

UOT 635.657.658

## RAPD VƏ ISSR MOLEKULYAR MARKERLƏRLƏ NOXUD NÜMUNƏLƏRİNDƏ NÖVDAXİLİ POLİMORFİZMİN ÖYRƏNİLMƏSİ

<sup>1</sup>HƏSƏNOVA SÜDABƏ QƏŞƏM qızı  
<sup>2</sup>HƏSƏNOVA SƏİDƏ QASIM qızı  
<sup>3</sup>MƏMMƏDOVA SEVİNC ƏMRULLA qızı  
*Sumqayıt Dövlət Universiteti, 1- dosent, 3- magistr*  
*AMEA Genetik Ehtiyalar İnstitutu, 2 - b.f.d.*  
[hesenova63sudabe@gmail.ru](mailto:hesenova63sudabe@gmail.ru)

*Açar sözlər: noxud, genotip, RAPD və ISSR marker, polimorfizm*

Məqalə noxud genotiplərində müxtəlif markerlər (RAPD və ISSR) vasitəsilə növdaxili polimorfizmin öyrənilməsindən bəhs edir. Tədqiqat nəticəsində noxud genotipləri arasında 11 RAPD marker ilə cəmi 77 amplikon sintez edilmiş (onlardan 76 amplikon polimorf olmuşdur), 8 ISSR markerlə 42 amplikon sintez edilmişdir (onlardan 32 amplikon polimorf olmuşdur). Ümumilikdə 11 RAPD praymerlə ortalama 98,6%, 8 ISSR praymerlə isə 80,0% polimorfizm qeydə alınmışdır. Əldə edilmiş nəticələrə əsasən quraqlığa davamlı, hündürboylu, məhsuldar genotiplərin seleksiya işlərində istifadəsi nəzərdə tutulur.

Noxud bitkisi paxlalılar fəsiləsi (*Leguminoceae*), *Papilionaceae* yarım ailəsinin *Cicer* cinsinə aid olub, diploid xromosom sayına malikdir ( $2n=16$ ), genomun ölçüsü 931Mbp-dir. [5; 6] Bu cinsin 43 növü vardır (9 birillik və 34 çoxillik). Birillik növlərdən yalnız biri – *C.arietinum* insan müdaxiləsi olmadan inkişaf etmir.

Bütün dünyada olduğu kimi, respublikamızda da ərzaq təhlükəsizliyinin təmin olunmasında zülal, karbohidrat və minerallarla zəngin olan noxud bitkisi xüsusi yer tutur. Noxudun dənində külli miqdarda minerallar və vitaminlər (A, B, C, D, E) vardır ki, bu da onun yüksək qidalılığa və yem keyfiyyətinə malik olduğunu sübut edir. [1; 3]

Mədəni noxud (*Cicer arietinum*) genotipləri və yabanı noxud növləri (*Cicer reticulatum*, *Cicer bijicum* və s.) arasındakı genetik müxtəlifliyin, filogenetik qohumluğun tədqiqi, mədəni noxudun əlamətlərini yaxşılaşdıracaq gen qaynağına malik növlərin üzə çıxarılması ilə bağlı tədqiqatlar molekulyar marker texnologiyasının tətbiqindən sonra daha da sürətlənmişdir [2]. Son dövrlərdə RAPD, ISSR, SSR və s. molekulyar markerlərin inkişaf etməsi, onların biologiya və kənd təsərrüfatına tətbiqi aktual olub, xüsusilə də bitkilərin genotipləri arasında genom səviyyəsində polimorfizmin təyində geniş şəkildə istifadə olunur. Polimorfizmi fərqli yollarla üzə çıxaran bu metodların kompleks şəkildə istifadəsi isə bitki genomunun strukturu haqqında daha geniş informasiya almağa imkan verir. [4; 7] Belə ki, RAPD markeri genomun təsadüfi hissələrinin, ISSR markeri iki satellit DNT arasındakı hissənin polimorfizmini müəyyən edir. Bu markerlərlə aparılan analizlərin nəticələrinin müasir statistik metodlarla işlənməsi isə tədqiqatın etibarlılığını artırır.

**Material və metodlar.** Tədqiqat obyektini olaraq ICARDA beynəlxalq mərkəzindən introduksiya olunmuş və Azərbaycanın müxtəlif rayonlarından toplanaraq Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun Gen bankında qorunub-saxlanılan adları aşağıda göstərilən 62 noxud (*Cicer arietinum* L.) genotipindən istifadə edilmişdir.

№	Nümunənin adı və kataloq nömrəsi	Mənşəyi	№	Nümunənin adı və kataloq nömrəsi	Mənşəyi
1	Lənkəran 1	Lənkəran	32	Yardımlı 27	Yardımlı
2	Lənkəran 2	Lənkəran	33	Masallı 30	Masallı
3	Flip03-48	ICARDA	34	Masallı 51	Masallı
4	Cəlilabad 50	Cəlilabad	35	Biləsuvar 58	Biləsuvar
5	Flip 04-4	ICARDA	36	Lerik 33	Lerik
6	Nərmin 57	Bakı	37	Flip 97-81	ICARDA
7	Flip 97-24	ICARDA	38	Abşeron 35	Abşeron
8	Ağstafa 35	Ağstafa	39	Flip 22-04	ICARDA
9	İran 48	İran	40	Flip 23-04	ICARDA
10	Cəlilabad 55	Cəlilabad	41	Flip 02-88	ICARDA
11	Sabirabad 59	Sabirabad	42	Flip 03-93	ICARDA
12	Ordubad 47	Ordubad	43	Flip 00-19	ICARDA
13	Yardımlı 28	Yardımlı	44	Ağdaş 18	Ağdaş
14	Flip 06-8c	ICARDA	45	Sultan 98-178	Bakı
15	Flip06-133c	ICARDA	46	TH 1-04	ICARDA
16	Flip 06-61c	ICARDA	47	Flip 03-34	ICARDA
17	Abşeron 34	Abşeron	48	Flip 03-17	ICARDA
18	Flip 06-33c	ICARDA	49	Flip 04-38	ICARDA
19	Flip 06-161c	ICARDA	50	Yardımlı 29	ICARDA
20	Flip 05-169c	ICARDA	51	Flip 03-71	ICARDA
21	Ordubad 39	Ordubad	52	Flip 04-35	ICARDA
22	Ordubad 41	Ordubad	53	Flip 03-22	ICARDA
23	Qusar 43	Qusar	54	Flip 06-28c	ICARDA
24	Qusar 44	Qusar	55	Flip03-77	ICARDA
25	Ağstafa 42	Ağstafa	56	Flip03-27	ICARDA
26	Flip 03-22	ICARDA	57	Flip04-16	ICARDA
27	Bakı 30	Bakı	58	Flip06-7c	ICARDA
28	Cəlilabad 11	Cəlilabad	59	Flip 06-89c	ICARDA
29	Flip 97-32	ICARDA	60	Flip 32-79	ICARDA
30	Şamaxı 25	Şamaxı	61	Flip 05-19c	ICARDA
31	Flip06-18	ICARDA	62	Flip 06-144c	ICARDA

**Nəticələr və onların müzakirəsi.** Tədqiqat zamanı polimorf praymerlərin seçilməsi üçün noxud nümunələrində 30 RAPD praymeri istifadə olunaraq ekstraksiya olunmuş genom DNT-si ilə PZR analizi aparılmış, tədqiqatda istifadə olunan bütün praymerlərdə amplikon müşahidə olunmuşdur. Nəticələrin ilkin analizi zamanı 98-i polimorf olmaqla, ümumilikdə 166 bənd sintez olunduğu müşahidə olunmuşdur. Tədqiqatda istifadə olunmuş 19 praymer növdaxili polimorfizmin aşkar olunmasında informativ hesab olunmamışdır. Belə ki, həmin praymerlərlə aparılmış PZR reaksiyası nəticələri elektroforezdə olduqca az fərqlənən amplikonların təzahürü ilə fərqlənmişdir. Digər 11 praymer isə yüksək polimorfluq göstərmiş, genetik müxtəlifliyin öyrənilməsində daha əhəmiyyətli hesab edilmiş və aparılmış tədqiqatda noxud genotiplərinin molekulyar analizi üçün istifadə olunmuşdur. Beləliklə, 62 noxud genotipində 11 RAPD praymer vasitəsilə PZR analizi nəticəsində 77 amplikon qeydə alınmış, bunlardan 76 amplikon polimorf olmuşdur. SPSS kompüter proqramı ilə Jaccard genetik oxşarlıq indeksi və UPGMA metodu əsasında klaster analizi aparılmış və nümunələrarası genetik məsafəni təyin edən dendrogram qurulmuşdur. Tədqiqat obyektini kimi seçilmiş noxud genotipləri RAPD markerləri nəticələrinə əsasən aparılmış klaster analizində 12 müxtəlif klasterdə qruplaşmışdır. Bu nümunələr arasında genetik oxşarlıq indeksinin (GOİ) minimum və maksimum qiymətləri müvafiq olaraq 0,24 və 0,93 qeydə alınmışdır. Birinci klasterdə yerləşən Flip 04-4 genotipi digər nümunələrdən fərqlənərək ayrıca subklasterdə yer

almışdır. İkinci klasterə daxil olan nümunələr (Flip 04-16, Flip 06-7, Flip 06-89, Flip 32-79, Flip 05-19, Flip 06-144) arasındakı genetik oxşarlıq əmsalı 0,21-0,64 olmuşdur. Bu klasterdə də Flip 32-79 genotipi qrupun digər nümunələrindən uzaq genetik məsafədə yerləşmişdir. Üçüncü klasterə daxil olan Masallı 51 nümunəsinin digər nümunələrlə oxşarlıq indeksinin minimum və maksimum qiymətləri 0,21-0,64 olub, bu nümunəyə ən yaxın genotip Flip 32-79 olmuşdur. Dördüncü klasterə daxil olan Yardımlı 28 və Flip 06-133 nümunələri arasında GOİ isə 0,53 olmuşdur. Digər klasterlərin hər biri cəmi bir genotiptən ibarət olmuşdur. Belə ki, Ordubad 47 genotipi beşinci klasterdə, məhsuldarlığı ilə seçilən Ağstafa 35 nümunəsi altıncı klasterdə, Cəlilabad 50 nümunəsi yeddinci klasterdə, Nərmin isə səkkizinci klasterdə ayrıca yerləşmişdir. Doqquzuncu klasterdə yerləşən Cəlilabad 55 ilə onuncu klasterdə yer alan Sabirabad 59 arasındakı oxşarlıq indeksi 0,31-ə bərabər olmuş, Lənkəran 1 genotipi on birinci klasterdə, mənşəyi İran olan 9 nömrəli İran 48 genotipi də digər nümunələrdən fərqlənmiş və on ikinci klasterdə tək yerləşmişdir.

Aparadığımız tədqiqat işində noxud genotipləri üçün polimorf praymerləri müəyyən etmək məqsədilə noxud genotiplərinin genomları 15 ISSR praymer vasitəsilə yoxlanılmışdır. İlkin yoxlama zamanı 15 ISSR praymeri ilə 67 amplikon sintez olunmuş, bunlardan 34-ü polimorf olmuşdur. Tədqiqatda istifadə olunmuş ISSR praymerlərdən 7-si ilə heç bir bənd amplifikasiya olunmamış, digər 8 praymer isə yüksək polimorfluq nümayiş etdirmiş və bu praymerlərdən noxud genotiplərinin genomunu tədqiq etmək üçün istifadə olunmuşdur. Tədqiqat zamanı 8 ISSR praymer vasitəsilə 42 amplikon sintez edilmiş, bunlardan 32-si polimorf olmuşdur. SPSS kompüter programı ilə Jaccard genetik oxşarlıq indeksi və UPGMA metodu əsasında klaster analizi aparılmış və nümunələrarası genetik məsafəni təyin edən dendrogram qurulmuşdur. Tədqiqat obyektini kimi seçilmiş noxud genotipləri ISSR markerləri əsasında klaster analizi ilə 7 müxtəlif klasterdə qruplaşmışdır. Klasterlər arasında genetik məsafə indeksinin minimum və maksimum qiyməti müvafiq olaraq 0,46 və 0,77 vahid təşkil etmişdir. Klasterlərarası genetik məsafə nə qədər böyük olarsa, genotiplərin seleksiyada heterozis effekti almaq məqsədilə istifadəsi daha əlverişli olar. Birinci klaster nümunələrin 79% -ni əhatə edir. Yerli məhsuldar genotiplər olan Sultan və Nərmin bu klasterdə bir-birindən uzaq genetik məsafədə yerləşmişdir. Məhsuldarlığına görə Sultan nümunəsindən geri qalmayan 44 nömrəli Flip 97-32 ilə Sultan nümunəsi arasındakı genetik oxşarlıq indeksi 0,86 olmuşdur. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, bir-birinə ən yaxın genetik məsafədə yerləşən nümunələr birinci klasterdə qruplaşmışdır. Belə ki, 40 (Flip 23-04) və 43 (Flip 00-19) nömrəli nümunələrin genetik oxşarlıq indeksi 1,00-ə, 53 (Flip 03-22) və 56 (Flip 03-27) nömrəli genotiplərin, eləcə də 50 (Flip 03-36) və 51 (Flip 03-71) sayılı genotiplərin genetik oxşarlıq indeksi 0,87 –yə bərabər olmuşdur. İkinci klasterdə yerləşən Flip 32-79, Flip 06-144 də quraqlığa davamlı və orta məhsuldar nümunələr olub, onlar arasında genetik oxşarlıq indeksləri 0,79 olmuşdur. Üçüncü klaster müxtəlif rayonlardan toplanmış üç nümunədən (Şamaxı 25, Abşeron 35, Lənkəran 1) ibarətdir. Şamaxı 25 və Abşeron 35 nümunələri arasında genetik oxşarlıq indeksi 0,74, Abşeron 35 və Lənkəran 1 arasındakı genetik oxşarlıq indeksi isə 0,68 olmuşdur. Dördüncü klasterdə yer alan orta məhsuldar və quraqlığa davamlı Yardımlı 28 nümunəsinin digər nümunələrlə genetik oxşarlıq indeksi 0,66-yə bərabər olmuşdur. Beşinci klaster genetik oxşarlıq indeksi 0,61 olan iki nümunədən (Ağstafa 35 və Flip 03-17), altıncı klaster isə genetik oxşarlıq indeksi 0,62 olan Abşeron 34 və Masallı 30 nümunələrindən ibarətdir. Sonuncu klaster də iki nümunədən (Bakı 30 və Masallı 51) ibarətdir. Bu nümunələr arasındakı genetik oxşarlıq indeksi isə 0,73 –ə bərabər olmuşdur.

Biomüxtəlifliyin qorunması sahəsində RAPD və ISSR markerlərlə əldə olunan nəticələr noxud genotiplərinin dəqiq təsnifatında, pasportlaşmasında faydalı ola bilər.

## ƏDƏBİYYAT

1. Əkrərov Z.İ. Genetik ehtiyatların toplanması, mühafizəsi və tədqiqinin perspektivləri / “Biomüxtəlifliyin genetik ehtiyatları” I Beynəlxalq elmi konfransın materialları. Azərbaycan, Bakı, 2006, s.13

2. Əkrərov Z.İ., Məmmədov A.T. Bitki genetik ehtiyatlarının əsas tədqiqat strategiyaları // Azərbaycan Aqrar Elmi. №1-3. 2007, s.120-124
3. Əliyev C., Əkrərov Z., Məmmədov A. Bioloji müxtəliflik. Bakı: Elm, 2008, 232 s.
4. Mirzəyev R.S., Əmirov L.Ə., Cahangirov A.A. Perspektivli noxud nümunələrinin öyrənilməsi // AzETƏİ-nin elmi əsərləri məcmuəsi, c. XXII. 2010, s.96-99
5. Düzdemir O., Akdağ C., Yanar Y. Bəzi nohut (*Cicer arietinum L.*) çeşitlərinin fərqli çəvreələrdə antraknoz (*Ascochyta rabiei*)'a dayanımları və tane verimləri üzərində bir araşdırma // GÖÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi. c. 24. №2. 2007, s. 87-97
6. Малышев С.В., Картель Н.А. Молекулярные маркеры в генетическом картировании растений // Молекулярная биология. т.31. №62. 1997, с. 197-208
7. Хемлебен В., Беридзе Т.Г., Бахман Л. и др. Сателлитные ДНК // Успехи биологической химии. т.43. 2003, с.267-306

#### РЕЗЮМЕ

#### ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРИВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ОБРАЗЦАХ НУТА МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МАРКЕРАМИ RAPD И ISSR

*Гасанова С.Г., Гасанова С.Г., Мамедова С.А.*

**Ключевые слова:** нут, генотип, маркеры RAPD и ISSR, полиморфизм

В статье рассматривается изучение внутривидового полиморфизма с помощью различных маркеров (RAPD и ISSR) в генотипах нута. В результате исследования между генотипами нута были синтезированы всего 77 ампликонов с помощью 11 RAPD маркеров (из них 76 ампликонов были полиморфными), 42 ампликонов с помощью 8 ISSR маркеров (из них 32 ампликонов были полиморфными). Всего, с 11 RAPD праймерами был отмечен в среднем 98,6% полиморфизма, а с 8 ISSR праймерами – 80,0% полиморфизма. В результате полученных заключений, учитывается использование их в селекции устойчивых к засухе высоких, плодотворных генотипов.

#### SUMMARY

#### STUDYING INTRASPECIFIC POLYMORPHISM IN PEA SAMPLES WITH RAPD AND ISSR MOLECULAR MARKERS

*Hasanova S.G., Hasanova S.G., Mammadova S.A.*

**Key words:** pea, genotype, RAPD and ISSR marker, polymorphism

The subject is about the studying of intraspecific polymorphism through different markers (RAPD and ISSR) in the pea genotypes. As a result of study totally 77 amplicons were synthesized with 11 RAPD marker among pea genotypes (76 of them were amplicon polymorphs), 42 amplicons were synthesized with 8 ISSR marker (32 of them were amplicon polymorphs). Generally averagely 98,6% polymorphism was noted with 11 RAPD primers, 80,0% polymorphism with 8 ISSR. Upon the obtained results draught – resistant, tall, productive genotypes are intended to be used in selection works.

Daxilolma tarixi:	İlkin variant	08.07.2019
	Son variant	14.10.2019