E^b Genoma Malik *Thinopyrum bessarabicum* Yabanı Buğda Otu Növünün Xromosomlarının İdentifikasiyası Üçün Spesifik RAPD Markerlərin Müəyyənləşdirilməsi

Ə.Ç. Məmmədov

AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutu, Mətbuat prostekti, 2a, Bakı AZ1073, Azərbaycan; E-mail: amamedov_ib@yahoo.co.uk

Yabanı buğda otu *Thinopyrum bessarabicum* $(J = J^b = E^b)$ Á. Löve *Triticum* buğda cinsinə yaxın olan çox əhəmiyyətli cinsdir. *Thinopyrum bessarabicum* Qara və Aralıq dənizləri ərazisində 350 mM NaCl duzu qatılığında özünün həyat tsiklini tamamlamaq qabiliyyəti olan təbii alaq otudur. Tədqiqatlar nəticəsində *Thinopyrum bessarabicum-un* E^b genomunun 1E^b, 2E^b, 5E^b, 4E^b və 7E^b xromosomların hər birinin identifikasiyası üçün spesifik RAPD markerlər müəyyən edilmişdir amma, 3E^b və 6E^b xromosomlar üçün spesifik RAPD praymerlər işlənib hazırlanmayıb. Aparılan tədqiqat işinin məqsədi *Thinopyrum bessarabicum-un* E^b genomunun 3E^b və 6E^b xromosomlarının identifikasiyası üçün spesifik RAPD markerlərin müəyyən edilməsidir.

Açar sözlər: Thinopyrum bessarabicum, E^b genom, xromosomlar, RAPD marker, hibridlər, disomik əlavə olunmuş xətlər, PZR

GİRİŞ

Yabanı Thinopyrum bessarabicum (Savul & Rayss) Å. Löve $(\mathbf{J} = \mathbf{J}^{\mathbf{b}} = \mathbf{E}^{\mathbf{b}})$ buğda otu yem və mədəni dənli bitkilər üçün mühüm genlərin mənbəyi və ehtiyatıdır. Onların xromosom təşkili haqqında biliklər rüşeym plazmaların yaxşılaşdırılması proqramlarında bu mühüm genofondun istifadəsi ücün həlledici əhəmiyyətə malikdir. Triticeae ailəsinin genom səviyyəsində təsnifatlaşdırılması bu cinsə yalnız Th. bessarabicum (Savul. & Rayss) Á. Löve $(2n=2x=14, E^b E^b)$ və *Th. elongatum* (Host) D. (Dewey, 1984) (syn. Lophopyrum elongatum; 2n=2x=14, E^eE^e) kimi iki diploid növün daxil olmasını göstərir. Hər iki E^b və E genom duzadavamlılıq (Dvorak and Ross 1986) və sünbülün fuzarioz (Fusarium head blight) göbələk xəstəliyi daxil olmaqla bir neçə xəstəliyə davamlılıq (Shen and Ohm, 2007; Qi et al., 2010; Zhang et al., 2002) kimi arzu olunan aqronomik əlamətlərin mənbəyidir. Thinopyrum bessarabicum Qara dəniz və Aralıq dənizi bölgələrində 350 mM NaCl duzu qatılığında (Gorham et al., 1985) özünün həyat tsiklini tamamlamaq qabiliyyəti olan təbii alaq otudur. Thinopyrum bessarabicum (2n=2x=14, JJ yaxud E^bE^b) duza tolerantlığına və xəstəliklərə davamlılığına görə buğdanın vaxsılasdırıması ücün mühüm genetik ehtiyatdır. Buğda-Th.bessarabicum translokasiya xətləri onların buğdanın yaxşılaşdırılmasında praktiki istifadəsini asanlaşdırmışdır. Tetraploid buğda T.*durum* Desf. (2n = 4x = 28, AABB) və *Th. bessa*rabicum arasında çarpazlaşma nəticəsində alınmış amfidiploid *Tritipyrum* (2n=6x=42, AABBE^bE^b) buğdanın duzadavamlılığının yaxşılaşdırılması üçün

bu əlamətin introqressiyasında yeni potensiala malik amfidiploiddir (Alonso and Kimber, 1980; King et al., 1997; Chetan et al., 2016). Triticeae ailəsinin müxtəlif cins və növlərinin C-zolaqlı kariotipləşdirilməsi aparılmış və bir çox növlərin genomlarının fərdi xromosomları identifikasiya edilmişdir (Mirzaghaderi et al., 2010). Kariotip analiz məlumatlarının Triticeae ailəsinin xromosomlarının təkamülünün analizində mühüm əhəmiyyəti vardır və buğdanın yaxşılaşdırılmasında yad xromosomların genom manipulyasiyasında əhəmiyyətlidir. Bəzi ilkin məlumatlarda Th.bessarabicum xromosomlarının sitogenetik identifikasiyası haqqında məlumat vardır (Endo and Gill, 1984; Jauhar 1992; William and Mujeeb-Kazi, 1993). Lakin, bu analizlər bir metodla məhdudlaşmış və yaxud Th. bessarabicum və Tritipyrum xromosomları üçün hər ikisi birlikdə tətbig olunmamışdır.

Genomun təyini üçün yeni tip markerlər (EST-SSR, hədəf ardıcıllıqların expressiyası-sadə ardıcıllıqların təkrarı) *Thinopyrum bessarabicum, T. elongatum, T. junceum* xromosomları üçün hazırlanmış və bu markerlərlə onlara aid olan xromosomlar üç seriya *buğda-Thinopyrum* xətlərində aşkar edilmişdir (Wang et al., 2010). EST-SSR markerlər genlərin müqayisəli xəritələşdirilməsi, xromosomların izlənməsi, taksonomik tədqiqatlar, genin introqressiyası və sortun identifikasiyası zamanı faydalıdır.

Həmçinin, bərk buğda *Triticum durum* x *Thi-nopyrum bessarabicum ilə* hibridlərdə və *Thinopy-rum* xromosomlu əlavə xətlərdə (monosomik yaxud disomik) E^b genomun xromosomlarının identifikasiyası üçün molekulyar markerlər (*Xedm74 -1 E^b*, *Xedm8 -2 və 3 E^b*, *Xedm54-5 E^b*, *Xedm80 -6 E^b və* $Xedm34-7 E^b$) işlənib hazırlanmış, lakin 4 E^b xromosomunu aydın xarakterizə edən marker tapılmamışdır (Ji-Yi et al., 2002; Jauhar, 1992; 2013).

Aparılan tədqiqat işi nəticəsində yoxlanılan çoxlu sayda RAPD markerlər içərisindən *Thinopyrum bessarabicum-un* E^b genomun 1E^b və 4E^b xromosomları üçün əlavə, yeni 3E^b və 6E^b xromosomların identifikasiyası üçün tamamilə yeni spesifik RAPD markerlər müəyyən olunmuşdur. Bu RAPD markerlər müxtəlif hibridlərin və ya xromosom əlavə edilmiş xətlərin genomunda xromosomların identifikasiyasında istifadə oluna bilər.

MATERİAL VƏ METODLAR

Bitki materialları

Yabanı çoxillik diploid buğda otu *Thinopyrum bessarabicum-un* (Savul. & Rayss) Á.Löve (2n=2x=14; JJ yaxud E^bE^b genom) 1E^b-dən 7E^b qədər ayrı-ayrı xromosom cütlərinin heksaploid yumşaq buğdanın *Triticum aestivum* L. "Chinese Spring" (6n=6x=42; AABBDD genomlar) genomuna daxil edilmiş *T.aestivum-un* 7 disomik əlavə olunmuş xətlərinin (CIMMYT, 2x=44) toxumları Yem Bitkilərinin və Otlaqların Tədqiqi Laboratoriyasının istixanasında, 20-24°C temperaturda, 16 saat işıq və 8 saat qaranlıq şəraitdə vegetasiya qablarında əkilərək (FRRL, Logan, Utah, USA becərilmişdir (Cədvəl 1).)

Yabanı buğda otu və yumşaq buğda cücərtilərindən genom DNT-nin ayrılması

Yaşıl yarpaqlardan genom DNT-si CTAB metodu ilə ayrılmışdır (Doyle and Doyle, 1990). Yaşıl yarpaqlar fərdi yığılır, yuyulduqdan sonra filtr kağızı üzərində qurudulur, 0.5 q xırda doğranmış yarpaqlar 2 ml kreogen mühitə davamlı tyubun içərisinə pinsetlə yığılır və hər tyuba 2-3 ədəd kiçik polad diyircək əlavə edilir. Plastik tyubun qapağı möhkəm bağlandıqdan sonra ehtiyyatla içərisində -186°C maye azot olan plastik qaba yerləşdirilir. Maye azota daxil edilmiş tyublar pinset vasitəsilə çıxarılaraq Vortex aparatında maksimum 20-25 saniyə müddətində çox yüksək sürətlə silkələnir, sonra isə təkrarən maye azota daxil edilir. Yarpaq toxuması toz halına keçənə qədər bu proses bir neçə dəfə təkrarlanır.

Öncədən hazırlanmış 2%-li CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) ekstraksiya buferi (100 mM Tris- base, pH-8,0; 20 mM EDTA,pH-8,0; 1,4 M NaCl və 1% PVP -Polyvinylpyrralidone) su termostatında 60 °C qızdırılır, 1 ml götürərək toz halına salınmış yarpaq toxumasının üzərinə əlavə edilir və tyublar yenidən vorteksdə bir neçə saniyə ərzində garışdırılır. Polad diyircəklər magnit vasitəsilə tyubdan kənarlaşdırılır, hər bir tyuba 0, 4 ml xloroform əlavə edilir və arabir astaca qarışdırılır. Tyublar 60°C temperaturlu su hamamında 10 dəqiqə müddətində inkubasiya edilir. İnkubasiya olunmuş tyublar su hamamından çıxarılaraq 10 dəgiqə ərzində 14000 dəq/dövr sentrifuqada çökdürülür. Yeni steril tyublar əvvəlkilərə uyğun şəkildə nömrələnir. Sentrifuqada çökdürülmüş garışıqdan ayrılan supernatant ehtiyatla yeni tyublara keçirilir. Köhnə tyublar içərisindəki çöküntü ilə birlikdə ehtiyat DNT materialı kimi saxlanılır və təcrübə sona catana qədər atılmır. Supernatantın üzərinə 1ml steril ucluqlu pipet ilə 0,6 ml soyuq izopropanol əlavə edilir. Tyubu bir neçə dəfə çevirməklə garışdırdıqdan sonra məhlulda çöküntüyə keçmiş DNT müşahidə olunur. Steril qarmaqla DNT məhluldan götürülür və hər birinin içərisinə 1 ml 70% etanol əlavə edilmiş uyğun yeni tyublara daxil edilir. Tyublar 10 dəqiqə müddətində 14000 dəq/dövr sentrifuqada çökdürülür. Çökmüş nüvə DNT 1 ml 70% soyuq etanol ilə yuyulur. DNT molekulu ehtiyatla etanolda qarışdırılır və təkrarən 5 dəqiqə ərzində 14.000 dəq/dövr sentrifuqada çökdürülür, bu mərhələ iki dəfə təkrar olunur. Sonda yenidən üzərinə 96% etanol spirti əlavə olunur, sentrifuqalaşdırılır və tyubların qapağı açılaraq spirt atılır, dibində DNT çöküntüsü olan tyublar filtr kağızının üzərinə qapağı açılaraq etanolun tamamilə süzülməsi üçün qoyulur. DNT evaporatorda 5 dəqiqə ərzində 37°C qurudulur, üzərinə 300 µl soyuq TE bufer(10 mM tris-HCl, pH-8.0, 1 mM EDTA) və ya steril ddH₂O əlavə edilirək 4°C temperaturda saxlanılır. Bu zaman xromosom DNT-si normal həll olur.

RAPD marker ardıcıllıqları əsasında Wei və Wang (1995), Zhang və b. (1998), və Li və b. (1995) tərəfindən STS (qısa tandem ardıcıllıq) markerlər dizayn edililmişdir. Seçilmiş RAPD praymerlər Cədvəl 2-də verilmişdir.

NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Tədqiqatın aparılması üçün götürülmüş bitki nümunələrindən ayrılmış xromosom DNT-nin qatılığı spektrofotometrik təyin olunmuş və PZR aparılması üçün hər bir DNT nümunəsi 20 nq/ μ L olmaqla steril ddH₂O durulaşdırılmışdır. Bundan sonra cədvəl 1-də verilmiş bitki nümunələrinin durulaşdırılmış matrisa xromosom DNT ilə PZR aparılmış və amplifikasiya məhsullarının analizi 2% aqaroza gelində aparılmışdır.



OPAY 05

Şəkil 1. *Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum* disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində OPAY05 RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində alınmış amplikonların 2% aqaroza gelində elektroforetik analizi. M- marker DNT (yuxarıdan aşağıya): 1500, 1200, 1000, 900. 800, 7000,600,500, 400,300,200 və 100 n.c.



OPAZ04

Şəkil 2. *Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum* disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində OPAZ04 RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində alınmış amplikonların 2% aqaroza gelində elektroforetik analizi. M- marker DNT (yuxarıdan aşağıya): 1500, 1200, 1000, 900. 800, 7000,600,500, 400,300,200 və 100 n.c.



Şəkil 3. *Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum* disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində OPAZ11 RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində alınmış amplikonların 2% aqaroza gelində elektroforetik analizi. M- marker DNT (yuxarıdan aşağıya): 1500, 1200, 1000, 900. 800, 7000,600,500, 400,300,200 və 100 n.c.

Thinopyrum bessarabicum (Savul. & Rayss) Á.Löve E^b genomu və onun hər bir xromosomu ayrı-ayrılıqda ($1E^b$ - $7E^b$) heksaploid Çin yazlıq buğdasına introqressiya olunmuş xətlərin və *T. aestivum* tərkibində *Th.intermedium-un* xromosom seqmentləri olan R və S genomlara malik xətlərin genomları üzərində (Cədvəl 2) verilən RAPD praymerlər ilə aparılan PZR nəticəsində sintez olunmuş amplikonların elektroforetik analizinin nəticələri 3, 4, 5, 6 və 7 saylı cədvəllərdə verilmişdir. E^b genomun 7 haploid xromosomu vardır və əvvəl aparılan tədqiqatlar nəticəsində 52 təsadüfi götürülmüş RAPD praymerlər içərisindən 5 disomik əlavə xətlərdə hər bir E^b xromosom üçün bəzi xromosomspesific RAPD markerlər seçilmişdir. İlkin tədqiqatlarda məlum olan OPF03₁₂₉₆ (Zang et al., 1996, 1998) daxil olmaqla 6 RAPD marker *CS/T.bessarabicum*-un qismən amfidiploidlərdə və bütün 5 disomik əlavə xətlərdə müəyyən olunmuşdur.

| № | Simvollar | Növlər | IK No. | Mənbə | Qeyd |
|----|--------------------|--|----------------|----------|----------|
| 1 | E ^b =J | Thinopyrum bessarabicum (Savul. & Rayss) Á. Löve | PI531710 | FRRL | çoxillik |
| 2 | 1 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95002; (1114) | CIMMYT | |
| 3 | 2 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95003; (1115) | CIMMYT | |
| 4 | 3 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95004; (6788) | CIMMYT | |
| 5 | 4 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95005; (1117) | CIMMYT | |
| 6 | 5 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95006; (1112) | CIMMYT | |
| 7 | 6 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95007; (6789) | CIMMYT | |
| 8 | 7 E ^b | CS/Th. bessarabicum | W95008; (1110) | CIMMYT | |
| 9 | ABD | Triticum aestivum L. "Chinese Spring" (CS) | Citr14108 | Missouri | illik |
| 10 | P107(R) | T. aestivum tərkibində Th. intermedium xromosomu yaxud | P107, 6740 | Purdue | |
| | | seqment olan xətlər | | | |
| 11 | T1(R) | T. aestivum tərkibində Th. intermedium-un xromo- | Y920592, 6741 | Çin | |
| | | som seqmenti olan xətlər | | | |
| 12 | T2(R) | | Y920592, 6742 | | |
| 13 | T3(S) | | D957-3, 6743 | | |
| 14 | T4(R) | | 6744 | | |
| 15 | $P_6(R)$ | | P29 = GP-541 | | |
| 16 | P7(R) | | 169-1 | | |
| 17 | P ₈ (R) | | 632-21 | | |
| 18 | P ₉ (S) | | 177-1 | | |
| 19 | $P_{10}(S)$ | | 69-1 | | |

Cədvəl 1. Tədqiqatda istifadə olunan bitki materialları

| | Cədvəl 2. E ^b genomun | hər bir xromosomunun t | əvini ücün seciln | nis RAPD pra | avmerlərin sivahısı |
|--|----------------------------------|------------------------|-------------------|--------------|---------------------|
|--|----------------------------------|------------------------|-------------------|--------------|---------------------|

| Nº | E ^b genomun | Pravmerlər | Praymerlərin nukleotid ardıcıllığı | PZR-n tərkibi, parametrləri və amplikon- | | | | |
|------|------------------------|------------|------------------------------------|---|--|--|--|--|
| -, - | xromosomu | 110,000 | , | ların analizi | | | | |
| 1 | 1 E ^b | OPF-07 | 5'-CCGATATCCC-3' | Dekamer oliqonukleotidlər Operon Technol- | | | | |
| | | OPBA-17 | 5'-TGTACCCCTG-3' | ogies Kompaniyasından alınmışdır. | | | | |
| | | OPB-03 | 5'- CATCCCCTG-3' | | | | | |
| | | OPJ-01 | 5'-CCCGGCATAA-3' | GeneAmp PCR system 9700, 40 tsikl, 93°C 1 | | | | |
| 2 | 2 E ^b | OPD-12 | 5'-CACCGTATCC-3' | dəq, 35°C 1 dəq., 71°C 2 dəq., saxlanma 4°C. | | | | |
| | | OPP-04 | 5'- GTGTCTCAGG-3' | | | | | |
| 3 | 3 E ^b | OPC-03 | 5'-GGGGGTCTTT-3' | AmpliTaq DNT Polymerazanın Stoffel fraq- | | | | |
| 4 | 4 E ^b | OPB-09 | 5'-TGGGGGGACTC-3' | mentləri, 10 ^x buffer və 25 mM MgCl ₂ Perkim- | | | | |
| | | OPAA-11 | 5'-ACCCGACCTG-3' | Elmer Kompaniyadan alınmışdır. | | | | |
| | | OPAY-05 | 5'-TCGCTGCGTT-3' | | | | | |
| | | OPAZ-04 | 5'-CCAGCCTCAG-3' | Amplifikasiya reaksiya qarışığının ümumi | | | | |
| | | OPAZ-13 | 5'-CCCGAAGCAA-3' | həcmi 25µL təkil edir və hər bir PCR reaksi- | | | | |
| | | OPAZ-08 | 5'-TCGCTCGTAG-3' | yanın tərkibinə 13.3 μ L steril ddH ₂ O, 2.5 μ L | | | | |
| 5 | 5 E ^b | OPH-11 | 5'-CTTCCGCAGT-3' | 10^{x} bufer, 2μ L 8 mM dNTP, 2 μ L 10μ M | | | | |
| 6 | 6 E ^b | OPF-12 | 5'-ACGGTACCAG-3' | praymer, 3 μ L 25 mM MgCl ₂ , 0.2 μ L | | | | |
| | | OPAZ-11 | 5'-TCCAGCGCGT-3' | (2vahid) Stoffel fraqment və 2 μ L matrisa | | | | |
| | | OPAZ-02 | 5'-CCTGAACGGA-3' | DNT $(25nq/\mu L)$ daxildir, və üzərinə 30 | | | | |
| 7 | 7 E ^b | OPAZ-06 | 5'-CCTTCGGAGG-3' | µLmineral yag əlavə edilir. | | | | |
| | | OPAZ-17 | 5'-CACGCAGATG-3' | Amplifikasiya mənsullari 2% aqaroza gelində | | | | |
| | | OPAY-13 | 5'-CCGCTCGTAA-3' | və tərkibində 0.5 μq etidium bromid olan | | | | |
| | | | | IX I BE buterində (pH8.3) elektrotoretik ana- | | | | |
| | | | | liz edilmişdir. DNİ fraqmentiərinin şəkili | | | | |
| | | | | DNT älön mortorlari ile müquiqe alurus al | | | | |
| | | | | DNT olçu markerləri ilə muqyisə olunmaqıa | | | | |
| | | | | təyin edilmişdir. | | | | |

Yad xromosomun identifikasiyası üçün Cin heksaploid yazlıq buğdasına *T.aestivum*-a *T. bessarabicum*-un E^b genomunun hər bir xromosomunun ayrıca daxil edilməsi ən mürəkkəb və vaxt aparan prosesdir. Morfoloji əlamətlər, xromosomların qablanması texnologiyalarının və biokimyəvi markerlərin müəyyən çatışmazlıqları vardır və dəqiqlikləri aşağıdır. Molekulyar metodlardan öncə yad xromosomların genomda olmasının aşkar edilməsində GISH metod ilk addımdır və bu yad xromosomların müxtəlif homoloji qruplara ayrılmasında tətbiq oluna bilər. E^b genomu nisbətən yumşaq buğdanın ABD genomuna (xüsusilə D genoma) yaxın olduğu üçün E-genomun xromosomlarının buğda xətlərində aşkar edilməsində St genomun GISH metod üçün zond kimi götürülməsi daha yaxşı olar (Wang et al., 1996; Zhang et al., 1996; Chen et al., 1998). Bu texnikalardan istifadə olunmaqla müəyyən edilmişdir ki, tədqiq olunmuş 7 xətdən 6 xətt həqiqi əlavə olunmuş disomik xətdir, biri isə üçlü disomik əlavə xətdir.

Cədvəl 3. Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində sintez olunmuş müxtəlif ölçülü amplikonların 2% aqaroza gelində elektroforetik analizin nəticələri

| N⁰ | Xətlər | Kod | OPBA17 | OPD12 | OPD12 | OPP04 | OPP04 | OPP04 | OP | OPF12 OPC03 | | OPB08 | OPAZ11 |
|----|-------------------|------|-----------|---------|-------|--------|-------|-------|-------|--------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|
| | | | 390bp | 480bp | 650bp | 350bp | 505bp | 900bp | 290-8 | 850bp | 310bp | 505bp | 900bp |
| 1 | E ^b =J | | + | ++ | - | ++ | - | - | + | + | + | - | - |
| 2 | 1 E ^b | 1114 | ++ | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| 3 | 2 E ^b | 1115 | - | ++ | - | ++ | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | 3 E ^b | 6788 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5 | 4 E ^b | 1117 | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | + |
| 6 | 5 E ^b | 1112 | - | - | + | +- | - | - | - | - | - | - | - |
| 7 | 6 E ^b | 6789 | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| 8 | 7 E ^b | 1110 | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | + |
| 9 | ABD | CS | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10 | P107(R) | 6740 | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | + |
| 11 | T1(R) | 6741 | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | + |
| 12 | T2(R) | 6742 | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| 13 | T3(S) | 6743 | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | + |
| 14 | T4(R) | 6744 | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | + |
| 15 | $P_6(R)$ | 5468 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + |
| 16 | P7(R) | 5472 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + |
| 17 | $P_8(R)$ | 5477 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 18 | $P_9(S)$ | 5474 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + |
| 19 | $P_{10}(S)$ | 5469 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + |
| | | | Yeni sin- | Müəyyən | | Müəy- | | | Heç l | oir E ^b | Heç bir | Bu St ge- | 1, 4, 7 E ^b |
| | | | tez olun- | olunub | | yən | | | xro | mo- | E ^b xro- | nom mark- | xromo- |
| | | | muş | | | olunub | | | some | la lo- | mo- | eri heç bir | som |
| | | | pray- | | | | | | ka | lizə | somda | E ^b xromo- | marker- |
| | | | merlər | | | | | | olunr | nayıb | lokalizə | somda am- | ləri P ₁₀₇ |
| | | | yeni | | | | | | | | olun- | plifikasiya | və P ₂₉ |
| | | | RAPD | | | | | | | | mayıb | olunmayıb | xətlərdə |
| | | | nümunələ | | | | | | | | | | vardır |
| | | | r ver- | | | | | | | | | | |
| | | | mişdir | | | | | | | | | | |

Cədvəl 4. Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində sintez olunmuş müxtəlif ölçülü amplikonların 2% aqaroza gelində el-ektroforetik analizin nəticələri

| N⁰ | Xətlər | Kod | OPB03 | OPB03 | OPJ01 | OPJ01 | OPF07 | OPF07 | OPF007 | OP | B09 | OP | AA11 | OPB09 |
|----|-------------------|------|----------|-------|-------|---------------------|------------------|-------|---------------|-----|------|---------------|-----------------------------|-------|
| | | | 410bp | 390bp | 230bp | 480bp | 390bp | 350bp | 370 | 780 | -800 | 600 |)- 350 | 680 |
| 1 | E ^b =J | | + | - | + | ++ | + | - | ++ | + | - | + | + | + |
| 2 | 1 E ^b | 1114 | - | + | - | ++ | + | - | - | - | + | - | - | - |
| 3 | 2 E ^b | 1115 | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - | - |
| 4 | 3 E ^b | 6788 | - | - | + | - | - | - | + | - | + | - | + | - |
| 5 | 4 E ^b | 1117 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | - | + | ? |
| 6 | 5 E ^b | 1112 | - | + | - | ++ | - | - | + | - | + | - | - | - |
| 7 | 6 E ^b | 6789 | - | + | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - |
| 8 | 7 E ^b | 1110 | - | + | + | - | - | - | ++ | - | + | + | - | - |
| 9 | ABD | CS | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 10 | P107(R) | 6740 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 11 | T1(R) | 6741 | - | - | - | - | - | - | ++ | - | + | - | - | - |
| 12 | T2(R) | 6742 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 13 | T3(S) | 6743 | - | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 14 | T4(R) | 6744 | - | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 15 | $P_6(R)$ | 5468 | - | - | - | - | - | - | ++ | - | + | - | - | - |
| 16 | P7(R) | 5472 | - | - | - | - | - | - | ++ | - | + | - | - | - |
| 17 | $P_8(R)$ | 5477 | - | - | + | - | - | + | - | - | + | - | - | - |
| 18 | P9 (S) | 5474 | - | - | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - |
| 19 | $P_{10}(S)$ | 5469 | - | - | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - |
| | | | Heç bir | | | 1 E ^b və | P107 VƏ | | | | | P107 | və P ₂₉ | |
| | | | E-XF0- | | | SE" XF0- | r 29 vətlər 1 | | | | | XƏtlə A Fb | いっと", vっん F ^b | |
| | | | lokelize | | | üaün | The mo | | | | | + E | və u L." k dowil | |
| | | | olun | | | uçun müərmən | E ma- | | | | | man | k ueyn | |
| | | | oiun- | | | nuəyyən | nk deyn | | | | | | | |
| | | | mayin | | | orunub | | | | | | I | | |

Təcrübələrdə bu xətlərdən istifadə olunmuşdur (Cədvəl 1). RFLP, SSR və radioizotop əsaslı AFLP molekulyar markerlərlə işləmək asan deyil və xromosomların identifikasiyası üçün sürətli metodlar hesab olunmur. Lakin, multifluorfor maddələrin və yarım avtomatlaşdırılmış AFLP analizin DNT-sekvenatorun tətbiqi operativliyi və dəqiqliyi təmin edir (Schwarz et al., 2000). Bu təqdiqatlar bir daha sübut etdi ki, AFLP metodu yad xromosomların identifikasivası ücün cox güclü vasitədir. Amma, AFLP metodu ilə 3 E^b və 6 E^b xromosomları üçün uyğun markerlər müəyyən edilməmiş və qalan 5 xromosom üçün 13 müxtəlif marker müəyyən olunmuşdur. AFLP metodu DNT-daktiloskopiyada səmərəli alətdir və çoxlu sayda molekulyar markerlərin generasiyasına imkan verir. Lakin, əksər AFLP markerlərin hədəf saytların ardıcıllığına çevrilməsi (sequence-tagged-site- STS) çətindir, mürəkkəb cihazların və bahalı reaktivlərin tələb olunması həmçinin onun istifadə edilməsini məhdudlaşdırır (Shan et al., 1999). Ancaq RAPD analiz bütün laboratoriyalarda praktiki olaraq istifadə olunur və əksər RAPD markerlər asanlıqla STS markerlərə çevrilə bilir. Ona görə də biz E^b genomun xromosomlarını RAPD metodu istifadə etməklə tədqiq etdik və bu metod xromosomların identifikasiyası, xəritələşməsi və introgressiyasında faydalıdır.

Cədvəl 3-dən göründüyü kimi verilən RAPD markerlərlə aparılan PZR məhsullarının aqaroza gelində elektroforetik analizin nəticələri əsasında 3 E^b və 6 E^b xromosomları üçün spesifik markerlər aşkar olunmayıb. Belə ki, cədvəldə "+"işərəsi uyğun DNT fraqmentin sintezini və "-"isə əksinə olmamasını göstərir. Bizim elə marker seçməmiz lazımdır ki, PZR zamanı yalnız 3 E^b və 6 E^b xromosomlarında uyğun ölçülü DNT fraqmenti sintez olunsun, yəni həm E^b genomu üzərində və 3 E^b xromosomu, eləcə də yalnız E^b genomu üzərində və 6 E^b xromosomu olan xətlərdə sintez olunsun. Bu zaman həmin RAPD marker bu və ya digər xromosomun markeri hesab oluna bilər.

Cədvəl 4-ə nəzər yetirsək, burada da 3 E^b və 6 E^b xromosomlar üçün xromosom spesifik markerlər qeydə alınmamışdır.

Cədvəl 5-də digərlərindən fərqli olaraq *T.bessarabicum*-un E^b genomunun 3 E^b və 6 E^b xromosomları və 1 E^b xromosomu üçün yeni RAPD markerlər aşkar olunmuşdur. 3 E^b xromosomu üçün OPAY05₂₇₀ (Şəkil 1) və OPAZ04₉₅₀ (Şəkil 2), 6 E^b xromosomü üçün isə OPAY05₄₂₀ (Şəkil 1) RAPD markeri aşkar olunmuşdur. Bu cədvəldə 1 E^b xromosomu üçün əlavə yeni RAPD marker OPAY05₃₇₀ (Şəkil 1) müəyyən edilmişdir. Ancaq E^b genomun 1, 4, 5, 7 E^b xromosomları üçün yeni OPAZ17₂₆₀ markeri aşkar olunmuşdur (Cədvəl 6).

Cədvəl 5. Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində sintez olunmuş müxtəlif ölçülü amplikonların 2% aqaroza gelində elektroforetik analizin nəticələri

| № | Xətlər | Kod | OPAY05 | OPAY05 | OPAY05 | OPAY05 | OPAY05 | OPAZ04 | OPAZ04 | OPAZ04 | OPAZ08 | OPB08 |
|----|---------------------|------|----------------------|------------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------|---------------------|-----------|
| | | | 270bp | 370bp | 420bp | 500bp | 900bp | 200bp | 950bp | 650bp | 710bp | 525bp |
| 1 | E ^b =J | | + | + | + | - | + | - | + | - | + | - |
| 2 | 1 E ^b | 1114 | - | + | - | + | + | + | - | - | - | - |
| 3 | 2 E ^b | 1115 | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| 4 | 3 E ^b | 6788 | + | - | - | + | + | - | + | + | - | - |
| 5 | 4 E ^b | 1117 | - | - | - | + | + | + | - | + | + | - |
| 6 | 5 E ^b | 1112 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 7 | 6 E ^b | 6789 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| 8 | 7 E ^b | 1110 | - | - | - | + | - | - | - | + | - | - |
| 9 | ABD | CS | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10 | P107(R) | 6740 | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - |
| 11 | T1(R) | 6741 | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - |
| 12 | T2(R) | 6742 | - | - | - | + | - | + | - | + | - | - |
| 13 | T3(S) | 6743 | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - |
| 14 | T4(R) | 6744 | - | - | - | + | - | + | - | + | - | - |
| 15 | $P_6(R)$ | 5468 | - | - | - | ? | - | + | - | - | - | - |
| 16 | P7(R) | 5472 | - | - | - | ? | - | + | - | - | - | - |
| 17 | $P_8(R)$ | 5477 | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - |
| 18 | $P_9(S)$ | 5474 | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - |
| 19 | P ₁₀ (S) | 5469 | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| | | | 3E ^b | | 1 E ^b | 1, 3, 4, 7 | 1, 2, 3, 4 | 1, 4 E ^b | 3E ^b xro- | Geno- | Heç bir | Purdue |
| | | | | 6 E ^b | | E ^b xro- | E ^b xro- | Xromo- | mosom | tipləş- | E ^b xro- | xətlərind |
| | | | | | | mosom | mosom- | som-lar | üçün yeni | dirici | mosomda | ə St |
| | | | E ^b genor | nun xrom | osomları | üçün | lar üçün | üçün yeni | marker | marker | lokalizə | marker |
| | | | üçün | yeni mark | keriər | marker- | yeni | marker- | | | olun- | yoxdur. |
| | | | | | | lər | marker- | lər | | | mayıb | |
| | | | | | | | lər | | | | | |

Cədvəl 6. Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində sintez olunmuş müxtəlif ölçülü amplikonların 2% aqaroza gelində elektroforetik analizin nəticələri

| № | Xətlər | Kod | OPAZ13 | OPAZ06 | OPAZ11 | OPAZ17 | OPAY08 | OPAZ02 | OPAZ11 | OPAZ02 | OPAZ11 | OPAZ02 |
|----|-------------------|------|--------|--------|--------|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 680bp | 780bp | 600bp | 260bp | 720bp | 820bp | 930bp | 250bp | 350bp | 820bp |
| 1 | E ^b =J | | + | - | + | - | - | - | - | - | + | + |
| 2 | 1 E ^b | 1114 | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| 3 | 2 E ^b | 1115 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | 3 E ^b | 6788 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5 | 4 E ^b | 1117 | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| 6 | 5 E ^b | 1112 | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| 7 | 6 E ^b | 6789 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 8 | 7 E ^b | 1110 | - | - | + | + | - | - | - | - | + | - |
| 9 | ABD | CS | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10 | P107(R) | 6740 | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - |
| 11 | T1(R) | 6741 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| 12 | T2(R) | 6742 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 13 | T3(S) | 6743 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| 14 | T4(R) | 6744 | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - |
| 15 | $P_6(R)$ | 5468 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| 16 | P7(R) | 5472 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| 17 | $P_8(R)$ | 5477 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| 18 | $P_9(S)$ | 5474 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 19 | $P_{10}(S)$ | 5469 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| | | | | | | 1, 4, 5, 7 E ^b xro- mosom üçün yeni markerlər | | | | | | |

| Cədvəl 7. Triticum aestivum (CS) / Tynopirum bessarabicum disomik əlavə olunmuş xətlərin genom DNT üzərində |
|--|
| RAPD markerlərlə aparılmış PZR nəticəsində sintez olunmuş müxtəlif ölçülü amplikonların 2% aqaroza gelində el- |
| ektroforetik analizin nəticələri |

| N⁰ | Xətlər | Kod | OPAZ11 | OPAZ11 | OPAZ11 | OPAZ04 | OPAZ04 | OPAZ13 | OPAZ13 | OPAZ13 | OPAY05 | OPAY05 |
|----|--------------------|------|--------|----------------------|--------|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 930bp | 1200bp | 600bp | 1000bp | 650bp | 650bp | 850bp | 580bp | 500bp | 280bp |
| 1 | E ^b =J | | - | + | - | + | - | + | - | - | + | + |
| 2 | 1 E ^b | 1114 | - | - | ++ | - | - | + | + | + | ++ | - |
| 3 | 2 E ^b | 1115 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| 4 | 3 E ^b | 6788 | - | - | + | + | - | - | + | + | ++ | + |
| 5 | 4 E ^b | 1117 | - | - | + | - | + | + | + | + | ++ | - |
| 6 | 5 E ^b | 1112 | - | - | ++ | - | - | + | + | + | ++ | + |
| 7 | 6 E ^b | 6789 | - | + | - | - | - | - | + | + | - | - |
| 8 | 7 E ^b | 1110 | - | - | + | - | + | + | - | + | ++ | - |
| 9 | ABD | CS | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| 10 | $P_{107}(R)$ | 6740 | - | - | ++ | - | - | - | + | - | ++ | - |
| 11 | T1(R) | 6741 | - | - | ++ | - | - | + | + | - | ++ | - |
| 12 | T2(R) | 6742 | - | - | ++ | - | + | + | + | - | ++ | - |
| 13 | T3(S) | 6743 | - | - | ++ | - | - | + | + | + | ++ | - |
| 14 | T4(R) | 6744 | - | - | ++ | - | + | + | + | + | ++ | - |
| 15 | $P_6(R)$ | 5468 | - | - | + | - | - | - | + | + | ++ | - |
| 16 | P7(R) | 5472 | - | - | ++ | - | - | + | + | + | ++ | - |
| 17 | P ₈ (R) | 5477 | - | - | ++ | - | - | + | + | + | ++ | - |
| 18 | P9 (S) | 5474 | - | - | + | - | - | - | + | + | ++ | - |
| 19 | $P_{10}(S)$ | 5469 | - | - | ++ | - | - | - | + | + | ++ | - |
| | | | | 6E ^b xro- | | 3E ^b xro- | | | | | | |
| | | | | mosom | | mosom | | | | | | |
| | | | | üçün yeni | | üçün yeni | | | | | | |
| | | | | marker | | marker | | | | | | |

Cədvəl 7-də E^b genomunun 3 E^b xromosom üçün OPAZ04₁₀₀₀ (Şəkil 2) və 6 E^b xromosom üçün isə OPAZ11₁₂₀₀ (Şəkil 3) yeni RAPD marker aşkar olunmuşdur.

Beləliklə, müxtəlif RAPD praymerlərlə aparılan PZR nəticələri əsasında E^b genomunun 3 E^b xromosomu üçün **OPAY05**₂₇₀, **OPAZ04**₉₅₀ və **OPAZ04**₁₀₀₀ RAPD markerləri müəyyən olunmuşdur. $6E^b$ xromosomu üçün isə **OPAY05**₄₂₀ və **OPAZ11**₁₂₀₀ RAPD markerləri aşkar olunmuşdur. E^b genomun 3 E^b və 6 E^b xromosomları üçün yeni müəyyən olunmuş bu RAPD markerlər disomic əlavə olunmuş xətlərdə həmin xromosomların identifikasiyasında əhəmiyyətli markerlərdir və həmin markerlərlə sintez olunmuş amplikonlar əsasında asanlıqla STS markerlər dizayn oluna bilər.

ƏDƏBİYYAT

- Alonso L.C., Kimber G. (1980). A haploid between *Agropyron junceum* and *Triticum aestivum*. Cereal Res Commun 8:355-358.
- Chen Q., Conner R.L., Laroche A., Thomas J.B. (1998) Genome analysis of *Thinopyrum intermedium* and *Thinopyrum ponticum* using genomic *in situ* hybridization. *Genome*, **41:** 580–586.
- Chetan P., Adel S. et al. (2016). Molecular cytogenetic characterization of novel wheat-*Thinopyrum bessarabicum* recombinant lines carrying intercalary translocations. *Chromosoma*, **125(1)**: 163-172.
- **Dewey D.R.** (1984). The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial *Triticeae*. *In: Gene manipulation in plant improvement*. (J.P.Gustafson, ed.). New York: Plenum Publishing Corporation, pp. 209-279.
- **Doyle J.J., Doyle J.L.** (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, **12:** 13-17.
- **Dvorak J., Ross K.** (1986) Expression of tolerance of Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻, and SO₄²⁻ ions and seawater in the amphiploid of *Triticum aestivum* x *Elytrigia elongata*. *Crop Sci.*, **26:** 658-660.
- Endo T.R., Gill B.S. (1984) Somatic karyotype, heterochroma- tin distribution and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em. Thell. *Chromosoma*, **89**: 361–369.
- Gorham I., McDonnell E., Budrewics E., Wyn Jones R.G. (1985). Salt tolerance in the Triticeae: Growth and solute accumulation in leaves of *Thinopyrum hessarabicum*. J. Expt. Bot., **36**: 1021-103.
- Jauhar P.P. (1992). Chromosome pairing in hybrids between hexaploid bread wheat and tetraploid crested wheatgrass (*Agropyron cristatum*). *Hereditas*, **116**: 107-109.
- Ji-Yi Z., Xiao-Mei L., Richard R.-C., A. Wang, Rosas V., Mujeeb-Kazi A. (2002). Molecular cytogenetic characterization of E^b -genome chromosomes in thinopyrum bessarabicum disomic addition lines of bread wheat, *Int. J. Plant Sci.*, 163(1): 167–174. 2002.

- King I.P., Forster B.P. et al. (1997). Introgression of salt tolerance genes from *Thinopyrum bessarabicum* into wheat. *New Phytol.* **137:** 75-81.
- Li W.L., Chen P.D., Qi L.L., Liu D.J. (1995). Isolation, characterization and application of a species-specific repeated sequence from *Haynaldia villosa. Theor. Appl. Genet.*, **90:** 526-533.
- Mirzaghaderi G., H. Shahsevand Hassani, Karimzadeh G. (2010). C-banded karyotype of *Thinopyrum bessarabicum* and identification of its chromosomes in wheat background. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **57(3):** 319-324.
- Jauhar P.P., Terrance S.P. (2013). Synthesis and Characterization of advanced durum wheat hybrids and addition lines with *Thinopyrum* chromosomes. *Journal of Heredity*, 104 (3): 428-436.
- Qi Z[•], Du P., Qian B., Zhuang L., Chen H., Chen T., Shen J., Guo J., Feng Y., Pei Z. (2010). Characterization of a *wheat-Thinopyrum bessarabicum* (T2JS-2BS.2BL) translocation line. *Genome*, 53(12): 1083-1089.
- Schwarz G., Herz M., Huang X.Q., Michalek W., Jahoor A., Wenzel G., Mohler V. (2000) Application of fluorescence-based semi-automated AFLP analysis in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **100:** 545–551.
- Shan X., Blake T.K., Talbert L.E. (1999) Conversion of AFLP markers to sequence-specific PCR markers in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 98: 1072–1078.
- Shen X., Ohm H. (2007) Molecular mapping of Thinopyrum-derived Fusarium head blight resistance in common wheat. *Mol Breeding*, **20**: 131-140.
- Wang R.R.-C., Larson S.R., Jensen K.B. (2010) Analyses of *Thinopyrum bessarabicum*, *T. elongatum*, and *T. junceum* chromosomes using EST-SSR markers. *Genome*, **53(12)**: 1083-1089.
- Wang R.R.C., Zhang X.Y. (1996). Characterization of translocated chromosome using fluorescence *in situ* hybridization and random amplified polymorphic DNA on two *Triticum aestivum*– *Thinopyrum intermedium* translocation lines resistant to wheat streak mosaic or barley yellow dwarf virus. Chromosome Res 4:583–587.
- Wei J.-Z., Wang R.R.-C. (1995) Genome- and species-specific markers and genome relationships of diploid perennial species in *Triticeae* based on RAPD analyses. *Geniome*, **38**: 1230-1236.
- William M.D., Mujeeb-Kazi A. (1993) *Thinopyrum bessarabicum*: biochemical and cytological markers for the detection of genetic introgression in its hybrid derivatives with *Triticum aestivum* L. *Theor. Appl. Genet.*, **86(2-3):** 365-370.

Zhang X.-Y., Dong Y.-S., Li P., Wang R.R.-C. (1998) Distribution of E-and St-specific RAPD fraqments in few genomes of *Triticeae*. *Acta Genet. Sin.*, **25:** 113-124.

Zhang X.Y., Dong Y.S., Wang R.R.C. (1996)

Characterization of genomes and chromosomes in partial amphiploids of the hybrid *Triticum aes-tivumxThinopyrum ponticum* by *in situ* hybridization, isozyme analysis, and RAPD. *Genome*, **39**: 1062–1071.

Определение Специфических RAPD Маркеров Для Идентификации Хромосом У Дикорастущего Сородича Пшеницы *Thinopyrum Bessarabicum*, Обладающего Е^b Геномом

А.Ч. Маммадов

Институт молекулярной биологии и биотехнологий НАНА

Дикорастущий сородич пшеницы *Thinopyrum bessarabicum* ($\mathbf{J} = \mathbf{J}^{b} = \mathbf{E}^{b}$) А́. Löve является очень важным родом, близким к роду пшеницы *Triticum* L. На причерноморских и средиземноморских территориях пщеница *Thinopyrum bessarabicum* является природным злаком, который способен завершить жизненный цикл при концентрации соли 350 mM NaCl. В результате исследований определены специфические молекулярные маркеры для идентификации хромосом 1E^b, 2E^b, 5E^b, 4E^b и 7E^b генома E^b. Однако для идентификации хромосом 3E^b и 6E^b специфические RAPD маркеры не былы найдены. Целью проводимой работы являлось определение специфических RAPD маркеров для хромосом 3E^b и 6E^b генома E^b *Thinopyrum bessarabicum*.

Ключевые слова: Thinopyrum bessarabicum, E^b геном, хромосомы, RAPD маркеры, гибриды, дисомично добавленные линии, ПЦР

Determination Of Specific RAPD Markers For Identification Of Chromosomes Of Wild Wheatgrass Thinopyrum Bessarabicum Having E^b Genome

A.Ch. Mammadov

Institute of Molecular Biology and Biotechnology, ANAS

Wild plant *Thinopyrum bessarabicum* (J = Jb = Eb) Å. Löve, a very important genus close to the wheat genus *Triticum* L. *Thinopyrum bessarabicum* is a natural weed, which is able to complete its life cycle in the territories of the Black and Mediterranean Seas at 350 mM concentration of NaCl. Specific RAPD molecular markers were determined to identify $1E^b$, $2E^b$, $5E^b$, $4E^b$ və $7E^b$ chromosomes of the E^b genome. However, specific RAPD markers were not developed for the chromosomes $3 E^b$ and $6E^b$. Therefore, the aim of the research was to determine the specific RAPD markers for $3E^b$ and $6E^b$ chromosomes of E^b genome of *Thinopyrum bessarabicum*.

Key words: Thinopyrum bessarabicum, E^b genome, chromosomes, RAPD markers, hybrids, disomic addition lines, PCR