

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
BOTANİKA İNSTİTUTU**

Əlyazması hüququnda

SAMİRƏ CƏFƏR qızı SALAYEVA

**AZƏRBAYCANIN XƏZƏRYANI BÖLGƏLƏRİNƏ MƏXSUS
ABORİGEN ÜZÜM SORTLARI VƏ YABANI
FORMALARININ GENETİK MÜXTƏLİFLİYİNİN
ÖYRƏNİLMƏSİ**

03.00.15 - Genetika

Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın

A V T O R E F E R A T I

BAKİ – 2011

Dissertasiya işi Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun “Meyvə bitkiləri” laboratoriyasında və Fransada INRA-nın Üzüm və Şərab Elmləri İnstitutunun “Üzümün ekofiziologiyası və funksional genomu” laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər: **biologiya elmləri doktoru, professor**
E.M.AXUNDOVA

Rəsmi opponətlər: **akademik**
U.K.ƏLƏKBƏROV

biologiya elmləri doktoru
İ.M.ŞAHMURADOV

Aparıcı təşkilat: **Azərbaycan Elmi-Tədqiqat Əkinçilik İnstitutu,**
“Bitki seleksiyası” şöbəsi

Dissertasiyanın müdafiəsi «_7_» «_10_» 2011-ci il saat ____
da Azərbaycan MEA Botanika İnstitutunun nəzdində fəaliyyət
göstərən D.01.061. Dissertasiya Şurasının yığıncağında aşağıdakı
ünvanda keçiriləcəkdir.

Ünvan: Bakı şəhəri, AZ1073, Badamdar şossesi 40

Dissertasiya ilə Azərbaycan Respublikası MEA-nın Botanika
İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq olar.

Dissertasiyanın avtoreferatı «____» «_____» 2011-ci il tarixində
göndərilmişdir.

D.01.061 Dissertasiya
Şurasının elmi katibi,
biologiya elmləri doktoru

S.C.İBADULLAYEVA

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı: Çoxsaylı süfrə və kişmiş sortları ilə təmsil olunan, şirə, konserv, dərman preparatları, müxtəlif növ qıcqırtma məhsullarının istehsalında istifadə edilən, həmçinin dekorativ məqsədlərlə becərilən üzüm bitkisi (*Vitis vinifera* L.) dünya bazarında özünəməxsus yer tutur [Commbe, 1992].

Son iki əsr ərzində bir çox alimlər, o cümlədən De Candolle [1855], Vavilov [1935], Negrul [1965], Zhukovsky [1975], Olmo [1976], Zohary və Hopf [1993] Qara dəniz, Qafqaz və Xəzər dənizi arasındakı regionun üzümün ilkin mümkün mənşə mərkəzi kimi münasibliyini göstərmişlər. Yerli şəraitə adaptasiya etmiş aborijen üzüm sortlarının (*V. vinifera* L. ssp. *sativa*) varlığı, tipik tükü (typica Negr.) və tüksüz yarpaqlı (aberrans Negr.) növmüxtəliflikləri ilə təmsil olunan yabanı üzüm formalarının (*V. vinifera* ssp. *sylvestris* Gmel.) geniş yayılması, habelə tarixi məlumatlar və arxeoloji qazıntıların nəticələri Azərbaycanın üzüm bitkisinin (*V. vinifera*) mənşə mərkəzlərindən biri olduğunu göstərir [Ampeloqrafiya, 1973].

Üzüm bitkisinin yetişdirilməsinin uzunmüddətli tarixi, xüsusilə, bu bitkinin qələmlərlə çoxaldılma üsulu bir çox biotiplərin, hətta sortların tanınmamasına və/yə dünyanın müxtəlif regionlarında fərqli adlarla identifikasiya olunmasına gətirib çıxartmışdır [Vignani et al., 2002].

Respublikamızın ərazisində yayılmış, morfoloji əlamətlərinə görə bir-birindən fərqlənən, ətraf mühitin mənfi amillərinə davamlı yabanı üzüm formaları, həmçinin yerli istifadəyə, uzunmüddətli saxlanılma, daşınma və qurudulmaya yararlı, yüksək keyfiyyətli süfrə və şərab sortları [Ampeloqrafiya, 1973; Negrul, 1946] qiymətli genetik dəyişkənliyin potensial mənbəyi kimi istifadə üçün qorunub saxlanılmalıdır. Mövcud genetik dəyişkənliyin qorunub saxlanılması və gələcəkdə effektiv istifadəsi üçün, ilkin olaraq, onun qiymətləndirilməsi və yayılma səviyyəsinin təyini (üzüm nümunələrinin identifikasiyası, pasportlaşdırılması, sortlar və yabanı formalar arasında genetik yaxınlığın təyin olunması) tələb olunur.

Müasir dövrdə istifadəsi geniş vüsət almış molekulyar marker texnologiyaları, *Vitis vinifera* növünə məxsus üzüm nümunələri arasında filogenetik əlaqələri təyin etməklə, genetik müxtəlifliyin tədqiqi, genotiplərin identifikasiyası, rüşeym plazmasının qiymətləndirilməsi, genom xəritələrinin təşkili kimi məsələlərin həllində ən etibarlı və səmərəli üsullardandır [Miguel et al., 2008; Maia, 2009; Kayani, 2008; Myles et al., 2010]. Ampeloqrafiya ilə molekulyar-genetik analizin

vəhdəti isə genetik yaxın genotipləri qruplaşdırmağa, seleksiya proqramları üçün genetik fərqli valideyn formalarını təsnif etməyə, həmçinin populyasiyaların müxtəlifliyi və genetik strukturu haqqında daha ətraflı informasiya toplamağa imkan verir.

Beləliklə, bir tərəfdən Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrində yayılmış üzüm bitkisinin zəngin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsinə olan obyektiv tələbat, digər tərəfdən isə Azərbaycanın yerli üzüm sortimentinin yaranmasına dair əsaslı informasiyanın yoxluğu, həmçinin Azərbaycana məxsus yabanı üzüm nümunələrinin üzümün mədəniləşdirmə prosesindəki rolunun araşdırılmaması dissertasiya işinin mövzusunun seçimini şərtləndirmişdir.

Tədqiqatın məqsədi və vəzifələri: Dissertasiya işində məqsəd Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsi olmuşdur.

Bu məqsəddən çıxış edərək, aparılan tədqiqatlarda qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

- Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin, biomorfoloji-kəmiyyət əlamətlərini öyrənməklə, çoxölçülü statistik proqramlar əsasında genetik müxtəlifliyinin tədqiqi və məhsuldarlığın əsas elementlərinin müəyyənləşdirilməsi;
- Populyasiya-statistik metodlar əsasında tədqiqat obyekti kimi seçilmiş üzüm nümunələri arasından məhsuldar formaların təyini və gələcəkdə seleksiya proqramlarında istifadə üçün perspektiv nümunələrin seçilməsi;
- Tədqiqatda istifadə olunan RAPD, nüvə və xloroplast mikrosatellit praymerlərinin effektivliyinin təyini, mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin nüvə və xloroplast genomlarında polimorfizmin səviyyəsinin qiymətləndirilməsi, genotiplərarası genetik oxşarlıq və genetik məsafələrin müəyyənləşdirilməsi;
- Molekulyar-genetik üsullar əsasında Abşeron yarımadası, Şabran, Quba və Nabran bölgələrinə məxsus üzüm populyasiyaları daxilində genetik müxtəlifliyin tədqiqi, populyasiyalar arasında genetik diferensiasiya qiyətləndirilməsi və populyasiyalararası genetik məsafələrin müəyyənləşdirilməsi;
- Üzüm nümunələrinin yarpaqlarında resveratrol antioksidantının miqdarının təyini və nümunələrdəki resveratrolun miqdarı ilə RAPD praymerləri ilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin hər biri arasında asılılığın olub-olmadığının öyrənilməsi;

- RAPD, nüvə və xloroplast mikrosatellit praymerləri vasitəsilə əldə olunmuş nəticələrin müqayisəli təhlili, üzüm nümunələrinin identifikasiyası, sinonim və omonim formaların təyini.

Elmi yeniliklər: Üzümün (*V.vinifera* L.) genetik müxtəlifliyinin araşdırılması bu sahədə Azərbaycanda ilk tədqiqat işidir və Xəzəryanı bölgələrə məxsus, qiymətli yabanı və mədəni üzüm nümunələrinin və onların genofondunun öyrənilməsinin nəzəri və praktiki cəhətdən əhəmiyyətli olmasını təsbit edir. Tədqiqat işində mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyi biomorfoloji-kəmiyyət əlamətləri ilə yanaşı, ilk dəfə olaraq, RAPD, nüvə və xloroplast mikrosatellit markerləri əsasında müqayisəli şəkildə öyrənilmiş, Abşeron, Şabran, Quba və Nabran bölgələrinə məxsus üzüm populyasiyalarının genetik strukturu çoxölçülü statistik metodlar vasitəsilə analiz olunmuşdur. İlk dəfə olaraq, molekulyar-genetik və populyasiya-statistik üsullardan kompleks şəkildə istifadə etməklə, Xəzəryanı bölgələrə məxsus mədəni və yabanı üzüm nümunələrində polimorfizmin səviyyəsi qiymətləndirilmiş, nümunələrarası genetik məsafə təyin edilmiş, nümunələrin qohumluq əlaqələri müəyyənləşdirilmiş, genotiplər identifikasiya olunmuşlar. Bunların əsasında Azərbaycanın üzüm bitkisinin mənşə mərkəzlərindən biri olması təsdiqlənmişdir. Nümunələrin identifikasiyası ölkəmizə məxsus üzüm genetik materialının respublikamıza mənsubluğunu sübut etməyə imkan verir.

İlk dəfə olaraq, Azərbaycana məxsus mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin yarpaqlarında resveratrol antioksidantının miqdarı ölçülmüş, OPF-18 RAPD praymeri ilə amplifikasiya olunmuş 2300 n.c. uzunluğunda olan DNT fraqmenti ilə resveratrol antioksidantının yüksək miqdarı arasında asılılığın mövcudluğu aşkar edilmişdir.

İşin praktiki dəyəri: Tədqiq olunmuş üzüm nümunələrində çoxölçülü statistik metodlarla biomorfoloji-kəmiyyət əlamətləri arasından məhsuldarlığın komponentlərinin müəyyən edilməsi seleksiya sahəsində əhəmiyyətli olub, məhsuldarlığın artmasına səbəb olacaq tədbirlərin tətbiqini proqnozlaşdırmağa imkan verir. Həm biomorfoloji-kəmiyyət əlamətləri, həm də bilavasitə nüvə və xloroplast genomları səviyyəsində nümunələrarası genetik məsafənin təyini, yabanı və mədəni üzüm genofondları arasındakı genetik müxtəlifliyin etibarlılığının müəyyənləşdirilməsi gələcəkdə həyata keçiriləcək seleksiya proseslərini istiqamətləndirməyə xidmət edir. Üzüm nümunələrinin identifikasiyası, sinonim formaların aşkar olunması onların etibarlı şəkildə təsnif

edilməsinə və uzunmüddətli təkamülün nəticəsi olan mövcud genetik müxtəlifliyin genbanklarda düzgün şəkildə *ex situ* mühafizəsinə imkan verir. Resveratrol antioksidantının yüksək miqdarı ilə RAPD markeri arasında asılılığın mövcudluğu cari DNT fraqmentinin SCAR markeri kimi zaman və vəsait sərfinə yol vermədən resveratrolun miqdarının çox olduğu genotiplərin tanınmasında tətbiqini mümkün edir. Tədqiqat işində Azərbaycana məxsus mədəni üzüm nümunələrinin yabanı əcdadları təyin olunmuşdur ki, bu da öyrənilmiş yabanı üzüm nümunələrinin müxtəlif məqsədlərlə həyata keçiriləcək genetik tədqiqatlarda istifadəsində faydalı olacaqdır. Molekulyar markerlərlə tədqiqat işinin optimallaşdırılması davamlı üzüm sortlarının yaradılmasına imkan verir. Bu istiqamətdə aparılacaq tədqiqatların son məqsədi qiymətli üzüm nümunələrinin faydalı genlərinin, həmçinin kəmiyyət əlamətlərinin genlərinin identifikasiyası və xəritələnməsinin mümkünlüyüdür.

Beləliklə, Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyi və genofondunun öyrənilməsi üzüm populyasiyalarının genetik strukturu, təkamülü, mənşəyi haqqında əsaslı informasiya verərək, Azərbaycanın üzüm rüşeym plazmasının gələcək idarəsi üçün çox faydalıdır.

Aprobasiya: Dissertasiya işinin əsas nəticələri akademik Həsən Əliyevin 100 illik yubileyinə həsr olunmuş “Ekologiya: təbiət və cəmiyyət problemləri” mövzusunda keçirilmiş beynəlxalq elmi konfransda (2007), Bakı Dövlət Universitetində “Biologiyanın müasir problemləri” mövzusunda keçirilmiş respublika elmi konfransında (2008), Bakı Dövlət Universitetində “Biologiyada elmi nailiyyətlər” mövzusunda keçirilmiş respublika elmi konfransında (2009), Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası aspirantlarının illik elmi konfransında (2009), Bakı Dövlət Universitetinin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş beynəlxalq elmi konfransda (2009), akademik Abdulla Qarayevin anadan olmasının 100 illik yubileyinə həsr olunmuş “XXI əsrdə biologiyanın aktual problemləri” mövzusunda keçirilmiş respublika elmi konfransında (2010), İtaliyanın Baloqna şəhərində keçirilmiş “Bitki genetik resurslarının genomuna dair 2-ci beynəlxalq simpozium”da (2010), İran İslam Respublikasının Tehran şəhərində keçirilmiş “11-ci bitki elmləri konqresi”ndə (2010), Bakı Dövlət Universitetində gənc alimlərin və tədqiqatçıların “Müasir biologiyanın nəzəri və tətbiqi problemləri” mövzusunda keçirilmiş beynəlxalq elmi konfransında (2011) məruzə edilmişdir.

Nəşrlər: Dissertasiya işinə aid 22 elmi əsər nəşr olunmuşdur.

Dissertasiyanın quruluşu və həcmi: Dissertasiya işi ümumi həcmi 185 səhifə olmaqla, giriş, 5 fəsil, yekun, nəticələr, tövsiyələr, istifadə edilmiş ədəbiyyat siyahısı və əlavələrdən ibarətdir. Dissertasiya işində 33 cədvəl və 31 şəkildən istifadə olunmuş, 212 ədəbiyyat mənbəyinə istinad edilmişdir.

2. TƏDQIQATIN MATERIALI VƏ METODİKASI

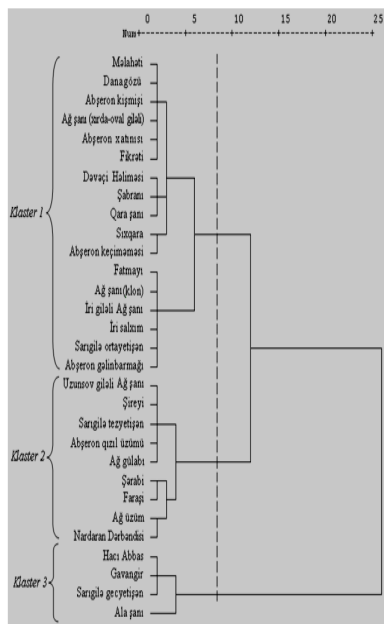
Tədqiqat obyektini kimi Abşeron yarımadasına, Şabran, Quba və Nabran bölgələrinə məxsus, *Vitis vinifera* növünə aid 65 yerli üzüm nümunəsindən (31 mədəni və 34 yabani) istifadə olunmuşdur. Bu üzüm genotipləri AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun və Az. ET Üzümçülük və Şərabçılıq İnstitutunun üzüm kolleksiyalarına aiddirlər. Üzüm nümunələrinin biomorfoloji-kəmiyyət əlamətləri beynəlxalq deskriptorlar [1983] əsasında tədqiq edilmiş, korrelyasiya, “path”, “principle component” (əsas komponent) və klaster kimi çoxölçülü statistik proqramlar əsasında analiz olunmuşdur. Üzüm nümunələrinin nüvələrindəki genetik müxtəlifliyi 27 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA - təsadüfi amplifikasiya olunmuş polimorf DNT) və 15 SSR (Simple Sequence Repeats - sadə ardıcılığın təkrarları) praymeri, xloroplastlarındakı genetik müxtəlifliyi isə 3 ccnp (consensus chloroplast microsatellite primers - konsensus xloroplast mikrosatellit praymerləri) ilə tədqiq etmək üçün total DNT S.Decroocq tərəfindən modifikasiya edilmiş Doyle və Doyle-nin [1990] CTAB protokolu əsasında üzüm qələmlərinin yaşıl toxumalarından ekstraksiya edilmiş, spektrofotometrə miqdarı təyin olunmuş, 1.5%-li aqaroza gellərində elektroforez edilməklə təmizlik dərəcəsi yoxlanılmış, müvafiq qatılıqda durulaşdırılmış və PZR (polimeraza zəncirvari reaksiyası) aparılmışdır. RAPD praymerləri ilə əldə olunmuş PZR məhsulları 2%-li aqaroza gellərində, SSR praymerləri və ccnp-lərlə əldə olunmuş PZR məhsulları isə 6%-li poliakrilamid gellərində elektroforetik analiz edilmişlər. Molekulyar-genetik analizlər Fransada INRA-nın (Institut National de la Recherche Agronomique) Üzüm və Şərab Elmləri İnstitutunun “Üzümün ekofiziologiyası və funksional genomu” laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir. Analizlərdə MSTATC, POPGENE, SPSS, STAT GRAPH, NTSYS, PhotoCapt, GENETIX, Arlequin və GIMP kompüter proqramlarından istifadə olunmuşdur.

3. Genetik müxtəlifliyin biomorfoloji-kəmiyyət əlamətləri əsasında çoxölçülü statistik metodlarla tədqiqi

Azərbaycanın Abşeron yarımadasına məxsus 30 mədəni, Şabran, Quba və Nabran bölgələrinə məxsus 30 yabanı üzüm nümunəsinin genetik müxtəlifliyini ampeloqrafik xüsusiyyətləri əsasında tədqiq etmək məqsədi ilə, uyğun olaraq, 23 və 22 kəmiyyət əlaməti üzərində çoxölçülü statistik təhlil aparılmışdır. Həm mədəni və həm də yabanı üzüm nümunələrində tədqiq olunan əlamətlər üzrə variasiya əmsalının qiymətləndirilməsi əlamətlərin əksəriyyətində genetik müxtəlifliyin mövcudluğunu göstərmişdir. Mədəni üzüm nümunələrində bir kolun məhsuldarlığı (41.82%), salxımın kütləsi (37.57%), bir zoğun məhsuldarlığı (33.57%), salxımda gilələrin sayı (27.86%) və toxumun sayı (27.58%) əlamətləri üzrə variasiya əmsalı böyük qiymətlər almaqla, sadalanan əlamətlərin genetik müxtəlifliyinin yüksək olduğunu göstərmişdir. Mədəni üzüm nümunələrində tədqiq olunan kəmiyyət əlamətlərinə “path” analizinin tətbiqi nəticəsində bir zoğun məhsuldarlığı, bir koldakı salxımların sayı və salxımın uzunluğu əlamətlərinin məhsuldarlığa bilavasitə, müsbət təsirlərinin yüksək olduğu (uyğun olaraq, 0.226, 0.81, 0.36) və onların mədəni üzüm nümunələrində məhsuldarlığın elementləri olmaları aşkar edildi.

Klaster analizi nəticəsində 23 kəmiyyət əlaməti əsasında Abşerona məxsus mədəni üzüm nümunələri arasındakı Evklid genetik məsafəsi təyin edilmiş, genotiplər 3 qrupa ayrılmış, Gavangir, Hacı Abbas, gecyetišən Sarıgilə və Ala şanı kimi yüksək məhsuldar sortlar eyni qrupda qruplaşmışlar (Şək. 3.1). “Principle component” analizi məhsuldarlığın artmasına səbəb olacaq müvafiq

genotipləri və əlamətləri təyin edərək, klaster analizinin müəyyən etdiyi Gavangir, Hacı Abbas, gecyetišən Sarıgilə və Ala şanı sortlarını bir daha yüksək məhsuldar sortlar kimi qiymətləndirmişdir.



Şək. 3.1. Mədəni üzüm nümunələrinin biomorfoloji-kəmiyyət əlamətləri əsasında qruplaşması

4. Üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin molekulyar-genetik markerlər əsasında tədqiqi

4.1. Genetik müxtəlifliyin RAPD markerləri əsasında qiymətləndirilməsi

27 RAPD praymerinin tətbiqi nəticəsində 65 üzüm genotipində 522 DNT fraqmenti amplifikasiya olunmuş, onlardan 464-ü 250-3000 n.c. ölçüsündə olmaqla, aqaroza gəlində daha aydın təzahür etmiş və yüksək təkrarlanma qabiliyyətinə malik olmaqla, statistik analizlərə daxil edilmişdir. Bu DNT parçalarının 157-si (33.84%) bütün nümunələrdə müşahidə olunmuş, 307-si (66.16%) isə polimorfluğu ilə seçilmişdir (Cədvəl 4.1).

Cədvəl 4.1

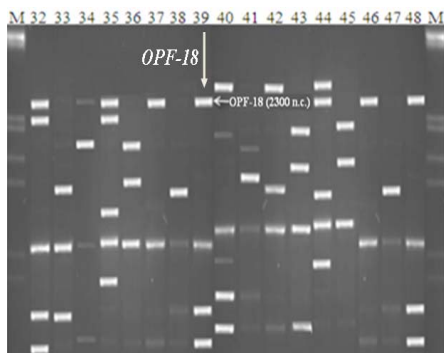
İstifadə olunmuş bəzi RAPD praymerləri ilə aşkar edilmiş polimorfizmlər

<i>Praymerlər</i>	<i>Zolaqların sayı</i>	<i>Analiz edilmiş zolaqlar</i>	<i>Polimorf zolaqlar</i>	<i>Polimorfluğun faizi</i>	<i>Genetik müxtəliflik indeksi</i>
<i>PHA-02</i>	18	17	12	70.59	0.852
<i>OPA-1</i>	10	8	5	62.5	0.615
<i>OPA-17</i>	18	14	13	92.85	0.909
<i>OPO-02</i>	19	18	10	55.55	0.889
<i>OPO-03</i>	24	21	12	57.14	0.884
<i>OPO-04</i>	28	20	13	65.00	0.866
<i>OPC-16</i>	24	24	18	75.00	0.927
<i>OPF-18</i>	17	17	16	94.12	0.914
<i>V-20</i>	12	12	9	75.00	0.624
<i>P-166</i>	24	24	17	70.83	0.885
<i>Total</i>	522	464	307	-----	-----
<i>Orta qiymət</i>	19.33	17.18	11.37	67.12	79.03

Polimorf DNT fraqmentlərinin yüksək sayı OPC-16, P-166 və OPF-18 praymerləri vasitəsilə, uyğun olaraq, 18, 17 və 16 zolaq olmaqla, ən az sayı isə OPA-1 praymerinin tətbiqi ilə aşkar edilmişdir. Genetik müxtəliflik indeksinin 0.927, 0.914 və 0.909-a bərabər ən yüksək qiymətləri, uyğun olaraq, OPC-16, OPF-18 və OPA-17 praymerlərindən istifadə nəticəsində əldə olunduğundan, onlar üzüm nümunələrini bir-birlərindən dəqiqliklə fərqləndirən praymerlər kimi qiymətləndirilmişlər və genetik müxtəlifliyi izah edəcək digər tədqiqatlarda istifadə edilmələri üçün tövsiyə olunurlar. Ən zəif genetik müxtəliflik isə OPA-1 (GM=0.615) və V-20 (GM=0.624) praymerləri vasitəsilə aşkar olunmuşdur.

OPF-18 praymerinin tətbiqi ilə amplifikasiya olunmuş 2300 n.c. uzunluğunda olan spesifik DNT fraqmenti ilə resveratrol antioksidantının nümunələrdəki yüksək miqdarı arasında “t student

test”i ilə statistik yolla təsdiqlənmiş asılılıq müəyyən edilmişdir (Şək. 4.1). Bu nəticə gələcəkdə cari fraqmentin SCAR (Sequence Characterized Amplified Region - nukleotid ardıcılığı xarakterizə olunmuş amplifikasiya edilmiş region) markerinə çevrilməklə, resveratrolun yüksək və ya az miqdarına malik genotiplərin qısa zaman fasiləsində identifikasiya olunmasında əhəmiyyətlidir.



Klaster analizi nəticəsində Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin 0.508-ə bərabər qiymətində bütün nümunələr 9 qrupa ayrılmışlar. RAPD markerlərinin klaster analizi nəinki tədqiq olunmuş mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyi arasında kəskin fərqlən olmadığını, həmçinin onların genetik müxtəlifliyi ilə coğrafi müxtəliflikləri arasında da müəyyən asılılığın olmadığını göstərdi.

Hər bir populyasiya daxilində təyin edilmiş Nei genetik müxtəliflik indeksinin qiymətlərinə əsasən, genetik müxtəlifliyin yüksək səviyyəsi Abşeron yarımadasına məxsus mədəni üzüm populyasiyasında (0.852), nisbətən aşağı səviyyəsi Nabran və Quba bölgələrinə məxsus yabanı üzüm populyasiyalarında (uyğun olaraq, 0.824 və 0.793) izlənilmiş, Şabran zonasına məxsus üzüm populyasiyası isə zəif genetik müxtəlifliklə (0.765) səciyyələnmişdir.

Nei genetik məsafə indeksi əsasında qurulmuş, üzüm populyasiyaları arasında genetik məsafəni təyin edən dendroqramda yalnız sortlardan ibarət üzüm populyasiyası tədqiq olunmuş üç yabanı üzüm populyasiyasından uzaq genetik məsafədə (0.36) yerləşməklə, onlardan xeyli fərqlənmişdir. Şabran və Nabran zonalarına aid olan üzüm populyasiyalarının bir-birindən çox kiçik genetik məsafədə (bu iki üzüm populyasiyası arasında Nei genetik oxşarlıq indeksi 0.95-ə bərabərdir) ayrılması bu iki zonaya məxsus nümunələrin genetik cəhətdən xeyli yaxın olduqlarını göstərir. Quba zonasına məxsus nümunələr isə digər yabanı üzüm populyasiyalarından nisbətən uzaqda (0.54) qruplaşmışlar.

4.2. Genetik müxtəlifliyin nüvə mikrosatellit lokusları əsasında tədqiqi

65 üzüm genotipinin nüvə genomunda 15 mikrosatellit lokusu üzrə 184 müxtəlif allel aşkar olunmuşdur (Cədvəl 4.2). Bu mikrosatellit lokuslarından VVMD24 üzrə 6 allel olmaqla ən zəif, VVMD36 üzrə isə 20 allel olmaqla ən yüksək variabellik müşahidə edilmişdir. Bütün lokuslar üzrə allellərin orta qiyməti 12.26-ya, effektiv allellərin orta sayı isə 5.79-a bərabər olmuşdur ki, bu da hər bir lokus üzrə nadir allellərin varlığından xəbər verir. Tədqiqatda hər bir lokusda rast gəlinmiş nadir allellər müəyyənləşdirilmiş (184 alleldən 80-ni nadir allellər qrupuna aiddir), onların mədəni və yabanı üzüm populyasiyalarında rastgəlmə tezlikləri hesablanmışdır. Nadir allellərin təyini genotiplərin tanınması və pasportlaşdırılmasında, üzüm kolleksiyalarının səciyyələndirilməsində, həmçinin seleksiya işlərində seleksiyaçının müəllif hüququnun qorunub saxlanılmasında əhəmiyyətlidir.

Cədvəl 4.2

15 nüvə mikrosatellit lokusu üzrə tədqiq olunmuş genetik parametrlər

Lokuslar	N _a	N _e	H _e	H _o	F _{ST}	N _m	PI	PIC	R
VVMD5	12	14.97	0.799	0.754	0.09	2.31	0.061	0.764	0.02
VVMD6	9	3.17	0.68	0.631	0.14	1.52	0.13	0.645	0.03
VVMD7	10	4.84	0.79	0.985	0.17	1.24	0.066	0.751	-0.1
VVMD8	11	4.87	0.79	0.492	0.15	1.37	0.065	0.73	0.17
VVMD21	11	3.45	0.71	0.723	0.12	1.79	0.12	0.61	-0.01
VVMD24	6	3.11	0.68	0.723	0.07	3.18	0.143	0.63	-0.07
VVMD25	12	4.67	0.79	0.615	0.07	2.93	0.067	0.71	0.097
VVMD27	14	4.56	0.786	0.677	0.17	1.21	0.047	0.72	0.06
VVMD28	18	9.63	0.892	0.8	0.08	2.87	0.018	0.855	0.048
VVMD31	9	4.34	0.769	0.754	0.05	4.41	0.088	0.63	0.025
VVMD32	13	8.06	0.876	0.815	0.12	1.86	0.027	0.76	0.032
VVMD36	20	9.13	0.89	0.738	0.07	3.34	0.019	0.81	0.08
VVS2	15	9.23	0.89	0.877	0.05	4.97	0.045	0.8	0.007
VrZAG62	9	6.85	0.85	0.769	0.15	1.38	0.039	0.75	0.04
VrZAG79	15	6	0.83	0.892	0.1	2.22	0.038	0.734	-0.03
Orta qiymət	12.26	5.79	0.802	0.749	0.11	2.44	0.065	0.726	0.052

N_a-allellərin sayı; N_e-effektiv allellərin sayı; H_e-gözlənilən heteroziqotluq; H_o-müşahidə olunan heteroziqotluq; F_{ST}-fiksasiya indeksi; N_m-gen axını; PI-(probability of identity) eynilik ehtimalı; PIC-(polymorphic information content) polimorf informasiyanın ölçüsü; r-"sıfır" allellərinin tezliyidir.

Müşahidə olunan heteroziqotluq və PIC kəmiyyətlərinin qiymətləndirilməsi nəticəsində genetik müxtəlifliyin ən yüksək qiyməti VVMD28, VVMD36 və VVS2 lokusları, ən kiçik qiyməti isə VVMD24 lokusu üzrə müəyyən edilmişdir. VVMD28 və VVMD36 praymerləri yüksək genetik müxtəlifliyi təyin etməklə yanaşı, PI-in kiçik qiymətləri ilə səciyyələnməklə mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik

müxtəlifliyinin təyində münasib SSR praymerləri kimi istifadə üçün tövsiyə olunurlar.

Azərbaycanın yabanı və mədəni üzüm nümunələrinin nüvə mikrosatellit lokusları əsasında genetik oxşarlığını müəyyən etmək və onların qohumluq əlaqələri haqqında təsəvvürləri formalaşdırmaq məqsədilə SPSS proqram paketi əsasında, UPGMA metodundan istifadə etməklə klaster analizi aparılmış və dendroqram qurulmuşdur. Dendroqramda mədəni və yabanı üzüm nümunələri 9 qrupda qruplaşmışlar. Dendroqramın təhlili və Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin təyini nəticəsində məlum olmuşdur ki, təsadüfi yolla seçilmiş Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus mədəni və yabanı üzüm genotiplərinin nüvə mikrosatellit lokuslarına görə genetik müxtəlifliyi nümunələrin coğrafi yayılmasına uyğundur.

Hər bir populyasiya daxilində hesablanmış allellərin sayı, effektiv allellərin sayı, gözlənilən heteroziqotluğun orta qiymətləri ən yüksək genetik müxtəlifliyin 17 genotipdən ibarət Şabran zonasına məxsus yabanı üzüm populyasiyasında, daha sonra isə 31 nümunədən ibarət Abşeron yarımadasına məxsus mədəni üzüm populyasiyasında mövcudluğunu göstərmişdir. Belə bir vəziyyət seleksiya zamanı nümunələrə göstərilmiş, “butulka boğazı” və “əsasçı”nın effektlərini xatırladan seçmə təzyiqi ilə izah oluna bilər.

Molekulyar müxtəlifliyin statistik analiz (AMOVA) üsulu vasitəsilə 4 populyasiya arasında təyin olunmuş müxtəlifliyin etibarlılığı təsdiq edilmiş, ən yüksək genetik fərqlənmənin yabanı və mədəni üzüm populyasiyalarının nümunələri (43.2%), bir qədər az isə Nabran, Quba və Şabran zonalarına məxsus üç yabanı populyasiyanın nümunələri arasında (38.2%) olduğu müəyyənləşdirilmişdir (Cədvəl 4.3).

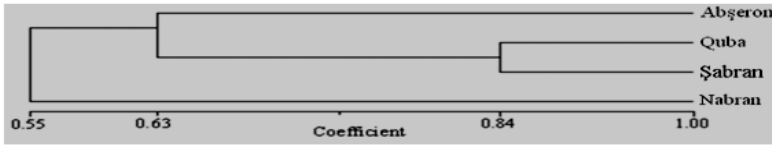
Cədvəl 4.3

15 nüvə SSR lokusu əsasında molekulyar müxtəlifliyin analizi

Dəyişkənlik mənbəyi	Sərbəstlik dərəcəsi	Müxtəlifliyin komponentləri	Müxtəliflik (%-lə)	P (ehtimallılıq)
Populyasiyalar arasında	61	2.18	18.6	< 0.00
Yabanı populyasiyalar arasında	2	4.49	38.2	< 0.00
Yabanı və mədəni populyasiyalar arasında	1	5.08	43.2	< 0.00
Ümumi	64	11.75		

Şək. 4.2-də əks olunmuş dendroqramda Nabran zonasına aid üzüm nümunələri digər bölgələrin üzüm nümunələrindən uzaqda

lokallaşdıqları halda, Quba və Şabran zonalarına məxsus üzüm nümunələri bir-birilərinə yaxın genetik məsafədə qruplaşmışlar.



Şek.4.2. Nüvə mikrosatellit lokuslarının allel müxtəlifliyi əsasında tədqiq olunan üzüm populyasiyaları arasında genetik məsafəni təyin edən dendrogram

4.3. Genetik müxtəlifliyin xloroplast mikrosatellit lokusları əsasında tədqiqi

Mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin filogenetik əlaqələrini və xloroplast genomu səviyyəsində genetik müxtəlifliyini öyrənmək məqsədilə tədqiq olunmuş xloroplast mikrosatellit lokuslarından ccmp3 və ccmp5-də 2 (uyğun olaraq, 106 n.c., 107 n.c. və 104 n.c., 105 n.c.), ccmp10-da isə 3 allel müxtəlifliyi (114 n.c., 115 n.c. və 116 n.c.) aşkar olunmuşdur. Hər bir lokusda müşahidə olunan allellərin ölçülərindəki fərq mononukleotid təkrarında A və ya T qalıqlarının say müxtəlifliyi ilə əlaqədardır [Arroyo-Garcia et al., 2002]. Tədqiqatımızda xloroplast mikrosatellit lokuslarında aşkar olunmuş allellərin 4 üzüm populyasiyasında rastgəlmə tezlikləri hesablanmışdır. Genotiplərdə tədqiq olunmuş xloroplast mikrosatellit lokuslarının allel kombinasiyaları əsasında 6 haplotip müəyyən edilmişdir. Haplotiplərin təyini nəticəsində məlum olmuşdur ki, tədqiqatda istifadə olunmuş 3 ccmp-dən yalnız 2-si informativdir; belə ki, ccmp3 və ccmp5-in hər biri vasitəsilə 2 müxtəlif ölçülü allel aşkar olunsa da, onların mədəni və yabanı üzüm genotiplərində paylanması eyni olmuş və yeni haplotipin əmələ gəlməsində rolu olmamışdır. Lakin üç praymerə görə təyin olunmuş Nei genetik müxtəliflik indeksinin orta qiymətləri təqribən eyni olmuşdur; bu nəticə genetik müxtəlifliyin öyrənilməsi, filogenetik əlaqələrin təyini istiqamətində aparılacaq tədqiqatlarda hər üç praymerin tətbiqini tövsiyə etməyə imkan verir.

Xloroplast haplotiplərinin genotiplərdə paylanması populyasiyalar daxilindəki müxtəlifliyi ifadə edir; tədqiq olunan populyasiyalar sırasında Abşeron yarımadasına məxsus üzüm nümunələrində 5 müxtəlif haplotipə (D, C, B, E və F) rast gəlinməsi bu ərazinin ən çox haplotip müxtəlifliyinə malik olduğunu göstərir (Cədvəl 4.4). Bu da öz növbəsində Abşeronun yerli mədəni üzüm nümunələrinin ana valideyni

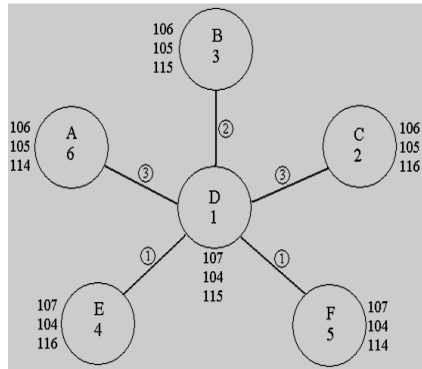
kimi seçilmiş müxtəlif bölgələrin yabanı üzüm nümunələrindən əmələ gəldiyini ehtimal etməyə imkan verir.

Cədvəl 4.4

Üzüm populyasiyalarında aşkar olunmuş xloroplast haplotipləri və onların rastgəlmə tezlikləri

Zonalar	Nümunələr	Populyasiyalarda haplotiplərin rastgəlmə tezliyi					
		1 (D)	2 (C)	3 (B)	4 (E)	5 (F)	6 (A)
Abşeron	31	61.3 (19)	16.13 (5)	6.45 (2)	6.45 (2)	9.67 (3)	0 (0)
Şabran	17	11.76 (2)	0 (0)	58.82 (10)	0 (0)	17.64 (3)	11.76 (2)
Nabran	8	12.5 (1)	87.5 (7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Quba	9	22.22 (2)	11.11 (1)	55.55 (5)	0 (0)	11.11 (1)	0 (0)
Yabanı üzüm populyasiyası	34	14.7 (5)	23.53 (8)	44.12 (15)	0 (0)	11.77 (4)	5.88 (2)
Orta qiymət		36.92 (24)	20.0 (13)	26.15 (17)	3.07 (2)	10.76 (7)	3.07 (2)

Haplotiplərin təyini və onlarla üzüm nümunələrinin coğrafi mənşəyi arasındakı asılılıqların araşdırılması nəticəsində məlum olmuşdur ki, D haplotipi tədqiq olunan 4 üzüm populyasiyasının hər birində mövcuddur (Cədvəl 4.4) və allellərinin nukleotid sayına görə (107 n.c., 104 n.c., 115 n.c.) digər haplotiplərdən ən az fərqlənən haplotipdir (Şək. 4.3). Bu fakta əsaslanaraq, cari haplotipin Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinin üzüm nümunələrində aşkar olunmuş digər 5 haplotip üçün mənşə olması ehtimal edilir. D haplotipinin tezliyinin məhz mədəni üzüm nümunələrdə yüksək olması (19 mədəni üzüm nümunəsində aşkar olunmuşdur) bu haplotipin üzüm nümunələrinin mədəniləşdirilmə prosesində müəyyən rol oynadığını göstərir.



Şək. 4.3. Allel ölçülərində pilləli fərqliliyi əks etdirən xloroplast haplotip şəbəkəsi; haplotipləri birləşdirən xətlər üzərindəki rəqəmlər nukleotidlərin sayında toplanmış fərqliliyi ifadə edir.

Üzüm nümunələrinin xloroplast mikrosatellit lokuslarının allel müxtəlifliyinin klaster analizi nəticəsində Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin 10-a bərabər məsafəsində genotiplər, onlarda aşkar olunmuş haplotip müxtəlifliyinə uyğun olaraq, 6 qrupda qruplaşmışlar. Klaster analizi əsasında qurulmuş dendroqram genotiplərin xloroplast DNT-nin mikrosatellit lokusları əsasında təyin olunmuş genetik müxtəlifliyinin onların coğrafi paylanmasına uyğun olmadığını göstərir.

Xloroplast mikrosatellit lokuslarının allel tezlikləri əsasında 4 üzüm populyasiyası arasındakı Nei genetik məsafəsinin təyini nəticəsində məlum olmuşdur ki, Quba və Şabran nümunələri Nei genetik məsafə indeksinin 0.07-ə bərabər qiymətində bir-birlərinə digər populyasiyaların nümunələrindən daha yaxındırlar. Abşeronun üzüm nümunələri Quba və Şabran nümunələrindən bir qədər uzaqda yerləşərək, Nei genetik məsafəsinin 0.316-a bərabər qiymətində onlardan ayrılmış, Nabran zonasına məxsus üzüm nümunələri ilə digər populyasiyalar arasındakı genetik məsafə isə 0.848-ə bərabər olmuşdur.

5. Azərbaycanın mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin müqayisəli öyrənilməsi və genotiplərin identifikasiyası

RAPD və xloroplast mikrosatellit markerləri əsasında tərtib olunmuş dendroqramlarda əksər klasterlərin həm mədəni, həm də yabanı üzüm nümunələrindən ibarət olması tədqiq olunan mədəni üzüm nümunələrinin əksəriyyətinin genetik cəhətdən yabanı nümunələrə oxşarlığını ifadə edir. Bu nəticə mədəni üzüm nümunələrinin onlara genetik yaxın olan yabanı üzüm nümunələrindən mənşə alması fikrini irəli sürməyə imkan verir. Başqa sözlə desək, RAPD və xloroplast mikrosatellit praymerləri vasitəsilə mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin identifikasiyası paleontoloji dəlilləri, həmçinin bir sıra tarixi qaynaqlarda üzümün mədəniləşdirilməsinə dair verilmiş məlumatları təsdiqləyərək, Azərbaycanın şimal-şərqini əhatə edən Xəzəryanı bölgələrin üzüm bitkisinin mədəniləşdirmə mərkəzlərindən biri olduğunu göstərir. Öyrənilmiş regionun üzüm bitkisinin müxtəlifliyinin mərkəzi olmasını sübut edən bu nəticə biotik və abiotik amillərə davamlı genlərin əldə olunmasında cari zonanın yabanı üzüm nümunələrinin əhəmiyyətliliyindən xəbər verir.

RAPD və xloroplast mikrosatellit praymerlərinin verdiyi informasiyadan fərqli olaraq, nüvə mikrosatellit lokuslarına görə yabanı və mədəni üzüm nümunələri arasında genetik oxşarlıq müəyyən edilməmişdir ki, bu da minilliklər ərzində təbii mühit şəraiti fonunda

ətraf mühit amillərinin nüvə genomuna, xüsusilə mikrosatellit lokuslara göstərdikləri müntəzəm təsirin nəticəsi kimi izah oluna bilər.

Tədqiqat obyektini kimi seçilmiş üzüm nümunələrinin RAPD, nüvə və xloroplast mikrosatellit markerlərinin klaster analizi əsasında əldə olunmuş dendroqramların və bu dendroqramların qurulmasında özül rolunu oynayan Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin qiymətlərinin müqayisəli təhlili nümunələrin identifikasiyasına xidmət etməklə yanaşı, genetik yaxın və ya uzaq olan genotiplərin mənşəyi haqqında təsəvvürün formalaşmasında, nümunələrin sinonim və omonimliyinin təyində də əhəmiyyətli olmuşdur. Üzüm kolleksiyasında “Ortayetişən Sarıgilə” və “Gecyetişən Sarıgilə” adları ilə saxlanılan iki sortun eyni RAPD, nüvə və xloroplast mikrosatellit markerlərinə malik olması onların sinonim nümunələr, yaxud da eyni bir sortun klon formaları olduğunu göstərir. Tezyetişən Sarıgilə sortu isə RAPD markerlərinə və nüvə mikrosatellit lokuslarının allel müxtəlifliyinə görə bu iki sortdan cüzi fərqlənsə də, onlar kimi D haplotipinə malik olmuşdur; bu isə Sarıgilə sortlarının eyni ana bitkinin nəsiləri olduqlarını sübut edir. Ağ şanın 4 variasiyasının (xırda-oval giləli, iri giləli, uzunsov giləli və klon forma) RAPD və nüvə mikrosatellit markerlərinin müqayisəsi bu sortların bir-birindən genotipcə kəskin fərqləndiyini, onların xloroplast mikrosatellit lokuslarının analizi isə xırda-oval giləli və uzunsov giləli Ağ şanı sortlarının D haplotipinə malik olmaqla eyni, iri giləli Ağ şanı və klon formanın isə uyğun olaraq, B və F haplotiplərinə malik olmaqla müxtəlif ana bitkilərdən əmələ gəldiyini göstərdi.

NƏTİCƏLƏR

1. Biomorfoloji-kəmiyyət əlamətlərinin “principle component” və klaster analizləri Gavangir, Hacı Abbas, gecyetişən Sarıgilə və Ala şanı sortlarının Azərbaycanın Abşeron yarımadasına məxsus 30 mədəni üzüm nümunəsi içərisində ən məhsuldar sortlar olduğunu göstərir. “Path” analizi vasitəsilə müəyyən edilmişdir ki, mədəni üzüm nümunələrində bir koldakı salxımların sayı, salxımın uzunluğu və bir zoğun məhsuldarlığı, yabanı üzüm genotiplərində isə bir zoğun məhsuldarlığı, həmçinin yüz gilənin kütləsi, yarpağın eni, gilələrin eni, gilələrin uzunluğu və məhsuldar zoğların sayı əlamətləri məhsuldarlığın əsas elementləridir.
2. Mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin nüvə genomu səviyyəsində yüksək genetik müxtəliflik OPC-16, OPF-18 və OPA-17 RAPD praymerlərindən istifadə nəticəsində aşkar olunmuşdur. RAPD

- praymerləri ilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin klaster analizi nəticəsində Cakkard genetik oxşarlıq indeksinin 0.508-ə bərabər qiymətində bütün nümunələr 9 qrupda birləşdirilmişlər.
3. OPF-18 RAPD praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş 2300 n.c. uzunluqlu spesifik DNT fraqmenti ilə resveratrol antioksidantının yüksək miqdarı arasında statistik cəhətdən önəmli asılılıq vardır.
 4. RAPD markerlərinə görə hesablanmış Nei genetik müxtəliflik indeksinə əsasən genetik müxtəliflik Abşeron yarımadasındakı mədəni üzüm populyasiyasında yüksək (0.852), Nabran və Quba bölgələrindəki yabanı üzüm populyasiyalarında nisbətən zəif (müvafiq olaraq, 0.824 və 0.793), Şabran zonasında isə daha aşağıdır (0.765).
 5. Nüvə mikrosatellit praymerlərindən istifadə nəticəsində VVMD28, VVMD36 və VVS2 lokuslarının genetik müxtəlifliyinin yüksək olduğu aşkar edilmişdir; nüvə mikrosatellit lokusları üzrə allellərin sayı, effektiv allellərin sayı, müşahidə olunan və gözlənilən heteroziqotluğun səviyyəsinə görə ən yüksək genetik müxtəliflik Şabran zonasının üzüm populyasiyasındadır.
 6. Nüvə mikrosatellit lokuslarındakı allel müxtəlifliklərinin klaster analizi nəticəsində 65 üzüm nümunəsi 9 qrupa ayrılmışdır; bu klasterləşmə, mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin coğrafi müxtəlifliyi ilə əsasən (yalnız 3 nümunə istisna olmaqla) uzlaşır.
 7. Molekulyar müxtəlifliyin statistik analiz (AMOVA) üsulu vasitəsilə nüvə mikrosatellit lokusları səviyyəsində 4 populyasiya arasında təyin olunmuş genetik müxtəlifliyin etibarlılığı təsdiqlənməklə yanaşı, mədəni və yabanı üzüm populyasiyaları arasındakı genetik fərqi 43.2%, yabanı populyasiyalar arasındakı fərqi isə 38.2% olduğu müəyyən edilmişdir.
 8. Xloroplast mikrosatellit praymerlərindən istifadə etməklə müəyyən olunmuş 6 haplotipdən yalnız birinə (D) Abşeron, Şabran, Quba və Nabran populyasiyalarının hamısında rast gəlinir və həmin haplotipin tezliyi yabanı üzüm populyasiyası ilə müqayisədə mədəni üzüm populyasiyasında ~4 dəfə yüksəkdir (uyğun olaraq, 14.7% və 61.3%). Bu fakt D haplotipinin üzümün mədəniləşdirmə prosesində müəyyən rol oynadığını güman etməyə əsas verir.
 9. Molekulyar-genetik analizlər nəticəsində gecyetišən və ortayetišən Sarıgilə sortlarının sinonim, yaxud eyni bir sortun klon formaları, Ağ şanın 4 variasiyasının isə genotipcə bir-birindən kəskin fərqlənən omonim nümunələr olmaları aşkar edilmişdir; xırda-oval

giləli və uzunsov giləli Ağ şanı sortları eyni ana bitkidən, iri giləli Ağ şanı və klon forma isə müxtəlif ana bitkilərdən başlanğıc almışlar.

10. Bu molekulyar-genetik araşdırmaların nəticələri Azərbaycanın Xəzəryanı - Abşeron, Şabran, Quba, Nabran - bölgələrinə məxsus üzüm genofondunun zənginliyini və yüksək genetik müxtəlifliyini göstərir, həmin ərazinin üzüm bitkisinin mədəniləşdirmə mərkəzlərindən biri olmasına dəlalət edən paleontoloji tapıntılarla və tarixi qaynaqlarla tam uzlaşır.

TÖVSIYƏLƏR

1. OPF-18 RAPD praymeri ilə amplifikasiya olunmuş, 2300 n.c. uzunluğunda olan DNT fraqmenti, SCAR markeri kimi, qısa zaman fasiləsində resveratrolun yüksək miqdarına malik genotiplərin identifikasiyasında istifadə oluna bilər.
2. OPC-16, OPF-18 və OPA-17 RAPD praymerləri, VVMD28 və VVMD36 nüvə mikrosatellit praymerləri, ccmp3, ccmp5 və ccmp10 xloroplast mikrosatellit praymerləri mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsində və filogenetik araşdırmalarda effektiv praymerlər kimi istifadə oluna bilərlər.

DİSSERTASIYANIN MÖVZUSU ÜZRƏ DƏRC EDİLMİŞ İŞLƏRİN SİYAHISI

1. **S.C.Salayeva, V.S.Səlimov.** Nabran ərazisində yayılmış bəzi yabanı üzüm formalarının səciyyəvi xüsusiyyətləri / Akademik Həsən Əliyevin 100 illik yubileyinə həsr olunmuş “Ekologiya: təbiət və cəmiyyət problemləri” mövzusunda beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 8-9 Noyabr, 2007, s. 284-285
2. **V.S.Səlimov, S.C.Salayeva.** Abşeronun gecyetišən, nadir, yerli üzüm sortları // Azərbaycan Aqrar Elmi. Bakı, 2007, №8-9, s. 54-56
3. **E.M.Axundova, S.C.Salayeva.** Üzüm bitkisində genetik müxtəlifliyin öyrənilməsində RAPD və SSR texnologiyalarının istifadəsi / “Biologiyanın müasir problemləri” mövzusunda respublika elmi konfransının materialları. “Bakı Universiteti” nəşriyyatı, 25-26 Aprel, 2008, s. 105
4. **S.C.Salayeva.** Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus üzüm nümunələrinin biomüxtəlifliyinin öyrənilməsi / “Biologiyanın müasir problemləri” mövzusunda respublika elmi konfransının materialları. “Bakı Universiteti” nəşriyyatı, 25-26 Aprel, 2008, s.106
5. **V.S.Səlimov, M.K.Musayev, S.C.Salayeva.** Abşeron bölgəsində yerli üzüm sortları genofondunun öyrənilməsi // Azərbaycan Aqrar Elmi. Bakı, 2008, №3, s. 65-68
6. **V.S.Səlimov, S.C.Salayeva, A.M.Əliyeva.** Abşeronun aborijen üzüm sortlarının məhsuldarlıq xüsusiyyətlərinə görə qiymətləndirilməsi // Azərbaycan Aqrar Elmi. Bakı, 2009, №1-2, s. 53-56
7. **S.C.Salayeva, E.M.Axundova.** Azərbaycana məxsus yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsi / “Biologiyada elmi nailiyyətlər” mövzusunda respublika elmi konfransının materialları. Bakı, 22-23 May, 2009, s. 117
8. **S.C.Salayeva.** Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus üzüm sortlarının genetik müxtəlifliyinin morfoloji əlamətlər əsasında öyrənilməsi / “Biologiyada elmi nailiyyətlər” mövzusunda respublika elmi konfransının materialları. Bakı, 22-23 May, 2009, s.118
9. **S.C.Salayeva.** Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinin üzüm sortlarının məhsuldarlığının və məhsuldarlıq elementlərinin path analiz metodu əsasında tədqiqi // Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Aspirantlarının Elmi Konfransının Materialları. Bakı, “Elm”, 2009, s. 271-274

10. **S.C.Salayeva, E.M.Axundova.** Azərbaycanın mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin SSR markerləri əsasında səciyyələndirilməsi / Bakı Dövlət Universitetinin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 30-31 Oktyabr, 2009, s. 409-410
11. **Samira Salayeva.** Determination of yield and its components in aborigine Azerbaijan grape cultivars by multiple statistical methods // SJYR Transaction on Agri Science. Islamic Azad University, Ardebil, 2009, Vol. 6, №4, p. 46-52
12. **Samira Salayeva, Ellada Akhundova, Vugar Salimov.** Genetic identification of wild grape germplasm belonged to Near-Caspian zones of Azerbaijan // SJYR Transaction on Agri Science. Islamic Azad University, Ardebil, 2009, Vol. 6, №4, p. 39-45
13. **S.C.Salayeva.** Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus üzüm sortlarının genetik müxtəlifliyinin morfoloji əlamətlər əsasında çoxölçülü statistik metodlarla öyrənilməsi // AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun elmi əsərləri. Bakı, “Elm”, 2009, I cild, s. 490-503
14. **S.C.Salayeva, E.M.Axundova, V.S.Səlimov.** Azərbaycana məxsus üzüm nümunələrinin qohumluq səviyyəsinin mikrosatellit lokusları əsasında klaster analizi ilə qiymətləndirilməsi / Akademik Abdulla Qarayevin anadan olmasının 100 illik yubileyinə həsr olunmuş “XXI əsrdə biologiyanın aktual problemləri” mövzusunda respublika elmi konfransının materialları. Bakı, 2-3 Aprel, 2010, s.373-374
15. **Salayeva S, Decroocq S, Akhundova E, Eshghi R, Ojaghi J.** Assessment of genetic diversity between local grapevine accessions and wild relatives belonging to Near-Caspian zone of Azerbaijan by SSR markers / 2nd International Symposium on Genomics of Plant Genetics Resources. Bologna, Italy, 24-27 April, 2010, p. 280
16. **S.C.Salayeva.** Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə aid mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin RAPD markerləri əsasında tədqiqi // Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Botanika İnstitutunun elmi əsərləri. Bakı, 2010, XXX cild, s. 409-415
17. **Samira Salayeva, Ellada Akhundova and Alamdar Mammadov.** Evaluation of polymorphism among cultivated and wild grapevine accessions // Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. 2010, Vol. 46, №2, p. 75-84

- 18. Javid Ojaghi, Samira Salayeva, Roham Eshghi, Mostafa Valizadeh, Muhammed Zaefizadeh, Stephane Decroocq.** The evaluation genetic diversity of aborigen grape varieties and its wild relatives belonged to Near-Caspian zone of Azerbaijan by using SSR markers / The 11th Iranian congress of crop sciences. Tehran, Iran, 24-25 July, 2010, p. 18
- 19. S.C.Salayeva, E.M.Axundova, Ə.Ç.Məmmədov, C.M.Ocaqi.** Azərbaycanın Xəzəryanı bölgələrinə məxsus üzüm sortları və yabanı formalarının genetik müxtəlifliyinin SSR markerləri əsasında tədqiqi // AMEA-nın Xəbərləri (biologiya elmləri). 2010, cild 65, № 1-2, s.116-122
- 20. T.M.Pənahov, V.S.Səlimov, S.C.Salayeva.** Abşeron bölgəsinə məxsus perspektiv aborigen üzüm sortları // Azərbaycan Aqrar Elmi. Bakı, 2010, №5, s. 21-22
- 21. S.Salayeva, S.Decroocq, S.Mariette and E. Akhundova.** Comparison of genetic diversity between cultivated and wild grape varieties originating from the near-Caspian zone of Azerbaijan // Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. 2010, Vol. 44, №4, p. 191-200
- 22. S.C.Salayeva, C.M.Ocaqi, R.Ə.Eşqi.** Azərbaycanın mədəni və yabanı üzüm nümunələrinin xloroplast mikrosatellit lokuslarındakı polimorfizmin qiymətləndirilməsi / Gənc alimlərin və tədqiqatçıların "Müasir biologiyanın nəzəri və tətbiqi problemləri" mövzusunda beynəlxalq elmi konfransının materialları. Bakı, 29-30 Aprel, 2011, s. 109-110

Изучение генетического разнообразия аборигенных сортов и диких форм винограда Прикаспийских регионов Азербайджана

Резюме

Диссертационная работа посвящена комплексному изучению генетического разнообразия 31 сорта и 34 диких форм винограда Прикаспийских регионов Азербайджана с использованием молекулярно-генетических, популяционно-статистических методов. Оценка коэффициента вариаций по биоморфологическим признакам, отличающимися широким спектром фенотипической вариабельности, обнаружило большое генетическое разнообразие. Path анализ позволил дифференцировать признаки, оказывающие непосредственное влияние на продуктивность сортов и диких форм. При помощи principle component анализа выделены генотипы, отличающиеся высокой продуктивностью. Кластерный анализ по всем биоморфологическим признакам объединил сорта в 3 группы, дикие формы в 4 группы, в тоже время сгруппировал растения по признаку их продуктивности в отдельную группу.

При анализе RAPD из проверенных 55 праймеров использовано 27. Высокий уровень изменчивости установлен при использовании OPC-16, OPF-18 и OPA-17 праймеров (соответственно, 0.927, 0.914 и 0.909), а низкий уровень при OPA-1 (0.615) и V-20 (0.624). Кластерным анализом, основанным на индексе сходства Джаккарда, генотипы были распределены на 9 основных групп. Использование RAPD праймеров позволило установить генетическое сходство и генетические расстояния между генотипами и идентифицировать сорта и дикие формы винограда. Самая высокая межпопуляционная генетическая изменчивость обнаружена у сортов Апшерона (0.852), что позволило заключить, что восточная часть Азербайджана является одним из важных центров происхождения винограда. С помощью RAPD анализа обнаружен специфический фрагмент, наличие которого коррелирует с высоким содержанием антиоксиданта ресвератрола в листьях винограда.

По 15 ядерным микросателлитным локусам выявлено 184 аллеля, при этом средняя оценка эффективных аллелей составляла 5.79. Оценка ожидаемой гетерогенности, а также значения PIC позволила установить, что наименьшей изменчивостью обладает локус VVMD24, а наиболее высокой изменчивостью локусы VVMD28,

VVMD36 и VVS2. Праймеры VVMD28 и VVMD36 также отличаются наименьшим значением PI и могут быть использованы как эффективные маркеры в идентификации ядерного генома винограда и для выявления генетического разнообразия среди культурных и диких форм. Среди изученных популяций высокой генетической изменчивостью и разнообразием отличаются дикие формы, произрастающие в Шабранском регионе, что было подтверждено показателями среднего количества аллелей, эффективных аллелей и оценкой ожидаемой гетерозиготности. Самое высокое значение генетического разнообразия, подтвержденное применением статистического метода анализа AMOVA, установлена между дикими и культурными популяциями (43.2%), менее значительное между образцами диких популяций Набраньской, Кубинской и Шабранской зон (38.2%). Кластерный анализ, проведенный по оценке SSR маркеров, позволил успешно сгруппировать растения винограда соответственно их географическому распространению, а также разделить их на дикие и культурные формы.

С целью установления филогенетической связи между культурными сортами и дикими формами были изучены 3 хлоропластных микросателлитных локуса (ssmr3, ssmr5, ssmr10), позволившие определить 7 типов аллелей, комбинации которых в генотипах выявили 6 гаплотипов. Наблюдаемое наименьшее отличие гаплотипа D от других гаплотипов, по-видимому, объясняется его первичным происхождением.

Результаты проведенных исследований позволяют заключить следующее: сорта и дикие формы винограда отличаются широким полиморфизмом и гетерогенностью; Прикаспийские регионы Азербайджана являются одним из основных центров происхождения винограда. Идентификация образцов винограда по биоморфологическим признакам, а также на уровне генома ядра и хлоропластов способствует правильной организации деятельности генбанков и подтверждает аборигенность изученных генотипов.

**Studying of genetic diversity of cultivated and wild grape varieties
originating from the Near-Caspian zones of Azerbaijan**

Summary

The present thesis was devoted to complex study of genetic diversity of 31 cultivated and 34 wild grape accessions originating from the Near-Caspian zones of Azerbaijan by molecular-genetic and population-statistics methods. Assessment of coefficient of variance over the biomorphological traits, differing with wide spectrum of phenotypic variability, detected high level of genetic diversity. The path analysis has allowed to differentiate the traits, which have direct effect on productivity of cultivars and wild forms. By principle component analysis the genotypes were selected differed with their high yield. The cluster analysis divided cultivars into three groups and wild grape accessions into four groups on the basis of their biomorphological traits, while the genotypes with high yield were placed in a separate group.

RAPD analysis was performed with 27 decamer primers selected from a total of 55 primers. The most discriminating primers were OPC-16, OPF-18 and OPA-17, which showed the highest values of genetic diversity (0.927, 0.914 and 0.909, respectively). The lowest values of diversity pertained to the markers OPA-1 (0.615) and V-20 (0.624). Cluster analysis divided all genotypes into nine main groups according to Jaccard's similarity index. Utilization of RAPD primers allowed to define genetic similarity and genetic distance between genotypes and identify cultivated and wild forms of grapevine. Within the studied Azerbaijan grape populations the highest genetic diversity belonged to the population of cultivated samples originating from the Absheron peninsula, with a diversity index 0.852. This result has allowed to conclude, that the east part of Azerbaijan is one of the important centres of an origin of grapevine. During the RAPD analysis a specific band was detected, which has a correlation with high resveratrol content in leaves of wild and cultivated grape accessions.

A total of 184 different alleles were found on fifteen microsatellite loci, while an average of effective number of alleles was 5.79. Assessment of the expected heterozygosity (H_e) and PIC parameters showed that, the VVMD24 locus possesses the lowest diversity, whereas VVMD28, VVMD36 and VVS2 have the highest diversity. The VVMD28 and VVMD36 primers, more than just showing highest diversity among studied samples, had lowest values of polymorphic identities (PI), which makes

them most appropriate markers for grape accession identification and determination of genetic diversity among cultivated and wild grape genotypes. The highest genetic diversity depicted by the highest value of expected heterozygosity, an average number of alleles and effective number of alleles, was observed in the wild grape population from the Shabran region. The highest value of genetic diversity affirmed by applying of AMOVA statistic analysis was determined between cultivated and wild grape populations (43.2%), less between wild populations belonged to Nabran, Guba and Shabran regions. Clustering analysis based on SSR markers data led to a successful separation between cultivated and wild accessions, as well as divided these varieties for their geographical origins.

For the purpose of determining of phylogenetic relationship between cultivars and wild forms of grapevine 3 chloroplast microsatellite loci (ccmp3, ccmp5, ccmp10) have been studied. At these loci 7 types of alleles were defined combinations which have revealed 6 haplotypes in genotypes. D haplotype were observed in all studied populations, also this haplotype differed for its least difference (on the base of its alleles sizes) from other haplotypes and this is apparently connected with its primary origin.

Results of the researches allow to conclude the followings: cultivars and wild forms of grapevine differ with wide polymorphism and heterogeneity; the Near-Caspian regions of Azerbaijan is one of the important centres of the domestication of grapevine. Identification of grape varieties in biomorphological traits, as well as in nuclear and chloroplast genome levels serves further management of Azerbaijan grape germplasm and affirms the aboriginal of studied genotypes.

На правах рукописи

САМИРА ДЖАФАР КЫЗЫ САЛАЕВА

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ
АБОРИГЕННЫХ СОРТОВ И ДИКИХ ФОРМ ВИНОГРАДА
ПРИКАСПИЙСКИХ РЕГИОНОВ АЗЕРБАЙДЖАНА**

03.00.15 – Генетика

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по биологическим наукам

БАКУ – 2011