

Azərbaycanın Yumşaq Buğda (*Triticum aestivum* L.) Genotiplərində Polimorfizmin ISSR Markerləri Əsasında Qiymətləndirilməsi

S.B. Sadıqova*, H.B. Sadıqov, S.C. Salayeva, C.M. Ocaqi, R.Ə. Eşqi

Azərbaycan MEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu, Azadlıq pr. 155, Bakı AZ 1106, Azərbaycan

Tədqiqatda Azərbaycana məxsus 33 yumşaq buğda genotipinin genetik müxtəlifliyi 20 ISSR praymerindən istifadə edilməklə öyrənilmişdir. İstifadə edilmiş ISSR praymerləri vasitəsilə 350 DNT fraqmenti amplifikasiya olunmuşdur ki, onlardan yalnız 318-i (90.85%) polimorfluğu ilə seçilmişdir. UPGMA metodunun tətbiqi ilə, Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin qiymətləndirilməsi nəticəsində ISSR praymerləri vasitəsilə əldə olunmuş spektrlər əsasında klaster analizi aparılmış və bütün genotiplər 5 əsas klasterdə qruplaşmışdır. Tədqiqat nəticəsində ISSR-8, ISSR-11 və ISSR-19 praymerlərinin tətbiqi ilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin sayı, polimorf fraqmentlərin sayı, həmçinin genetik müxtəliflik indeksinin qiyməti yüksək olduğundan, onlar yumşaq buğda populyasiyalarının genetik müxtəlifliyinin tədqiqində effektiv ISSR praymerləri kimi istifadə üçün tövsiyə olunurlar.

Açar sözlər: *Triticum aestivum* L., genetik müxtəliflik, ISSR markerləri, klaster analizi

GİRİŞ

Yerli buğda genotipləri (*Triticum aestivum* L.) nadir və/ya spesifik allellərə malik olmaqla yeni buğda genotiplərinin yaradılması üçün qiymətli genetik resursdurlar (Ciaffi et al., 1992). Yaxın şərqdə buğda bitkisinin ilkin əcdadları hesab edilən qədim formalar Məhsuldar Ayparanın (Fertile Crescent və ya "The Cradle of Civilization" - "Sivilizasiyanın beşiyi" dedikdə hazırkı İraqı, İran, Azərbaycan, Küveyt, Türkiyə, Aralıq dənizinin şərq sahillərini, Suriya, İordaniya, İsrail, Livan və Misiri, həmçinin Nil çayı vadisini əhatə edən ərazi başa düşülür) şimal və şərq hissələrində mövcud olmuşlar (Harlan and Zohary, 1996). Bu formaların nəsilərində genetik müxtəlifliyin tədqiqi onların genetik potensialları haqqında əsaslı informasiya verərək, gələcək seleksiya proqramlarında istifadələrinə xidmət edir. Molekulyar markerlər nümunələr arasındakı polimorfizmin aşkar edilməsinə, nümunələrarası genetik oxşarlıq və genetik məsafələrin hesablanmasına, həmçinin markerlərlə fenotipik əlamətlər arasında mövcud olan əlaqələrin təyininə ("marker əsaslı seçmə"yə) imkan verən effektiv vasitələrdirlər.

Eukariot genomları genom boyu bərabər paylanmış, SSR (simple sequence repeat - sadə ardıcılıqların təkrarı) adlanan qısa (1-10 n.c.) tandem təkrarlar və ya mikrosatellitlərin varlığı ilə səciyyələnirlər. ISSR-lar (inter simple sequence repeats-daxili sadə təkrarlanan ardıcılıqlar) mikrosatellit təkrarları arasındakı sahələri əhatə edir. ISSR praymer texnologiyası mikrosatellitlərin arasındakı ardıcılıqların PZR (polimeraza zəncirvari reaksiyası) amplifikasiyasına əsaslanır. ISSR praymerləri mikrosatellit ardıcılıqlarından ibarətdirlər. Bir çox ISSR praymerlərində təkrarlanan

motivlə yanaşı praymerin 3' və ya 5'sonluğuna təsadüfi olaraq 2-4-dən ibarət purin və ya pirimidin nukleotidləri qarmaq kimi "tikilir" (Zietkiewicz et al., 1994). İlk olaraq, ISSR praymer texnologiyası 1994-cü ildə Zietkiewicz və həmkarları (Zietkiewicz et al., 1994) tərəfindən tətbiq edilmiş, 1995-ci ildə isə Kantety və əməkdaşları (Kantety, 1995) tərəfindən yenidən istifadə olunmuşdur. Bitkilərin genetik müxtəlifliyinin tədqiqində PZR əsaslı markerlərdən, o cümlədən SSR, AFLP və RAPD praymerlərdən geniş şəkildə istifadə olunur. PZR əsaslı ISSR praymerləri isə sadalanan hər üç molekulyar marker texnologiyasının müsbət xüsusiyyətini özündə birləşdirir. ISSR markerləri dominant xarakterli olmaqla, yüksək təkrarlanma qabiliyyətinə malikdir və genetik müxtəlifliyin bu marker texnologiyası vasitəsilə tədqiqi iqtisadi cəhətdən səmərəlidir (Simmons et al., 2007).

Müxtəlif istiqamətli genetik tədqiqatlarda, o cümlədən genetik xəritələrin tərtibində (Li et al., 2007), genetik müxtəlifliyin tədqiqində (Nagaoka and Ogihara, 1997), pas xəstəliklərinə davamlı genlərin təyin edilməsində (Gold et al., 1999) ISSR praymerlərdən effektiv praymerlər kimi geniş istifadə olunur.

MATERIAL VƏ METODLAR

Tədqiqatda istifadə edilmiş 33 yumşaq buğda (*Triticum aestivum* L.) genotiplərinin adı və onların mənsub olduğu bölgələr cədvəl 1-də verilmişdir. Total DNT-ni cavan yarpaqlardan ekstraksiya etmək məqsədi ilə tədqiqat obyektini kimi seçilmiş buğda genotiplərinin toxumları MS (culture medium-kultura mühiti) mühitində (Murashige and

Cədvəl 1. Tədqiqatda istifadə olunmuş yumşaq buğda genotiplərinin adları və onların mənsub olduğu bölgələr

№	Yumşaq buğda genotiplərinin adları	Nümunələrin mənsub olduqları bölgələr	№	Yumşaq buğda genotiplərinin adları	Nümunələrin mənsub olduqları bölgələr
1	Barbarossa 143	Abşeron	18	Albidum 199	Naxçıvan
2	Cyanotrix 53	Abşeron	19	Ps. Hostianum 70	Naxçıvan
3	Qlaucolutescens 21	Abşeron	20	Delfi 311	Naxçıvan
4	Ps. Meredionale 74	Abşeron	21	Griseum 27	Naxçıvan
5	Murinum 319	Abşeron	22	Alborubum 173	Şamaxı
6	Rubromurinum 54	Abşeron	23	Ferrugineum 298	Şamaxı
7	Nigroaristatum 310	Abşeron	24	Lutescens 187	Bərdə
8	Əkinçi 84	Abşeron	25	Erithrospermum 86	Bərdə
9	Graecum 275	Abşeron	26	Erythroleucon 219	Oğuz
10	Qlaucolutescens 77	Abşeron	27	Leucospermum 317	Oğuz
11	Fuliginosium 96	Abşeron	28	Graecum 1	Mirbəşir
12	Meredionale 111	Naxçıvan	29	Milturum 282	Goranboy
13	Ps. Barbarossa 113	Naxçıvan	30	Velutinum 109	Tovuz
14	Turcicum 127	Naxçıvan	31	Introitum 56	Biləsuvar
15	Pyrothrix 169	Naxçıvan	32	Erithrospermum 246	Qazax
16	Hostianum 125	Naxçıvan	33	Fulfosinerum 313	Qazax
17	Renovatum 28	Naxçıvan			

Skoog, 1962) üç həftə müddətində, 25°C temperaturda və 13 saat işıqlandırma şəraitində əkilmişdir. DNT 0.4 q yarpaqlardan Dellaporta və həmkarlarının (Dellaporta et al., 1983) təklif etdikləri metod əsasında ekstraksiya edilmişdir. Ekstraksiya olunmuş diyircək şəkilli total DNT 250 µl 0,1x TE məhlulunda [1mM Tris-HCl (pH=8,0), 0,1mM EDTA (pH=8,0)] həll edildikdən sonra -20°C temperatur şəraitində istifadə üçün saxlanılmışdır.

Buğda nümunələrinin DNT-nin təmizlik dərəcəsi 1,5%-li aqaroza gəllərində elektroforez edilməklə yoxlanılmış, miqdarları spektrofotometrə təyin edilmiş və ISSR praymerləri ilə PZR-in aparılması üçün müvafiq qatılıqda durulaşdırılmışdır.

Tədqiqatda ilkin olaraq 40 ISSR praymerindən istifadə olunmuşdursa da, onlardan yalnız 20-si vasitəsilə əldə olunmuş amplifikasiya məhsulları yüksək təkrarlanma qabiliyyətinə malik olmuş və polimorfizmi aşkar etməkdə informativ olmuşlar. 1 nümunə üçün polimeraza zəncirvari reaksiyasının ümumi həcmi 25 µl təşkil etmişdir. Hər 25 µl reaksiya qarışığı 35 nq DNT, 1x bufer [10 mM Tris-HCl (pH=8,0), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂], 2 mM MgCl₂, 0.2 mM hər bir dNTP-dən, 0,2 mM

praymer və 2 vahid Taq polimeraza fermentindən ibarət olmuşdur. Polimeraza zəncirvari reaksiyaları amplifikator aparatında (Gene Amp 9700 Applied Biosystems thermocycler) 3 dəq. müddətində 94°C temperaturda DNT-lərin denaturasiyası ilə başlanılmış, 3 mərhələdən - 1 dəq. 94°C, 2 dəq. 50°C və 5 dəq. 72°C – ibarət 45 tsiklin ardıcıl icra olunması ilə davam etdirilmiş və 30 dəq. müddətində 72°C temperaturda inkubasiya ilə tamamlanmışdır. Amplifikasiya məhsulları 2%-li aqaroza gəllərində 1x TAE buferində (40 mM Tris-asetat və 1 mM EDTA pH=8.0) elektroforez edilməklə ayrılmış, etidium bromid məhlulu ilə (0,05%-li) 15 dəq. müddətində rənglənmiş və UB transilluminatorda izlənilərək, şəkilləri Gel Doc 1000 kamerası və Bio-Rad-ın molekulyar analitik proqramı vasitəsilə çəkilmişdir. Aqaroza gəlləri üzərindəki amplifikasiya məhsullarının ölçüsü eyni bir gəldə elektroforez edilmiş 250 n.c.-nə malik DNT Ladder ilə müqayisə olunmaqla təyin olunmuşdur. Amplifikasiya məhsullarının uzunluğu PhotoCapt kompyuter proqramı vasitəsilə dəqiqliklə müəyyən edildikdən və patternlər təyin olunduqdan sonra genetik müxtəliflik indeksi (GM) hər bir praymer üçün aşağıdakı formul (Nei, 1978) əsasında hesablanmışdır:

$$H = 1 - \sum P_i^2$$

burada H-genetik müxtəliflik indeksi, Pi-i-ci patternin tezliyidir.

DNT fraqmentlərinin ölçüləri təyin edildikdən sonra onlar SPSS12 (IBM, Chicago, 2003) və POPGENE (Yeh and Boyle, 1977) kompyuter proqram paketlərinin müvafiq proqramları vasitəsilə analiz olunmuşlar.

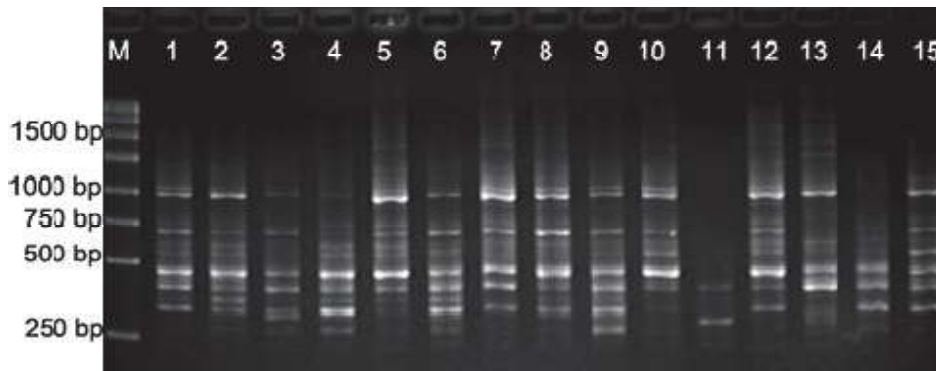
NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Tədqiqat obyektini kimi seçilmiş yumşaq buğda genotiplərinin nüvə genomunun mikrosatellit lokuslarının müxtəlifliyi haqqında aydın informasiyaya yiyələnmək məqsədilə 40 ISSR praymerindən istifadə edilmişdir. Bu ISSR praymerlərinin yarısı ilə ya amplifikasiya baş verməmiş, yaxud da amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentləri birmənalı olmamış və nümunələr arasındakı polimorfizmi müəyyən etməkdə yarasız olmuşlar. Bu səbəbdən tədqiqat işində Azərbaycanın yumşaq buğda genotiplərində genetik müxtəliflik digər 20 informativ ISSR praymerinin tətbiqi ilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentləri əsasında öyrənilmişdir. Cədvəl 2-də istifadə olunmuş 20 ISSR praymerinin adı, nukleotid ardıcılığı, bu praymerlərlə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin ümumi sayı, polimorf fraqmentlərin sayı, polimorfizmin faizi, genetik müxtəliflik indeksinin qiymətləri, həmçinin bir qrup markerlər əsasında identifikasiya olunmuş unikal genotiplərin adları verilmişdir.

20 ISSR praymeri vasitəsilə yumşaq buğda genotiplərində 350 DNT fraqmenti amplifikasiya olunmuşdur və onlardan yalnız 318-i (90,85%) polimorfluğu ilə seçilmişdir. Cədvəl 2-dən məlum

olur ki, amplifikasiya olunmuş DNT parçalarının hər bir praymerə uyğun orta sayı 17,5 olduğu halda, polimorf zolaqların hər bir praymerə uyğun orta sayı 15,9-a bərabərdir. 20 ISSR praymeri əsasında hesablanmış genetik müxtəliflik indeksinin orta qiyməti də xeyli böyükdür (0,863); bu isə tədqiqat olunmuş yumşaq buğda genotiplərində nüvə genomu səviyyəsində daxili sadə təkrarlanan ardıcılıqların kifayət qədər variabel olduğunu, istifadə olunmuş praymerlərin isə nümunələr arasındakı polimorfizmləri aşkar etməkdə olduqca effektiv olduqlarını göstərir. Amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin ən çox sayı (26, 24 və 23), xüsusilə polimorf fraqmentlərin maksimal miqdarı (22, 22 və 21) və Nei genetik müxtəliflik indeksinin ən yüksək qiymətləri (0,939, 0,928 və 0,932), uyğun olaraq, ISSR-8, ISSR-11 və ISSR-19 praymerlərinin tətbiqi ilə müəyyən edildiyindən, bu praymerlər yumşaq buğda populyasiyalarının genetik müxtəlifliyinin tədqiqində münasib və effektiv ISSR praymerləri kimi istifadə üçün təklif olunurlar. Bu nəticələrin əksinə olaraq, sadalanan parametrlərin ən kiçik qiymətləri ISSR-3 praymerindən istifadə nəticəsində əldə olunmuşdur. Qeyd etmək lazımdır ki, tədqiqatımızda istifadə olunmuş 20 ISSR praymeri vasitəsilə bütün buğda genotipləri identifikasiya olunmuş, başqa sözlə desək, bir-birlərindən tam surətdə fərqləndirilmişdir ki, bu da tətbiq edilmiş ISSR praymerlərinin buğda nümunələrinin tanınmasında yüksək əhəmiyyətliyi-yindən xəbər verir.

Şəkil 1-də nümunə olaraq ISSR-8, praymeri ilə 15 genotipdə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərini əks etdirən aqaroza gelinin təsviri verilmişdir. Həmçinin şəkil 2-5-də müxtəlif praymerlər vasitəsi ilə də amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentləri əks olunmuşdur.

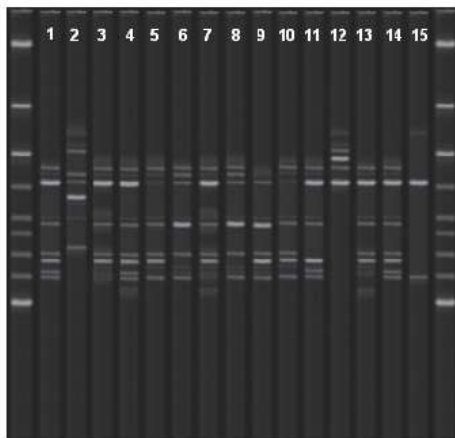


Şəkil 1. ISSR-8 praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərini əks etdirən gel.

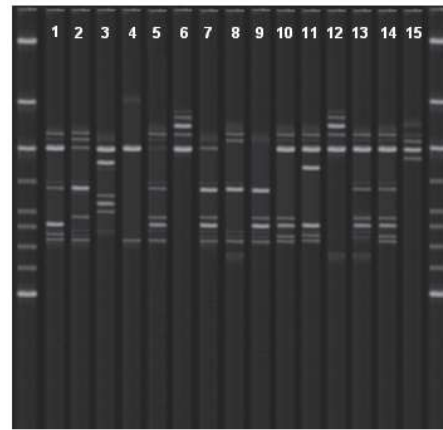
Cədvəl 2. İstifadə olunmuş ISSR praymerləri və onların aşkar etdikləri polimorfizmlər

Praymerlər	Ardıcılıqlar (5'-3')	BS	PS	P (%)	GM	Unikal identifikasiya edilmiş genotiplər
ISSR-1	ATA TAT ATA TAT ATA TT	12	11	91.67	0.763	-
ISSR-2	AGA GAG AGA GAG AGA GT	15	13	86.67	0.863	Ps. Meredionale 74
ISSR-3	GAG AGA GAG AGA GAG AT	10	8	80.00	0.675	Ps. Barbarossa 113
ISSR-4	CTC TCT CTC TCT CTC TT	18	16	88.89	0.837	Introitum 56
ISSR-5	GTG TGT GTG TGT GTG TA	14	12	85.71	0.838	-
ISSR-6	TCT CTC TCT CTC TCT CA	19	16	84.21	0.914	Introitum 56
ISSR-7	ACA CAC ACA CAC ACA CT	17	16	94.12	0.919	Qlaucolutescens 77
ISSR-8	TGT GTG TGT GTG TGT GA	26	22	84.61	0.939	Griseum 27
ISSR-9	ATA TAT ATA TAT ATA TYA	17	16	94.12	0.861	Gracum 1
ISSR-10	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	15	15	100.0	0.848	-
ISSR-11	TAT ATA TAT ATA TAT ART	23	21	91.30	0.932	Erithrospermum 86, Hostianum 125
ISSR-12	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	18	17	94.44	0.917	Fulfosinerum 313, Turcicum 127
ISSR-13	CTC TCT CTC TCT CTC TRA	17	16	94.12	0.851	Qlaucolutescens 77
ISSR-14	GTG TGT GTG TGT GTG TYC	18	16	88.89	0.909	-
ISSR-15	ACC ACC ACC ACC ACC ACC	19	17	89.47	0.831	Ps. Barbarossa 113
ISSR-17	GGCGGCGGCGGCGGC GGC	16	15	93.75	0.845	Fulfosinerum 313
ISSR-19	CTA GCT AGC TAG CTA G	24	22	91.67	0.928	Barbarossa 143, Meredionale 111, Qlaucolutescens 77
ISSR-22	TAG ATC TGA TAT CTG AAT TCCC	17	17	100.0	0.848	Murinum 319, Lutescens 187, Pyrothrix 169
ISSR-24	CAT GGT GTT GGT CAT TGT TCCA	15	14	93.33	0.849	-
ISSR-25	ACT TCC CCA CAG GTT AAC ACA	20	18	90.00	0.892	Delfi 311, Fulfosinerum 313, Introitum 56
Orta qiymət		17.5	15.9	90.85	0.863	

BS-amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin sayını; PS-polimorf DNT fraqmentlərinin sayını; P-polimorfizmi (%-lə); GM-genetik müxtəliflik indeksini; Y-quanin (G) və ya sitozini (C), R-adenin (A) və ya timini (T) ifadə edir.



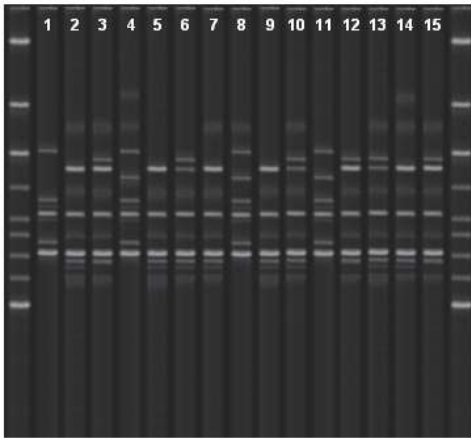
ISSR-19



ISSR-11

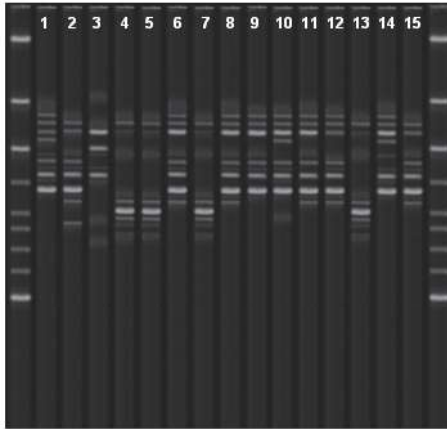
Şəkil 2. ISSR-19 praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərini əks etdirən gel.

Şəkil 3. ISSR-15 praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərini əks etdirən gel.



ISSR-25

Şəkil 4. ISSR-11 praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərini əks etdirən gel.



ISSR-15

Şəkil 5. ISSR-25 praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərini əks etdirən gel.

UPGMA (unweighted pair group with arithmetic average - riyazi orta qiymətli ölçüsüz qrup cütü) metodunun tətbiqi və Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin təyini ilə ISSR praymerləri vasitəsilə əldə olunmuş spektrlər əsasında klaster analizi aparılmış və bu analizin nəticəsini əks etdirən dendroqram qurulmuşdur (Şəkil 6). Müşahidə olunduğu kimi, dendroqramda bütün genotiplər Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin 0.5-ə bərabər qiymətində 5 əsas klasterdə qruplaşmışlar.

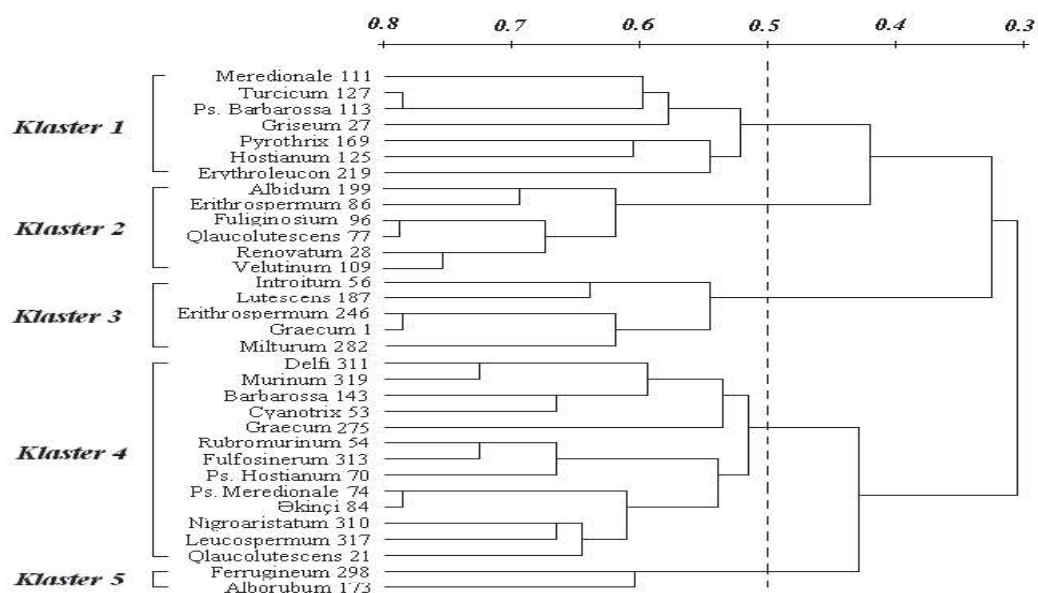
Dendroqramın təhlili nəticəsində məlum olur ki, 2-ci və 3-cü klasterlərdə qruplaşmış nümunələr arasında mənsub olduqları coğrafi bölgələrə görə asılılıq yoxdur, bunun əksinə olaraq, 1, 4 və 5-ci klasterlərdə lokallaşmış genotiplər arasında belə asılılıq müşahidə olunur. Başqa sözlə desək, Naxçıvan MR-na mənsub yumşaq buğda genotiplərinin 85%-i birinci klasterdə, Abşeron yarımadasına aid genotiplərin 70%-i isə 4-cü klasterdə birləşdirilmişdir. 5-ci klaster iki genotiptən ibarətdir ki, bu nümunələrin hər ikisi Şamaxı bölgəsinə mənsubdur. Bu nəticə göstərir ki, ISSR markerləri əsasında buğda genotipləri arasında müşahidə edilən genetik müxtəliflik qismən də olsa nümunələrin coğrafi yayılmasına uyğundur. Lakin genotiplərin nüvə genomunda mövcud olan daxili sadə təkrarlanan ardıcılıqlarının müxtəlifliyi ilə coğrafi müxtəliflik arasındakı uyğunluq tam və mükəmməl deyildir. Əlbəttə, əgər nəzərə alsaq ki, tədqiqata daxil edilmiş Naxçıvan MR və Abşeron yarımadasına mənsub buğda nümunələri ilə müqayisədə digər bölgələrə mənsub genotiplərin sayı olduqca azdır, həmçinin buğda bitkisinin nüvə genomu böyük həcmlidir (haploid buğda bitkisinin DNT-si $\sim 1.7 \times 10^{10}$ n.c.-dən ibarətdir) və cari tədqiqatla yumşaq buğda genotiplərinin nüvə genomunun olduqca kiçik hissəsinin (~ 450000 n.c.) müxtəlifliyi öyrənilmişdir, onda alınmış nəticənin məntiqə uyğunluğu, yəni ISSR markerləri əsasında müşahidə olunan genetik müxtəlifliyin tamamilə coğrafi strukturlu olmadığı aydın olur.

Bir çox tədqiqatçılar, o cümlədən Sofalian və həmkarları (Sofalian et al., 2008), Emel (Emel, 2010), Pradeep (Pradeep Reddy et al., 2002), Song (Song et al., 2002) buğda nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsində ISSR markerlərdən istifadə olunmasını tövsiyə etmişlər.

Beləliklə, ISSR praymerləri buğda rüşeym plazmasının tədqiqi, genotiplər arasındakı filogenetik əlaqələrinin araşdırılmasında yüksək effektiv praymerlər kimi istifadə olunmaları üçün tövsiyə olunurlar.

MİNNƏTDARLIQ

İşin yerinə yetirilməsində göstərdiyi köməkliyə görə İran İslam Respublikasının Ərdəbil Azad Universitetinin "Biotexnologiya" laboratoriyasının müdiri M.Zəifzadəyə öz dərin minnətdarlığımızı bildiririk.



Səkil 6. ISSR markerləri əsasında 33 yumşaq buğda genotipi arasındakı genetik qohumluğu əks etdirən dendroqram

ƏDƏBİYYAT

- Ciaffi M., Dominici L., Lafiandra D., Porceddu E.** (1992) Seed storage proteins of wild wheat progenitors and their relationships with technological properties. *Hereditas* **116**: 315-322.
- Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B.** (1983) A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* **1**: 19.
- Emel S.** (2010) Evaluation of ISSR markers to assess genetic variability and relationship among winter triticale (\times triticosecale wittmack) cultivars. *Pak. J. Bot.* **42(4)**: 2755-2763.
- Gold J., Harder D., Smith F.T., Aung T., Procnier J.** (1999) Development of a molecular marker for rust resistance genes Sr39 and Lr35 in wheat breeding lines. *Elec. Jour. of Biotech.* **2**: 1-6.
- Harlan J.R., Zohary D.** (1996) Cultivated einkorn = *Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum* (*T. m. monococcum*); wild einkorn = *T. m. boeoticum*; and *Triticum monococcum* L. subsp. *aegilopoides* (*T. m. aegilopoides*). *Sci.* **153**: 1074-1080.
- Kantety R.V., Zeng X., Bennetzen J., Zehr B.E.** (1995) Assessment of genetic diversity in dent and popcorn *Zea mays* (L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Molecular Breed.* **1**: 365-373.
- Li S., Jia J., Wei X., Zhang X., Li L., Chen H., Fan Y., Sun H., Zhao X., Lei T., Xu Y., Jiang F., Wang H., Li L.** (2007) A inter-varietal

genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Molecular Breed.* **20**: 167-187.

- Murashige T., Skoog F.** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultivars. *Physiol. Plant.* **15**: 437-497.
- Nagaoka T., Ogihara Y.** (1997) Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* **94**: 597-602.
- Nei M.** (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.
- Pradeep Reddy M., Sarla N., Siddiq E.A.** (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* **128**: 9-17.
- Simmons M.P., Zhang L.B., Webb C.T., Muller K.** (2007) A penalty of using anonymous dominant markers (AFLPs, ISSRs, and RAPDs) for phylogenetic inference. *Molecular Phylogene and Evol.* **42**: 528-542.
- Sofalian O., Chaparzadeh N., Javanmard A., Hejazi M.S.** (2002) Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of Iran based on ISSR molecular markers. *Int. J. Agricul. Biol.* **10(4)**: 466-468.
- Song Q.J., Fichus E.W., Cregan P.B.** (2002) Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **104**: 286-93.

Yeh F.C., Boyle T.J.B. (1997) POPGENE, Version 1.1. Department of Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Alberta.

Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* **20**: 176-183.

С.Б. Садыгова, Г.Б. Садыгов, С.Дж. Салаева, Дж.М. Оджаги, Р.А. Эшги

Оценка Полиморфизма Генотипов Мягкой Пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Азербайджана на Основе ISSR Маркеров

Целью настоящего исследования является изучение генетического разнообразия 33 генотипов мягкой пшеницы, произрастающих в Азербайджане, с использованием 20 ISSR праймеров. С использованием этих праймеров было амплифицировано 350 фрагментов ДНК, из которых 318 (90,55%) отличались по полиморфизму. С применением метода UPGMA, в результате оценки индекса генетического сходства Джаккарда, на основе спектров полученных с помощью ISSR праймеров был проведен кластерный анализ, при котором все генотипы были сгруппированы в 5 основных кластера. В результате исследования праймеры ISSR-8, ISSR-11 и ISSR-19 рекомендуются как эффективные ISSR праймеры при изучении генетического разнообразия популяций мягкой пшеницы, так как число амплифицированных фрагментов ДНК, число полиморфных фрагментов, а также оценка индекса генетического разнообразия, полученных с применением этих праймеров, была высока.

S.B. Sadigova, H.B. Sadigov, S.J. Salayeva, J.M. Ocaqi, R.A. Eshghi

The Evaluation of Polymorphism on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties of Azerbaijan by Using ISSR Markers

Genetic diversity of 33 wheat genotypes of Azerbaijan using 20 ISSR primers was studied in the current research. With these primers were amplified 350 DNA fragments, 318 (90.85%) of them exhibited polymorphism. Cluster analysis divided all genotypes into 5 main clusters according to Jaccard's similarity index. In total, the primers ISSR-8, ISSR-11 and ISSR-19 with the highest number of amplified bands, the highest number of polymorphic bands and the highest value of genetic diversity were recognized to be the most appropriate primers for studies related to genetic diversity of wheat populations.