенетической коллекции. Среди них были идентифицированы пять различных негомологических хромосом генома хлопчатника (хромосомы 2, 4, 6 A₁-субгенома и хромосомы 18 и 22 D₁-субгенома), а также одна телоцентрическая хромосома 11 A₁-субгенома. Двадцать два других моносомика были выявлены как дубликаты трех хромосом (хромосомы 2, 4 и 6). Наиболее часто среди идентифицированных хромосом моносомных линий встречалась хромосома 4 (18 раз), затем хромосома 2 (4 раза) и хромосома 6 (3 раза) – как в результате облучения пыльцы и тепловыми нейтронами, так и в потомствах десинаптических растений, за исключением Мо67, который возник в потомстве растения с транслокацией с десинаптическим эффектом.

Сравнительный анализ частот обнаружения моносомиков в США выявил более частую встречаемость унивалентной хромосомы 2 A-субгенома (28 раз), характеризовавшейся также более частыми воспроизводством (45 %) и вовлечением в транслокации (12 обменов) (Brown, 1978; Endrizzi et al., 1985). На более частую встречаемость хромосом 4 и 6 в качестве спонтанных унивалентных хромосом в естественных популяциях указывалось и ранее (Endrizzi et al., 1985). По-видимому, неравная частота обнаружения различных негомологичных хромосом хлопчатника в виде унивалентов может объясняться разной подверженностью центромерных районов хромосом к воздействию радиации, а также присутствием жизненно важных локусов, гемизиготное состояние которых у моносомиков приводит к их полной нежизнеспособности.

Отсутствие полной серии моносомных линий тетраплоидного хлопчатника и недостаточное по этой причине число линий с замещением отдельных хромосом сказывается на дальнейшем прогрессе в области молекулярно-генетических исследований. До настоящего времени у хлопчатника не имеется соответствия в числе групп сцепления и числе негомологичных хромосом, отсутствует хромосомная локализация многих маркерных

локусов, а также существуют различия в составлении генетических карт хромосом (Saha et al., 2015). Поэтому получение новых анеуплоидных линий тетраплоидного хлопчатника будет способствовать решению многих из перечисленных выше вопросов.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета по науке и технологиям при Кабинете министров Республики Узбекистан (фундаментальные и прикладные исследования, гранты Ф-5-31 и КА-8009).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Мусаев Д.А. Генетическая коллекция хлопчатника. Ташкент, 1979.
- Рахматуллина Э.М., Санамьян М.Ф. Оценка эффективности облучения семян тепловыми нейтронами для индукции абберраций хромосом у хлопчатника *Gossypium hirsutum* в M₁. Генетика. 2007a;43(4):499-507.
- Рахматуллина Э.М., Санамьян М.Ф. Оценка эффективности облучения семян тепловыми нейтронами для индукции абберраций хромосом у хлопчатника *Gossypium hirsutum* в M₂. Генетика. 2007b;43(5):639-646.
- Санамьян М.Ф. Цитогенетический эффект обработки семян хлопчатника тепловыми нейтронами. Цитология и генетика. 2003a;3:49-54.
- Санамьян М.Ф. Оценка влияния облученной пыльцы на изменчивость кариотипа растений M₁ хлопчатника. Генетика. 2003b;39(7):947-955.
- Санамьян М.Ф. Оценка влияния облученной пыльцы на изменчивость кариотипа растений M₂ хлопчатника. Генетика. 2003в;39(8):1081-1090.
- Санамьян М.Ф. Цитогенетическая характеристика гаплоидов хлопчатника. Гүзанинг дунёвий хилма-хиллиги генофонди фундаментал ва амалий тадқиқотлар асоси: Сб. статей, посвящ. 80-летию акад. Абдуллаева А.А. Ташкент, 2010;121-124.
- Санамьян М.Ф., Мусаев Д.А. Обнаружение и цитологическое изучение анеуплоидных и зуплоидных растений с транслокациями хромосом у хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. Генетика. 1990;26(3):506-515.
- Abdurakhmonov I.Y., Buriev Z.T., Saha S., Pepper A.E., Musaev J.A., Almatov A., Shermatov S.E., Kushanov F.N., Mavlonov G., Reddy U.K., Yu J.Z., Jenkins J.N., Kohel R.J., Abdurakarimov A. Microsatellite markers associated with lint percentage trait in cotton, *Gossypium hirsutum*. Euphytica. 2007;156:141-156.
- Blenda A., Fang D.D., Rami J.F., Garsmeur O., Luo F. A high density consensus genetic map of tetraploid cotton that integrates multiple component maps through molecular marker redundancy check. PLoS ONE. 2012;7(9):e45739. DOI 10.1371/journal.pone.0045739.
- Brown M.S. The identification of chromosomes in *Gossypium hirsutum* by means of translocations. Genetics. 1965;52:430-431.
- Brown M.S. The identification of the individual chromosomes of *Gossypium hirsutum* L. Proc. Beltw. Cotton Prod. Res. Conf. Dallas, January 9–11 1978. Dallas, 1978;70.
- Brown M.S. Identification of the chromosomes of *Gossypium hirsutum* L. by means of translocations. J. Hered. 1980;71(4):266-274.
- Brown M.S., Endrizzi J.E. The origin, fertility and transmission of monosomic in *Gossypium*. Amer. J. Bot. 1964;51(1):108-115.
- Edwards G.A., Brown M.S., Niles G.A., Naqi S.A. Monosomics of cotton. Crop Sci. 1980a;20(4):527-528.
- Edwards G.A., Brown M.S., Niles G.A., Naqi S.A. The frequency of spontaneous and other monosomes at Beasley laboratory, 1946 to 1979. Proc. Beltw. Cotton Prod. Res. Conf., 1980b;103-106.

- Endrizzi J.E. Use of haploids in *Gossypium barbadense* L. as a source of aneuploids. *Current Science*. 1966;(2):34-35.
- Endrizzi J.E., Brown M.S. Identification of monosomes for six chromosomes in *Gossypium hirsutum*. *Amer. J. Botany*. 1964;51:117-120.
- Endrizzi J.E., Ramsay G. Monosomes and telosomes for 18 of the 26 chromosomes of *Gossypium hirsutum*. *Can. J. Genet. Cytol.* 1979; 21(4):531-536.
- Endrizzi J.E., Ramsay G. Identification of ten chromosome deficiencies of cotton. Cytological identification of eight chromosomes and genetic analysis of chromosome deficiencies and marker genes. *J. Hered.* 1980;71(1):45-48.
- Endrizzi J.E., Ray D.T. Monosomic and monotelodisomic analysis of 34 mutant loci in cotton. *J. Hered.* 1991;82:53-57.
- Endrizzi J.E., Ray D.T. Mapping of the cl_1 , R_1 , yg_1 and Dw loci in the long arm of chromosome 16 of cotton. *J. Hered.* 1992;83:1-5.
- Endrizzi J.E., Turcotte E.L., Kohel R.J. Genetics, cytology and evolution of *Gossypium*. *Adv. Genet.* 1985;23:271-375.
- Galen D.F., Endrizzi J.E. Induction of monosomes and mutations in cotton by gamma irradiation of pollen. *J. Hered.* 1968;59(6):343-346.
- Hoffman S.M., Yu J.Z., Grum D.S., Xiao J., Kohel R.J., Pepper A.E. Identification of 700 new microsatellite loci from cotton (*G. hirsutum* L.). *J. Cotton Science*. 2007;11:208-241.
- Kakani A., Saha S., Sapra V.T., Zipf A., Stelly D.M. Genetic mechanism and chromosomal location of pollen-specific gene (s) in *Gossypium*. *Crop Sci.* 1999;39:668-673.
- Kohel R.J., Stelly D.M., Yu J. Tests of six cotton (*Gossypium hirsutum* L.) mutants for association with aneuploids. *J. Hered.* 2002; 93(2):130-132.
- Lacape J.M., Jacobs J., Arioli T. A new interspecific, *Gossypium hirsutum* × *G. barbadense*, RIL population: Towards a unified consensus linkage map of tetraploid cotton. *Theor. Appl. Genet.* 2009;119(2): 281-282. DOI 10.1007/s00122-009-1037-y.
- Liu S., Saha S., Stelly D., Burr B., Cantrel R.G. The use of cotton aneuploid for the chromosomal assignment of microsatellite loci in cotton. *J. Hered.* 2000;91:326-332.
- Myles E.L., Endrizzi J.E. Aneuploids induced by deficiencies of chromosome 9 and analysis of the time of nondisjunction in cotton. *Genome*. 1989;32:12-18.
- Nguyen T.B., Ciband M., Brottier P., Risterucci A.M., Lacape J.M. Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:167-176. DOI 10.1007/s00122-004-1612-1.
- Reddy A.S., Connell J., Pammi S., Iqbal J. Genetic mapping of cotton: isolation and polymorphism of microsatellites. *Proc. Beltw. Cotton Prod. Res. Conf., Memphis, TN, National Cotton Council of America*, 1998;485.
- Saha S., Raska D.A., Stelly D.M. Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) × Hawaiian cotton (*G. tomentosum* Nutt. ex Seem.) F_1 hybrid hypoaneuploid chromosome substitution series. *J. Cotton Science*. 2006;10:263-272.
- Saha S., Raska D.A., Stelly D.M., Manchali S., Gutierrez O.A. Hypoaneuploid chromosome substitution F_1 hybrids of *Gossypium hirsutum* L. × *G. mustelinum* Miens ex Watt. *J. Cotton Science*. 2013;17: 102-114.
- Saha S., Stelly D.M. Chromosomal location of Phosphoglucomutase 7 locus in *Gossypium hirsutum*. *J. Hered.* 1994;85:35-39.
- Saha S., Stelly D.M., Makamov A.K., Ayubov M.S., Raska D., Gutierrez O.A., Manchali S., Jenkins J.N., Deng D., Abdurakhmonov I.Y. Molecular confirmation of *Gossypium hirsutum* chromosome substitution lines. *Euphytica*. 2015;205:459-473. DOI 10.1007/s10681-015-1407-2.
- Saha S., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C., Jr., Gutierrez O.A., Stelly D.M., Percy R.G., Raska D.A. Effect of Chromosome substitutions from *Gossypium barbadense* L. 3-79 into *G. hirsutum* L. TM-1 on agronomic and fiber traits. *J. Cotton Science*. 2004;8:162-169. DOI 10.1007/s00122-012-1965-9.
- Samora P.J., Stelly D.M., Kohel R.J. Localization and mapping of the Le_1 and Gl_2 loci of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *J. Hered.* 1994; 85(2):152-157.
- Sanamyan M.F., Petlyakova J.E., Musaev D.A. The development and a cytogenetic study of monosomics of *Gossypium hirsutum* L. *Biologia Plantarum*. 2000;43:193-197.
- Sanamyan M.F., Petlyakova J., Rakhmatullina E.M., Sharipova E. Ch. 10. Cytogenetic collection of Uzbekistan. (Ed. I.Y. Abdurakhmonov) *World Cotton Germplasm Resources*. Croatia: InTech, 2014;247-287. DOI 10.5772/56978.
- Sanamyan M.F., Petlyakova J.E., Sharipova E.A., Abdurakhmonov I.Y. Cytogenetic characteristics of new monosomic stocks of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Genetics Research International*. 2011;12. <http://dx.doi.org/10.4061/2011/273642>.
- Sears E.R. Misdivision of univalents in common wheat. *Chromosoma*. 1952;4:535-550.
- Sears E.R. The aneuploids of common wheat. *Research Bul. Univ. Missouri, College Agricul., Agricul. Exper. Station*. 1954;(572):1-58.
- Stelly D.M. Localization of the Le_2 locus of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *J. Hered.* 1990;81(3):193-197.
- White T.G., Endrizzi J.R. Tests for the association of marker loci with chromosomes in *Gossypium hirsutum* L. by the use of aneuploids. *Genetics*. 1965;51:605-612.
- Yu J.Z., Kohel R.J., Fang D.D., Cho J., Van Deynze A., Ulloa M., Hoffman S.M., Pepper A.E., Stelly D.M., Jenkins J.N., Saha S., Kumpatla S.P., Shah M.R., Hugie W.V., Percy R.G. A high-density simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism genetic map of the tetraploid cotton genome. G3 (Bethesda). 2012;2:43-58. DOI 10.1534/g3.111.001552.