

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ БОТАНИКИ

На правах рукописи

ВУСАЛЯ ИБРАГИМ КЫЗЫ ИЗЗАТУЛЛАЕВА

**ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ
КОЛЛЕКЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ САХАРНОЙ
СВЕКЛЫ**

2409.01 - Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по биологии

БАКУ-2015

Работа выполнена в Институте Генетических Ресурсов Национальной Академии Наук Азербайджана в лаборатории «Гермоплазмы» и в отделе «Биотехнологии»

Научный руководитель: член-корреспондент НАНА,
доктор аграрных наук
З.И. Акперов

Официальные оппоненты: д.б.н. проф. К.А. Алиева
д.ф.б.н. Н.Ш.Мустафаев

Ведущее учреждение: Научно- исследовательский Институт
Земледелия, лаборатория «Качества
зерна»

Защита диссертации состоится «09» «06» 2015 г. __ часов
на заседании Диссертационного совета D.01.061 при Институте
Ботаники НАНА.

Адрес: г. Баку, AZ1004, Бадамдарское шоссе,40

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
Ботаники НАНА

Автореферат разослан « » « » 2015 г.

**Ученый секретарь Диссертационного
совета D.01.061. ,
доктор биологических наук,
профессор**

С. Д. ИБАДУЛЛАЕВА

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы: Как известно, сахар является одним из основных продуктов питания на земле. Во всем мире он включается в различные продовольственные корзины, по которым судят об уровне жизни различных слоев населения. Его особая роль заключается в том, что он является одним из продуктов, обеспечивающих продовольственную безопасность страны. Сахарная свекла - единственная сельскохозяйственная культура, обеспечивающая сырьем производство сахара, содержание которого в корнеплодах доходит до 16-20 % [Буренин и др.,1998]. В связи с этим важной задачей, стоящей перед аграрным комплексом является повышение продуктивности и улучшение качества корнеплодов этой культуры. В нашей республике, в последние 2-3 года уделяется особое внимание выращиванию этой культуры.

Успехи селекции сахарной свеклы и перспективы ее развития определяются многими факторами, однако, решающее значение имеют следующие: генетические ресурсы селекции, ее исходный материал; средства, приемы и методы селекции, в том числе биотехнологические; методы генетического анализа и оценки генетического разнообразия селекционного материала [Федулова,1995]. Независимо от средств и методов селекции выявление генетического полиморфизма среди генотипов является одной из сложных частей селекционной работы. Необходимы новые подходы, которые позволили бы, оценивать генетическую конституцию растения непосредственно без скрещиваний и длительных процедур генетического анализа [Конарев,1993].

Совокупность новых знаний послужила фундаментом для рождения нового направления науки – селекции при помощи маркеров (Marker Assisted Selection – MAS). Методы молекулярного маркирования открывают широкие возможности для идентификации селекционного материала сахарной свеклы, тем самым позволяют решить проблему недостатка морфологических маркеров [Конарев, 2000]. Для оценки генетического разнообразия селекционного материала широко

используются такие молекулярно-генетические методы анализа, как RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats). С развитием RAPD-ISSR анализов были изучены многие виды растений. В практической селекции сахарной свеклы молекулярно - генетические маркеры изучены недостаточно и требуют более детальных и расширенных исследований. В связи с этим большую актуальность приобретает применение молекулярно-генетического метода для оценки генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы, а также поиск наиболее перспективных маркеров в изучении генетического полиморфизма сахарной свеклы.

Цель и задачи исследований.

Цель данной исследовательской работы заключалась в изучении генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы различного происхождения с использованием методов молекулярно-генетического анализа. Для достижения вышеуказанной цели, было предусмотрено решение следующих основных задач:

1. Изучение морфологических признаков коллекционных образцов сахарной свеклы и установление их связи с продуктивностью;
2. Оценка, группировка и отбор наиболее продуктивных образцов по хозяйственно-ценным признакам генотипов сахарной свеклы;
3. Анализ генетической variability образцов сахарной свеклы с использованием RAPD маркеров;
4. Выявление генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы с применением ISSR маркеров;
5. Определение генетического сходства и расстояния на основе RAPD, ISSR и комбинированных RAPD + ISSR данных и построение дендрограммы для выявления степени генетического родства у изученных генотипов;
6. Сравнительный анализ и оценка полиморфизма образцов сахарной свеклы на основе RAPD-ISSR профилей и выявление степени сходства между морфобиологическими и молекулярными данными.

Научная новизна исследований: Впервые в Азербайджане проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование, направленное на всестороннее изучение генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы различного происхождения с использованием ISSR- и RAPD-маркеров. Был выявлен высокий уровень геномного полиморфизма и определена степень родства геномов 42 образцов сахарной свеклы. Впервые в данном исследовании была проведена полная идентификация изученных нами селекционных материалов сахарной свеклы на основе RAPD - ISSR профилей геномной ДНК, полученных с помощью правильно отобранных праймеров. Изучено разнообразие генотипов сахарной свеклы с использованием ДНК маркеров - ISSR и RAPD и проведено сравнение кластеризаций по генетической близости, вычисленной на основании этих маркеров. На основе индекса генетического расстояния и сходства была отмечена связь между происхождением образцов и их молекулярной структурой. Проведенный Мантель тест выявил значительную корреляцию между морфологическими и молекулярными матрицами с 1% уровнем значимости.

Практическая ценность работы: Полученные результаты могут найти широкое применение в различных областях научной и хозяйственной деятельности. С помощью кластерного анализа выявлены образцы 9623, 9586, 9565, 7901 и 9585, Уладовская120 и G.W.H. как наиболее высокопродуктивные, а также имеющие превосходство и по другим биоморфологическим признакам. Установлено, что RAPD и ISSR праймеры выявляют высокий уровень полиморфизма между генотипами сахарной свеклы и, таким образом, предоставляют селекционеру дополнительную информацию о генетическом сходстве и различии селекционного материала, что позволит более обоснованно подбирать пары для скрещивания и тем самым послужит основой для ускорения селекционного процесса. Выявленные различия среди генотипов сахарной свеклы на основе молекулярного анализа являются основой для проведения их

надежной идентификации и паспортизации, а так же для защиты авторских прав селекционеров и тем самым вносят существенный вклад в развитие методов селекционного процесса. Апробированные 24 ISSR-RAPD праймеров в результате полной идентификации генотипов считаются перспективными и могут быть использованы в качестве инструмента для оценки генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы.

Апробация работы: Основные положения диссертации были доложены: на научной конференции аспирантов НАН Азербайджана (2006); на III Международной научной конференции «Инновационные проблемы современной биологии» (БГУ, 2013), на Республиканской научной конференции «Актуальные проблемы экологии и почвоведения» (БГУ, 2013), на I Международной научной конференции молодых ученых (Баку, Университет Кавказ, 2013), на X Международной научно-методической конференции посвященной памяти Академика РАСХН Немцева Н.С. «Интродукция нетрадиционных и редких растений» (Ульяновск, 2012), на заседаниях Ученого совета Института Генетических Ресурсов НАНА.

Публикация результатов исследований: По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ.

Объем и структура диссертации: Диссертационная работа изложена на 152 страницах, состоит из введения, пяти глав, основных выводов, обобщения результатов исследований, включает 25 таблиц, 35 рисунков. Список использованной литературы включает 171 источник, в том числе 166 иностранных.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили 42 образца сахарной свеклы рода *Beta* L., вида *Beta vulgaris* L. Образцы семян Европейского происхождения были получены из Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова, а генотипы Ирана из Научно-исследовательского института улучшения семян и растений (СПИИ) города Карадж. Семена

были посеяны на научно-исследовательской базе Института Генетических Ресурсов в 3-х повторностях методом RCBBD (Randomized Complete Block Design).

Анализ и выявление достоверности полученных экспериментальных данных был проведен с помощью компьютерной программы SPSS. Степень вариации и ее статистическая значимость по 5-ти количественным признакам оценивалась согласно методу ANOVA (Analysis of Variation). Морфологические признаки также были анализированы с помощью корреляционной, Path, PCA (основной компонент) и многомерной кластерной статистических методов.

С целью оценки генетического разнообразия у образцов сахарной свеклы были проведены: экстракция ДНК согласно СТАВ протоколу (Doyle,1990), полимеразная цепная реакция (ПЦР) и электрофоретический анализ. Полученные ДНК-продукты, амплифицированные с использованием RAPD-ISSR праймеров, анализировались на основе компьютерной программы PhotoCapt. Коэффициент генетического разнообразия вычислялся согласно формуле Вейра (1990). С применением метода UPGMA и программы SPSS и на основе индекса генетического сходства Джаккард (1908) и генетического расстояния Нея (1987) был проведен кластерный анализ и построена дендрограмма, определяющая степень генетического расстояния и сходства между изученными генотипами. Для оценки достоверности корреляции между морфологическими и молекулярными матрицами использовался Мантель-тест (1967).

3. СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ И ЕЕ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Оценка генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы на основе биоморфологических признаков

В данном исследовании с целью изучения генетической вариабельности 42-х генотипов сахарной свеклы, был проведен статистический анализ по пяти количественным (длина и ширина листовой пластинки, длина листового черешка,

количество листьев и масса корнеплода) признакам первого года жизни растений. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о широкой вариабельности изученного материала. Все пять количественных признаков обладали высоким коэффициентом наследуемости, что указывает на богатый генетический потенциал изученных биоморфологических признаков.

Таблица 3.1.1
Оценка прямого и косвенного влияния морфологических признаков на продуктивность

Признаки	Длина листьев	Ширина листьев	Длина черешка	Количество листьев	R
Длина листьев	0.534	-0.376	0.353	-0.008	0.502**
Ширина листьев	0.3754	-0.535	0.3474	-0.0126	0.175 ^{n.s}
Длина черешка	0.4379	-0.4323	0.430	-0.011	0.424**
Количество листьев	0.0897	-0.139	0.096	-0.049	-0.002 ^{n.s}

На основе корреляционного анализа была выявлена положительная значимая связь большинства изученных биоморфологических признаков с продуктивностью. С применением Path и корреляционного анализов были определены основные элементы продуктивности: длина и ширина листовой пластинки, длина листового черешка. По всем изученным морфологическим признакам наиболее высокими показателями преимущественно обладали генотипы Ирана. Выявлены генотипы с высокими значениями следующих признаков: длина листовой пластинки, длина листового черешка и продуктивность. Генотипы 9623 и 9565 выделились высокими значениями по таким признакам, как продуктивность и длина

листовой пластинки. Образцы 9585 и 9597-Р-26 отличились как по признаку длины листовой пластинки, так по показателю длины листового черешка. И наконец, генотип 9606 по всем трем вышеотмеченным признакам обладал высокими значениями. Таким образом, полученные результаты исследования являются весьма информативными и полезными для дальнейших селекционных работ.

С применением кластерного анализа согласно методу Ward все изученные генотипы по совокупности количественных морфологических признаков были классифицированы на 3 основные группы.

Кластер 1 отличается наибольшим числом образцов и объединяет в себе 47,6% всех изученных генотипов, в основном, Европейского происхождения. Образцы, сгруппированные в этом кластере, обладают наименьшим показателем продуктивности. Второй кластер включает 10 генотипов, то есть 24,0% всех изученных образцов и среди них в основном преобладают генотипы Ирана (33,3%) с незначительной вариацией среди признаков. Образцы во втором кластере были охарактеризованы как генотипы со средним уровнем продуктивности. В третьем кластере, составляющем 28,6% всех генотипов, также по количеству преобладают генотипы Ирана (48,0%) с широким пределом вариации для большинства признаков. Важно отметить, что в 3-ем кластере объединены генотипы Ирана, которые характеризуются высокими показателями признака длины листового черешка (9565, 9585, 9597-Р-26, 9588, 9606, 9625), листовой пластинки (9623, 9565, 9585, 9606, 9597-Р-26) и сравнительно высокопродуктивными образцами (9623, 9586, 9565, 7901 и 9585 (Иран), Уладовская 120 (Украина) и G.W.H (Болгария)). Таким образом, в результате кластерного анализа, каких-либо четких закономерностей в географическом распределении вариаций признаков нам не удалось обнаружить. Также была проведена оценка генетической вариабельности признаков второго года жизни растений и изучался процесс формирования урожая. В результате сравнительного анализа было выявлено отсутствие зависимости семенной продуктивности от корнеплодной.

Важной характеристикой продуктивности растений сахарной свеклы является сахаристость, которая у изученных образцов Европейского происхождения варьировала от 6,0% до 13,5%. Генотипы Ирана выделялись высоким содержанием сахара (15,0%-16,9%). По результатам проведенных исследований не наблюдалась зависимость сахаристости от массы корнеплода.

3.2. Оценка генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы с использованием RAPD маркеров

Для RAPD - анализа были апробированы 12 праймеров длиной 10 нуклеотидов. Диапазон длин полученных фрагментов ДНК составлял от 200 до 3000 п.н. Отобранные случайные праймеры при амплификации с геномной ДНК сахарной свеклы выявили 204 ПЦР – фрагментов, каждый из которых в среднем инициировал синтез 17 ампликонов. Среди обнаруженных 204 ПЦР - фрагментов, 190 (93,0%) оказались полиморфными, 14 - мономорфными (6,98 %). Частота встречаемости полиморфных фрагментов для изученного материала варьировала от 64,7 до 100% в зависимости от праймера и в среднем составила 93,0%. Анализ экспериментальных данных, полученных при использовании RAPD праймеров, показал 100% полиморфных локусов только для 6-ти (A04, A08, A09, A14, A19 и A20) из 12-ти апробированных праймеров. Процент полиморфности для праймеров OP-G6, A07, A05 и OP-S4 варьировал в пределах от 90,0 до 92,3%. Праймеры OP-S4 (0,93), A14 (0,93), A19 (0,92), OP-F15 (0,90), OP-G6 (0,89) и A09 (0,89) отличились высоким индексом генетического разнообразия. По результатам ДНК-амплификации праймером OP-S4 (1500 п.н.) был обнаружен специфический RAPD-фрагмент (рис.3.2.1), который встречается среди генотипов, обладающих высоким показателем признака длины листового черешка. Праймер OP-S4 был предложен как праймер SCAR (sequence characterized amplified region) для распознавания генотипов, отличающихся высоким показателем длины листового черешка.

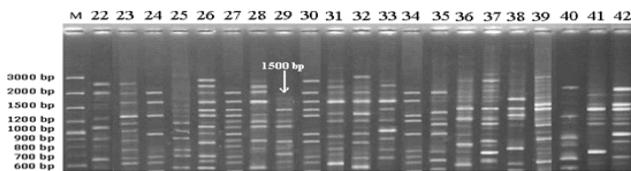


Рисунок 3.2.1 Спектры амплифицированных фрагментов ДНК с помощью праймера OP-S4.

На основании индекса генетического расстояния Нея генотипы сахарной свеклы были сгруппированы в 5-ти основных кластерах (рис. 3.2.2). Все генотипы из Ирана в соответствии с их географическим положением объединились в двух самостоятельных кластерах. Первый кластер объединяет в себе 76,0% генотипов, второй 28,0%. Уровень генетического расстояния по Ней варьировал от 0,03 до 0,23. В трех последующих кластерах группировка показала отсутствие конкретных связей между генетической организацией и географическим распространением генотипов. Таким образом, проведенные исследования позволили изучить генетическое разнообразие генотипов сахарной свеклы и выявить соответствие и различие растений по составу RAPD фрагментов.

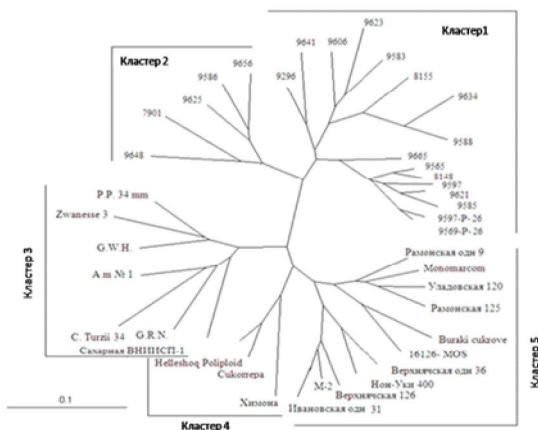


Рисунок 3.2.2 Дендрограмма, построенная на основе индекса генетического расстояния Нея с применением RAPD праймеров.

3.3. Анализ генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы с применением ISSR-маркеров

Из 24-х протестированных ISSR праймеров, было отобрано 12, с которыми проходила стабильная амплификация, и получались воспроизводимые результаты. Основная зона распределения фрагментов располагалась в диапазоне 500-3000 п.н. В результате анализа, 12 случайных праймеров длиной 18 нуклеотидов, при амплификации с геномной ДНК сахарной свеклы выявили 178 ПЦР - фрагментов. На основании анализа экспериментальных данных, полученных при использовании праймеров UBC859, UBC857, UBC855, UBC853 получено наибольшее количество амплифицированных фрагментов ДНК. Из 178 обнаруженных спектров 173 (97,2%) оказались полиморфными, 5- мономорфными (3,0%). Среднее число полиморфных фрагментов для каждого праймера составило 14,4. Определено варьирование количества полиморфных ISSR-локусов в зависимости от праймера: от 76,47 до 100 %. В среднем уровень полиморфизма, выявленный ISSR – анализом, составил 97,2%. Все использованные праймеры, за исключением праймеров UBC-857 и UBC-842, обладали высоким уровнем полиморфизма (100%). Для каждого праймера был вычислен индекс генетического разнообразия. Наиболее высокий индекс генетического разнообразия, варьирующим в пределах 0,92-0,97, определен для праймеров UBC-864, UBC-859, UBC-814, UBC-855, UBC-853, UBC-851, UBC-848, UBC-847 и UBC-845. Среднее значение индекса генетического разнообразия составляет 0,91, а это в свою очередь подтверждает эффективность апробированных ISSR праймеров. С использованием метода UPGMA (unweighted pair group with arithmetic average) для 42-х генотипов сахарной свеклы был определен индекс генетического сходства Джаккарда и построена дендрограмма кластерного анализа (рис.3.3.1). Генотипы сахарной свеклы были сгруппированы в 6-ти основных кластерах. Проведенный кластерный анализ, так же как и при RAPD анализе, выявил существенную связь лишь между некоторыми географическими регионами и ISSR-

паттернами. Связь между географическим происхождением и молекулярной структурой установлена лишь для генотипов из Ирана и Ук-раины. Остальные генотипы одинакового географического происхождения распределены в разных кластерах или же, генотипы из разных географических регионов локализованы в одном кластере.

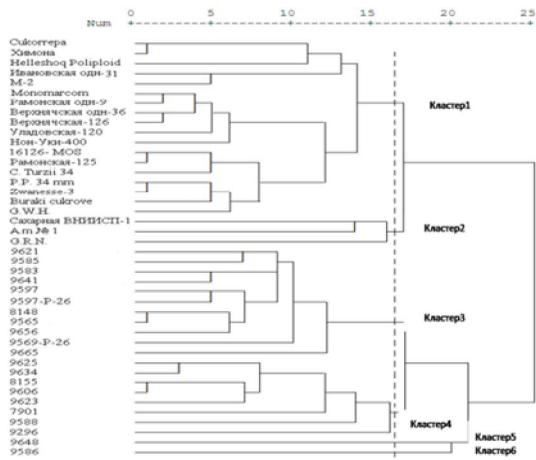


Рисунок 3.3.1 Дендрограмма, построенная на основе индекса генетического сходства Джаккарда с применением ISSR праймеров.

3.4. Сравнительная оценка генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы с применением молекулярных маркеров

Совместное использование двух методов маркирования (RAPD и ISSR) позволило провести достаточно тщательное и разностороннее изучение генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы. Индекс генетического разнообразия (ГР) среди 42-х генотипов сахарной свеклы был изучен и проанализирован по каждому RAPD и ISSR локусу и для каждого географического региона. На основе ISSR анализа, среди всех изученных генотипов наивысший индекс ГР был вычислен среди образцов Ирана и составил 0,94 (рис.3.4.1). При RAPD анализе высокий показатель был установлен для генотипов России (ГР=0,87), а генотипы Ирана

характеризовались сравнительно низкой оценкой генетического разнообразия ($GP=0,74$).

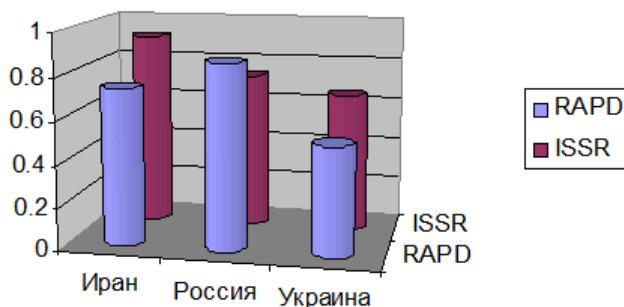


Рисунок 3.4.1 Генетическое разнообразие генотипов различного происхождения на основе RAPD и ISSR анализов

Для оценки достоверности корреляции между двумя матрицами основанной на RAPD и ISSR анализах был использован Мантель-тест. Был выявлен высокий уровень корреляции между матрицами с 1% уровнем значимости. Коэффициент корреляции (r) составил 0,92. Это указывает на то, что обе матрицы соответствуют друг другу и содержат схожую информацию. Дендрограммы, полученные с помощью разных систем молекулярного маркирования, отличались по числу, но были идентичны по составу кластеров, то есть был отмечен одинаковый характер кластеризации большинства образцов. Когда все бинарные данные, полученные на основе двух молекулярных систем, были рассчитаны, была создана исходная матрица для расчета генетического сходства и построена комбинированная ISSR+RAPD дендрограмма, которая наглядно демонстрирует генетическое разнообразие изученных генотипов. Для каждого кластера выявлены образцы с наименьшими и наибольшими генетическими дистанциями. Комбинированная ISSR + RAPD дендрограмма по числу кластеров была аналогична ISSR, то есть генотипы были сгруппированы в 6 основных кластерах, а по составу генотипов наиболее была сходна с RAPD дендрограммой. В целом,

проведенные исследования показывают принципиальную возможность совместного применения RAPD и ISSR маркеров для точного и достоверного генотипирования образцов сахарной свеклы.

3.5. Сравнение молекулярных и морфологических характеристик на основе Мантиль теста

Мантиль тест был выполнен между агрономическими показателями и ISSR – RAPD матрицами. В результате данного теста была установлена корреляция морфологических признаков с обеими молекулярными матрицами с 1% уровнем значимости. Коэффициент корреляции (r) между морфо-агрономическими показателями и RAPD - ISSR матрицами составил 0,506 и 0,508, соответственно. Таким образом, при одновременном использовании ДНК маркеров и морфологических признаков для классификации генотипов, можно получить множество маркерных фрагментов, которые в сочетании с имеющимися морфологическими данными могут лучше оценивать генетическое разнообразие генотипов по сравнению с использованием только количественных или же только качественных признаков.

3.6. Практическая оценка результатов научно-исследовательской работы

В ходе изучения коллекции сахарной свеклы нами было выделено разнообразие образцов, как по отдельным ценным признакам, так и по их комплексу. Полученные результаты могут быть использованы в следующих целях:

1. Высокопродуктивные генотипы сахарной свеклы предлагается использовать в селекционном процессе для получения гибридов урожайного направления.

2. Относительно высокосахаристые генотипы сахарной свеклы могут быть рекомендованы для использования в селекционном процессе с целью получения гибридов сахаристого направления.

3. Полученные генотипы, сочетающие в себе ценные морфобиологические признаки и высокие показатели

продуктивности можно использовать в качестве исходного материала.

4. Так как, эффективность гетерозисной селекции во многом зависит от того, насколько успешно подобраны родительские формы, отбор лучших родительских форм, их гибридизация может привести к получению гетерозисных гибридов.

Для практической селекции сахарной свеклы проведенная нами кластеризация генотипов на основе ДНК-анализа, отражающая степень генетического различия между ними, может быть с успехом использована при гибридизации с целью получения максимального спектра изменчивости в гибридном потомстве.

ВЫВОДЫ

1. На основе корреляционного анализа была выявлена положительная значимая связь большинства изученных биоморфологических признаков с продуктивностью. С применением Path анализа было установлено, что основными элементами продуктивности являются: длина и ширина листовой пластинки, а также длина листового черешка.
2. Выявлен и описан полиморфизм генотипов сахарной свеклы по RAPD и ISSR маркерам. Для обоих типов маркеров установлено 190 RAPD и 173 ISSR полиморфных локусов и определены эффективно работающие праймеры. В среднем, уровень полиморфизма, выявленный ISSR – анализом, составил 97,2%, для RAPD анализа 93,0% .
3. Был определен высокий индекс генетического разнообразия для ISSR праймеров (0,91) и относительно средний индекс для RAPD праймеров (0,86). На основе ISSR анализа, среди всех изученных генотипов наивысший ИГР был вычислен для образцов из Ирана (ИГР=0,94), при RAPD анализе высокий показатель был установлен для генотипов из России (ИГР=0,87).

4. С применением кластерного анализа на основе RAPD, ISSR, и ISSR + RAPD бинарных данных генотипы, в зависимости от географического происхождения, были сгруппированы в различных кластерах. Связь географического происхождения с генетической структурой выявлена лишь для генотипов Ирана и Украины, а генотипы России, Германии и Франции распределены в различных субкластерах и кластерах
5. В результате Мантель теста, была установлена корреляция между RAPD и ISSR матрицами с 1% уровнем значимости и вычислен коэффициент корреляции (r) равный 0,92. Коэффициент корреляции между морфо - агрономическими и RAPD - ISSR матрицами составил 0,506 и 0,508, соответственно.
6. Праймер OP-S4 был предложен как праймер SCAR для идентификации генотипов, отличающихся высоким показателем признака длины листового черешка.

РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выращивания в условиях Азербайджана, а также для использования в качестве исходного материала для селекции по комплексу признаков рекомендуем использовать следующие образцы: 9623, 9606, 9586, 9565, 7901 и 9585 (Иран), Уладовская 120 (Украина) и G.W.H (Болгария)
2. Использовать Праймер OP-S4 как праймер SCAR (sequence characterized amplified region) для идентификации генотипов, отличающихся высоким показателем признака длины листового черешка

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **В.И. Иззатуллаева.** Оценка коллекционных образцов сахарной свеклы различного происхождения в условиях Апшерона / Материалы научной конференции Аспирантов НАНА, 2006, с. 307-312
2. **В.И. Иззатуллаева.** Корреляционно-регрессионный анализ морфологических и хозяйственных признаков образцов сахарной свеклы // Azərbaycan Aqrar elmi, 2011, s. 208-210
3. **В.И. Иззатуллаева.** Эффективность применения ISSR маркеров при оценке генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы // АМЕА Genetik Ehtiyatlar Institutunun Elmi əsərləri, Bakı, 2012, №4, с.246-251
4. **В.И. Иззатуллаева.** Оценка количественных признаков образцов сахарной свеклы различного происхождения/ Материалы X международной конференции «Интродукция нетрадиционных и редких растений», посвященной памяти академика РАСХН Н.С. Немцева, Ульяновск, 2012, с.106-111
5. **V.I. Izzatullayeva, Z.I.Akparov.** Comparative assessment of genetic polymorphizm of Sugar beet genotypes based on RAPD and ISSR analysis // АМЕА Xəbərləri, Biologiya elmləri seriyası, Bakı., 2013, s. 104-108
6. **В.И. Иззатуллаева.** Изучение генетического разнообразия генотипов сахарной свеклы на основе биоморфологических признаков // Научно-практический журнал Сахарная свекла, Россия, 2013, №5, с. 39-42
7. **В.И. Иззатуллаева.** Оценка разнообразия генотипов сахарной свеклы с использованием RAPD маркеров // Вестник Российской академии с/х наук, Россия, 2013, №3, с. 35-37
8. **В.И. Иззатуллаева.** Оценка вариабельности биоморфологических признаков образцов сахарной свеклы / Akademik Zərifə Əliyevanın 90 illik yubileyinə həsr olunmuş “Müasir biologiyanın innovasiya problemləri” mövzusunda III Beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 2013, s.163-164

9. **В.И. Иззатуллаева, Д.М. Оджаги.** Оценка генетического сходства генотипов сахарной свеклы на основе кластерного анализа / Ümummilli lider Heydər Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş “XXI əsrdə ekologiya və torpaqşunaslıq elmlərinin aktual problemləri” mövzusunda Respublika elmi konfransın materialları. Bakı, 2013, s.94-96
10. **В.И. Иззатуллаева.** Оценка генетического разнообразия селекционных материалов сахарной свеклы на основе морфологических и молекулярных маркеров / Qafqaz Universiteti, Gənc tədqiqatçıların I beynəlxalq elmi konfransı, Bakı 2013, s.311-312
11. **V.İ. İzzatullayeva.** Relationship of morphological traits with RAPD and ISSR markers in sugar beet / International Plant Breeding Congress, Turkey, 2013, p.140
12. **V.İ. İzzatullayeva, S.M.Babayeva, Z.I.Akparov, J.M. Ojaghi, M.A.Abbasov.** Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet // Turkish Journal of Biology, Turkey, 2014, №38, p. 429-438

İzzətullayeva Vüsalə İbrahim qızı

Şəkər çuğunduru kolleksiya materialının genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsi

XÜLASƏ

Biomorfoloji və molekulyar-genetik analizlər əsasında 42 şəkər çuğunduru genotipinin genetik müxtəlifliyinin hərtərəfli qiymətləndirilməsi həyata keçirilmişdir. Statistik analizlər vasitəsilə 5 kəmiyyət əlaməti üzrə əhəmiyyətli müxtəlifliyin olması aşkar edilmişdir. Yarpaq ayasının uzunluğu və eni, həmçinin, yarpaq saplağının uzunluğu əlamətlərinin məhsuldarlığın əsas elementləri olduğu müəyyən edilmişdir. Molekulyar analizlər nəticəsində 12 RAPD praymerindən 6-sı və 12 ISSR praymerindən 10-u 100% polimorfizm nümayiş etdirməklə, effektiv hesab edilmişdir. RAPD praymerlərlə müəyyən edilmiş orta polimorfizm göstəricisi (93.02%) ISSR markerlərə (97.2%) nisbətən bir qədər aşağı olmuşdur. Bu, ISSR markerlərin RAPD-lə müqayisədə şəkər çuğunduru kolleksiyasının genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsi üçün daha səmərəli olmasını göstərir. Ümumilikdə, əksər genotiplər tədqiq olunan 24 RAPD və ISSR praymerlərə görə spesifik və unikal profillə malik olmuşdur. Hər bir RAPD (0.86) və ISSR (0.91) lokus, eləcə də hər bir coğrafi region üçün genetik müxtəliflik indeksi (GMİ) hesablanmışdır. Genetik məsafə və oxşarlıq əmsalları əsasında klaster analizi həyata keçirilmiş və RAPD, ISSR və PARD+ISSR dendroqramları tərtib edilmişdir. Dendroqramda İran mənşəli genotiplər müstəqil klaster əmələ gətirmişdir ki, bu da onların ümumi genetik fona malik olduğunu təsdiq edir. Genetik quruluşla mənşə arasında əlaqə yalnız İran və Ukrayna mənşəli genotiplər üçün müəyyən edilmişdir. Mantel testi ilə RAPD və ISSR matrislər arasında 1% əhəmiyyətli korrelyasiya ($r = 0,92^{**}$) aşkar edilmişdir. Morfo-aqronomik göstəricilərlə RAPD-ISSR matrislər arasında korrelyasiya əmsalı müvafiq olaraq, 0.506 və 0.508 təşkil etmişdir.

Evaluation of genetic diversity of sugar beet collection materials

SUMMARY

Comprehensive assessment of the genetic diversity of 42 sugar beet genotypes based on biomorphological and molecular - genetic analyzes was carried out. As a result of statistical analysis considerable variability was revealed in five quantitative traits. It was found out that the main elements of productivity were: the length of the leaf blade, leaf width and length of the leaf petiole. Studies using molecular markers, namely RAPD and ISSR facilitated the identification of genetic polymorphism among sugar beet genotypes. As a result of molecular analysis 6 of 12 RAPD and 10 of 12 ISSR primers were proved to be effective as identified 100% polymorphism for all studied loci. The average percentage of polymorphism for RAPD- primers was relatively lower (93.02 %) than in the ISSR (97.2%) analysis. This data indicates that ISSR markers were more useful for assessing genetic diversity in sugar beet collection than RAPDs. In general, most genotypes showed a specific and unique pattern by using 24 RAPD and ISSR primers. Genetic diversity index (GDI) was calculated for each RAPD and ISSR locus and for each geographical region. It was found that ISSR primers had relatively highest index of genetic diversity (0.91) than the RAPD primers (0.86). Cluster analysis was carried out based on the genetic distance and similarity coefficients and RAPD, ISSR and RAPD + ISSR dendrograms were built. Genotypes from Iran fell into separate clusters, indicating the common genetic background for them. Relation between genetic structure and geographical origin was revealed for genotypes from Ukraine and Iran. Mantel test revealed a correlation between RAPD and ISSR matrices with 1% significance level ($r = 0,92^{**}$). The correlation coefficient between the morpho - agronomic characteristics and RAPD - ISSR matrix was 0,506 and 0,508, respectively.

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
BOTANİKA İNSTİTUTU**

Əlyazması hüququnda

VÜSALƏ İBRAHİM QIZI İZZƏTULLAYEVA

**ŞƏKƏR ÇUĞUNDURU KOLLEKSİYA MATERIALININ
GENETİK MÜXTƏLİFLİYİNİN QIYMƏTLƏNDİRİLMƏSİ**

2409.01- Genetika

Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim olunmuş dissertasiyanın

AVTOREFERATI

BAKİ – 2015