

Yumşaq Buğda (*Triticum aestivum* L.) Genotiplərində *TdicDRF1* Geninin Tək Nukleotid Polimorfizmləri (TNP) Əsasında Müqayisəli Tədqiqi

C. Mürsəlova*, Z.İ. Əkpərov

AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu, Azadlıq prospekti, 155, Bakı AZ1106, Azərbaycan;
*E-mail: m.jamala85@gmail.com

Tədqiqat işində 48 payızlıq yumşaq buğda genotipində *TdicDRF1* (ABA- asılı olmayan) transkripsiya faktorunu kodlaşdırıran genin skrininqi aparılmış və bir hissəsinin sekvenslənməsi yerinə yetirilərək tək nukleotid polimorfizmlərinə görə müqayisə edilmişdir. Tədqiq olunan nümunələrin amplifikasiya olunmuş gen fragməntində ümumilikdə, 94 tək nukleotid polimorfizmi (TNP) müəyyən olunmuşdur ki, onlardan 48-i tranzisiya, 27-si isə transversiya tipli TNP-lərə aid olub, ümumi polimorfizmin müvafiq olaraq 51 və 29%-ni təşkil etmişlər.

Açar sözlər: TNP, sekvens, transkripsiya amili, abssiz turşusu, *TdicDRF1*

GİRİŞ

Quraqlıq ən şiddetli stres amillərindən olub, bitkilərin, demək olar ki, bütün funksiyalarına təsir göstərir. Bitkilərdə quraqlıq stresinə qarşı cavab reaksiyasında iştirak edən gen məhsulları 2 əsas qrupa ayrılır: funksional və tənzimləyici züləllər. Birinci qrupa aid olan genlərin əsas funksiyası stresə tolerantlığı təmin edən züləlləri sintez etməkdir (su kanal proteinləri, osmotik qoruyucuların biosintəzində iştirak edən enzimlər, LEA (gec embriogenez) züləlləri və s.). İkinci qrupa isə stresə qarşı cavabda rol oynayan, genlərin ekspresiyasının və siqnal ötürülməsinin tənzimlənməsini həyata keçirən proteinkinazlar, transkripsiya amilləri (bZIP, MYC, MYB and DREB) və s. züləllər daxildir (Əliyev və b., 2014; Shinozaki and Yamaguchi 1997).

Bitkilərin quraqlıq stresinə reaksiyasının transkripsiya səviyyəsində tənzimlənildiyi məlumdur. Bu stres amilinin təsiri zamanı transkripsiya səviyyəsində tənzimlənmənin abssiz turşusundan asılı (ABT asılı) və yaxud asılı olmayan (ABT asılı olmayan) və DREB züləlləri vasitəsilə icra olunan (dehydration-responsive element binding protein) 2 əsas tsikli induksiya olunur (Irada et al., 2010; Hikmet et al., 2013).

Məlumdur ki, abssiz turşusu (ABT) bitkilərin inkişaf proseslərində iştirak etməklə, streslə əlaqəli yolları induksiya edən bitki hormonudur. O, su stresi şəraitində sintez olunur və quraqlığa qarşı tolerantlıqda əhəmiyyətli rol oynayır (Hikmet et al., 2013). ABT-nin quraqlığa davamlılığı artırdığı, yaşılaşmanı gecikdirdiyi, fizioloji və ya mühit quraqlığında bitkilərin canlı qalmasını təmin etdiyi tədqiqatlarla sübut edilmişdir (Shinozaki and Yamaguchi, 2000).

ABT-dan asılı yolda əsasən antioksidəsləşdirici və osmotik qoruyucular iştirak etdiyi halda, ABT-dan asılı olmayan yolda əsas rolu qoruyucu züləllər

oynayır. ABT-dan asılı olmayan yol həm də DREB vasitəli yol adlanır və əsasən suzuluğa cavabdeh elementləri birləşdirən (DREB)/C-təkrarları motivləri (CRT) züləllərini özündə cəmləyir. Onlardan *DREB1* transkripsiya faktoru əsasən soyuq stresinə, *DREB2* isə quraqlıq stresinə qarşı reaksiyada iştirak edir (Agarwal et al., 2006). Onlar transkripsiya amillərinin ERF (ethylene responsive element binding factors) qrupuna məxsusdurlar. *Arabidopsis* bitkisində 124-dən çox ERF züləlləri olduğu müəyyən edilmişdir (Riechmann et al., 2000). DREB2-nin homoloqu olan *TdicDRF1* transkripsiya faktoru ilk dəfə yabani buğdalarda (*T. turgidum* ssp. *Dicoccoides*) müəyyən edilmiş, klonlaşdırılmış və xarakterizə edilmişdir (Lucas et al., 2011). Quraqlıq stresinə həssas və davamlı genotiplərin müqayisəsi nəticəsində *TdicDRF1* transkripsiya amilinin müxtəlif cür ekspresiya olunduğu müəyyən edilmişdir. Beləliklə, həmin transkripsiya amilinin quraqlıq stresinə cavab reaksiyasında rolü nəzərə alınaraq quraqlığa tolerant buğda sortlarının yaxşılaşdırılmasında istifadə oluna bilər (Hikmet et al., 2013; Lucas et al., 2011).

Məlumdur ki, tək nukleotid polimorfizmləri (TNP) istənilən növün fərdləri arasında müşahidə edilən ən ümumi polimorfizm növüdür (Brookes 1999; Deschamps and Campbell, 2010). TNP-lərin kəşfi, onların genetik marker kimi istifadəsi yüksək keyfiyyətli analizlərin aparılması və TNP-lər vasitəsilə genotipik qiymətləndirmə platformalarının inkişafına səbəb olmuşdur (Edwards et al., 2008; Ganal et al., 2009; Varshney et al., 2009).

Tədqiqat işində əsas məqsəd 48 müxtəlif mənşəli yumşaq buğda genotipində quraqlığa davamlı *TdicDRF1* transkripsiya amilini kodlaşdırıran genin mövcudluğunun yoxlanılması və gəndə tək nukleotid polimorfizmlərinin (TNP) müəyyən edilməsin-dən ibarət olmuşdur.

MATERIAL VƏ METODLAR

Tədqiqat materialı Buğda və Qarğıdalının Yaxşılaşdırılması üzrə Beynəlxalq Mərkəzdən (CYMMIT) əldə olunmuş müxtəlif mənşəli 48 payızlıq yumşaq buğda genotipindən (sort və yaxşılaşdırılmış xətlər) ibarət olmuşdur (Cədvəl 1). Buğda nümunələrindən DNT-nin ayrılması Varşava Təbiət Elmləri Universitetinin (SGGW) "Molekulyar biologiya" laboratoriyasında, Thompson və Murray təklifi etdiyi və sonradan modifikasiya olunmuş CTAB (Cetyltrimethyl ammonium bromide) protokolu əsasında yerinə yetirilmişdir (Murray and Thompson, 1980). Ayrılmış DNT-nin keyfiyyəti və qatılığı Nanodrop 2000 cihazı ilə təyin edilmiş və tələb olunan qatılıq üzrə durulaşdırılmışdır (5 ng/μl).

PZR reaksiya qarışığının ümumi həcmi bir nümunə üçün 15 μl olmuşdur. Hər reaksiya qarışığı 5ng/μl DNT, 1XPZR (*IX Green GoTaq® Reaction Buffer*) buferi (0,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP-lor, 0,2 mM düzünə, 0,2 mM əksinə praymer, 0,02 U/μl Taq polimeraza fermentindən ibarət olmuşdur. Zəncirvari Polimeraza Reaksiyası (APPLIED, Gene Amp., PCR System 9700) aparatında 3 mərhələdən və 37 tsikldən ibarət program əsasında yerinə yetirilmişdir.

PZR reaksiyası tamamlandıqdan sonra reaksiya məhsulu 1%-li aqaroza gelində və 220 V gər-

ginlikdə, 40-45 dəqiqə müddətində elektroforez olunmuşdur. Gellər Molecular Imager®Gel Doc™ XR system (Bio-Rad) cihazı vasitəsilə UV şüaları altında görüntülənmişdir.

TdicDRF1 transkripsiya amilinə müvafiq praymerlərin dizayn olunması üçün həmin genin NCBI (Milli Biotexnologiya İnformasiya Mərkəzi) məlumat bazasında mövcud olan mRNA ardıcılığından (GenBank: HM015905.1) istifadə olunmuşdur. Tədqiq olunan geni tam əhatə etmək üçün Primer3 (<http://primer3.ut.ee>) programının istifadəsi ilə bir-birinin üzərini örtən (overlapping) 3 müxtəlif praymer dizayn edilmişdir. Dizayn olunmuş praymerlərin keyfiyyəti Oligoanalyzer (<https://www.idtdna.com/calc/analyzer>) və Primer Stat (http://www.biomol.unb.br/sms2/pcr_primer_stats.html) proqramları ilə yoxlanılmışdır. Şərti olaraq 1ABA, 2ABA və 3ABA adlandırılmış praymerlər Genomed şirkətindən əldə edilmiş və protokola uyğun olaraq durulaşdırılmışdır. İstifadə olunmuş praymerlərin siyahısı Cədvəl 2-də verilmişdir.

Genin 3ABA praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş 3' sonluğuna yaxın fragməti Genomed şirkətində, Sanger metodu ilə sekvens olunmuşdur. Əldə olunmuş nəticələr Chromas LITE 2.1.1, CAP3, MEGA6, Tassel 5 və BioEdit kimi bioinformatiq proqramların köməyilə analiz edilmişdir.

Cədvəl 1. Tədqiqat işində istifadə olunmuş 48 payızlıq yumşaq buğda genotipləri

Nö	Nümunələr	Mənşəyi	Nö	Nümunələr	Mənşəyi
1.	SG-U 8069	CZ	25.	COMP1/5/BEZ//TOB/8156/4/ON/3/TH*6/KF//LEE *6/K/6/TAST/SPRW..//ALTAY/8/BURBOT-6	TCI
2.	GOBUSTAN	AZB	26.	AGRI/NAC//ATTILA	MX-CIT
3.	KRASNOVODOPADSKAYA 211	KAZ	27.	DESTIN	RO-FL
4.	PROSTOR	BG	28.	DEMİR	TR-ANK
5.	GEREK	TR-ESK	29.	DYUOPEBUS	MOL
6.	UBILEYNAYA 100	RUS-KR	30.	OK00421	USA-OK
7.	BAYRAKTAR	TR-ANK	31.	ALTAY	TR-ESK
8.	HAMSI-1	MX-TCI	32.	AKINCI-84	AZB
9.	BEZOSTAYA1	TR-ESK	33.	GRS1201/TAM202	US-ARS-Lincoln
10.	KARAHAN	TR-KON	34.	MIMA	BG
11.	MVMA/MV12/F2098	HU-MV	35.	NIKONIYA	UKR-OD
12.	STARSHINA	RUS-KR	36.	LC924/PETJA	UKR-OD
13.	CO 970547-7	USA-CO	37.	PODOIMA	BG-SAD
14.	ZUBKOV	KYR	38.	STEKLOVIDNAYA24	MOL
15.	MV06-02	HU-MV	39.	DALNITSKAYA	KAZ
16.	GLORIA	RO-FL	40.	VITA	UKR
17.	LC 909 MIMA	BG-KC	41.	KHARKOVSKAYA107	RUS-KR
18.	TX96V2847	US-TX	42.	AZERI	AZB
19.	U1254-1-8-1-1/TAM-202	USA-TX	43.	453	KAZ
20.	SONMEZ	TR-ESK	44.	SG-S1915	CZ
21.	ARLIN/YUMA	USA-KSU	45.	MADSEN/MALCOLM	OSU
22.	ERITR 9945	KYR	46.	7C/CNO//CAL/3/YMH/4/VP...	OSU
23.	GRUIA	RO-FL	47.	ID 80-628/3/CER/YMH...	OSU
24.	MV DALMA	HU-MV	48.	U1254-7-9-2-1/TX86A5616/RINA-6	TCI

Cədvəl 2. Dizayn edilmiş praymerlər və onların əsas göstəriciləri**GenBank:** HM015905.1*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides* DRE-binding transcription factor 1.3 mRNA, complete cds

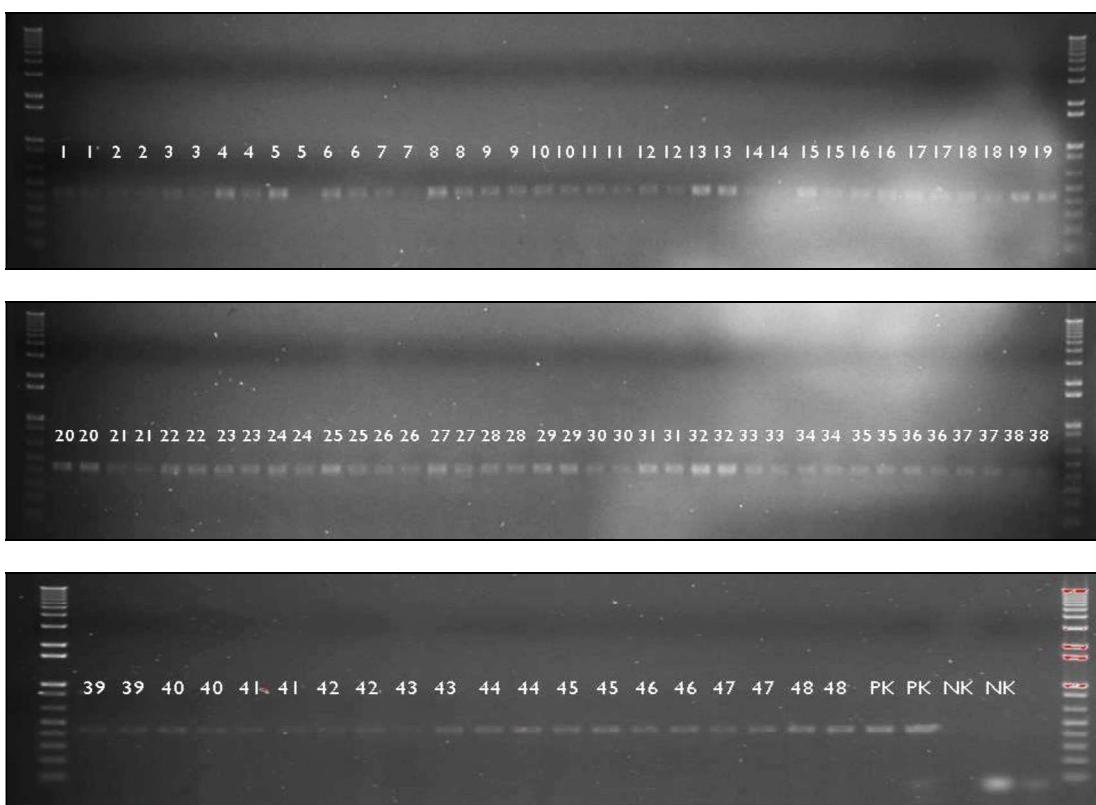
Praymer: 1ABA					
Praymer	Başlandığı mövqə	uzunluq	T _m	GC%	Ardicilliq 5' - 3'
Düzüna praymer	2	22	67.77	59.09	TGACGGTAGATCGGAAGGACGC Delta G: -4,62 kkal/mol
<i>Self dimer</i>					
Əksinə praymer	333	22	63.55	50.00	CCTCTTGAAACCTGTGGATCA Delta G: -4,62 kkal/mol
<i>Self dimer</i>					
<i>Hetero dimer</i>					Delta G: -4,67 kkal/mol
İlgək					əmələ gətirmir
Praymer: 2ABA					
Praymer	Başlandığı mövqə	uzunluq	T _m	GC%	Ardicilliq 5' - 3'
Düzüna praymer	312	22	63.55	50.00	TGATCCACAGGGTCAAAGAGGG Delta G: -4,62 kkal/mol
<i>Self dimer</i>					
Əksinə praymer	751	22	60.10	50.00	CATCTGGCTGGGAGTAAATCTC Delta G: -3, 17 kkal/mol
<i>Self dimer</i>					
<i>Hetero dimer</i>					Delta G: -5,02 kkal/mol
İlgək					əmələ gətirmir
Praymer: 3ABA					
Praymer	Başlandığı mövqə	uzunluq	T _m	GC%	Ardicilliq 5' - 3'
Düzüna praymer	730	22	60.10	50.00	GAGATTACTCCCAGGCCAGATG Delta G: -3,17 kkal/mol
<i>Self dimer</i>					
Əksinə praymer	1150	21	60.00	47.62	ACTCGCTCATCTCAGCATCAT Delta G: -4,74 kkal/mol
<i>Self dimer</i>					
<i>Hetero dimer</i>					Delta G: -6,6 kkal/mol
İlgək					əmələ gətirmir

NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Məlum olduğu kimi hazırda genomiks haqqında məlumatlar müxtəlif açıq girişli-ictimai və giriş-i məhdudlaşdırılmış fərdi məlumat bazalarında saxlanılır. Ən çox istifadə edilən və ictimaiyyət üçün açıq olan məlumat bazası Milli Biotexnologiya İnformasiya Mərkəzi (MBİM-NCBI) tərəfindən idarə olunur. Tədqiqat işində, ilk növbədə öyrənilən genin amplifikasiyası məqsədilə bugandan *Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides* yarımnövünün *TdicDRF1* transkripsiyası amilinin 1167 nukleotid cütündən ibarət olan MRNT-nin ardıcılılığı (GenBank: HM015905.1) MBİM məlumat bazasından yüklənilmiş və üç hissəyə ayrırlaraq müəyyən sahələrdə bir-birinin üzərini örtən (overlapping) üç cüt praymer dizayn edilmişdir (Cədvəl 2). Məlumdur ki, hər bir PZR reaksiyasının səmərəliyi və həssaslığı istifadə olunan praymerin keyfiyyətindən çox asılıdır. Belə ki, praymerlərin uzunluğu, birləşmə temperaturu, GC tərkibi və ardıcılığı və s. əsas göstəricilər hesab olunduğundan, onların dizayn edilməsi zamanı bütün qeyd olunanlar nəzərə alınmış, düzünə və əksinə praymerlərin özləri (*self dimer*) və ya bir-birləri ilə (*hetero dimer*) dimer, həmçinin ilgək (*hairpin*) əmələ gətirmə ehtimalları yoxlanılmışdır (Singh and Kumar, 2001). İlkin olaraq praymerlər 10 ədəd müxtəlif mənşəli buğda genotiplərində tədqiq olunan genin amplifikasiyası üçün istifadə edilmiş və aqaroza gelində alınmış nəticələrə əsasən 1ABA

paymeri vasitəsilə sintez olunmuş fragmentlərin uzunluğunun 2000-3000 n.c., 2ABA və 3ABA praymerləri vasitəsilə sintez olunmuş fragmentlərin uzunluğunun isə 300-400 n.c.-ə bərabər olması müəyyənləşdirilmişdir. Bu isə birinci fragmentin həm intron və ekzonlardan ibarət olduğunu söyləməyə əsas vermişdir. Digər sintez olunan fragmentlərin uzunluğu isə praymerlərin dizayn edilməsi zamanı gözlənilən uzunluğa bərabər, yəni yalnız MRNT-də təmsil olunan müəyyən bir hissəyə uyğun olmuşdur ki, bu da onların yalnız genin hər hansı bir ekzonuna aid hissəni əhatə etməsini göstərir. Növbəti mərhələdə tədqiq olunan 48 nümunənin hamısında hər üç praymerin istifadəsilə *TdicDRF1* geninin olub-olmaması yoxlanılmış və nəticədə bütün genotiplərdə qeyd edilən genin amplifikasiyasının getməsi müşahidə edilmişdir. Bütün tədqiq olunan buğda genotiplərində *TdicDRF1* geninin mövcudluğu aşkar edildikdən sonra genin 3' sonluğundakı təxminən 424 n.c. uzunluqlu fragmentinin Sanger üsulu əsasında hər iki istiqamətdə (düzünə və əksinə zəncirlərin hər biri) sekvenslənməsi həyata keçirilmişdir.

Alınmış xromatoqramlardahəqiqi polimorfizm ilə sekvensin xətası *Chromas LITE 2.1.1* kompyuter programı vasitəsilə müəyyənləşdirilmişdir. Belə ki, sekvens üçün istifadə olunmuş DNT-nin keyfiyyəti və ya miqdarı aşağı olduqda, yaxud oxunuşda hər hansı bir xəta baş verdikdə bu proses xromatoqramdakı dalgalarda əlavə simvollar şəklində öz əksini tapır (məsələn N, Y və s.).



Səkil 1. 3ABA praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş frangmentlər.

Şəkil 2. Tək nukleotid polimorfizminin (TNP) müəyyən edilməsi, TASSEL 5.0.8.

Daha sonra fragməntin düzünə və əksinə istiqamətdə oxunmuş eyni fragmənləri FASTA formatına salınaraq *CAP3* programından istifadə edilməklə kontiqlər (contigs-contiguous sequences) əldə olunmuş və bütün nümunələrin kontiqləri *BioEdit Sequence Alignment Editor* programı vasitəsilə düzənləndirilmişdir (alignment). Sonra *TASSEL 5.0.8* bioinformatik programının istifadəsi ilə bütün öyrənilən genotiplərin eyni gen fragməntində tək nukleotid polimorfizmləri (TNP) müəyyən edilmişdir. Tək nukleotid polimorfizmlərinə daha çox genomun kodlaşdırmanın hissələrində rast gəlinsə də, kodlaşdırıcı və ya tənzimləyici funksiyalı regionlar-

da da müşahidə olunurlar. Gendəki yerinə görə TNP-lər exon, intron və promotor TNP-lər kimi fərqləndirilir. Kodlaşdırıcı sahələrdəki bu cür müxtəlifliklər isə sinonim və qeyri-sinonim TNP-lər kimi təsnifləşdirilir. Qeyri-sinonim TNP-lər zülal ardıcılığında həmin kodonun kodlaşdırıldığı amin turşularının dəyişməsinə səbəb olur və bu dəyişiklik amin turşularının xarakterindən asılı olaraq konserativ və qeyri-konserativ olur. Qeyri-konserativ dəyişiklik yaranan polimorfizm, zülallarda struktur dəyişikliyinə səbəb ola bilər ki, bu da nəticədə onların funksiyasını dəyişir. Sinonim tipli mutasiyalar zamanı yaranan polimorfizm zülalda amin

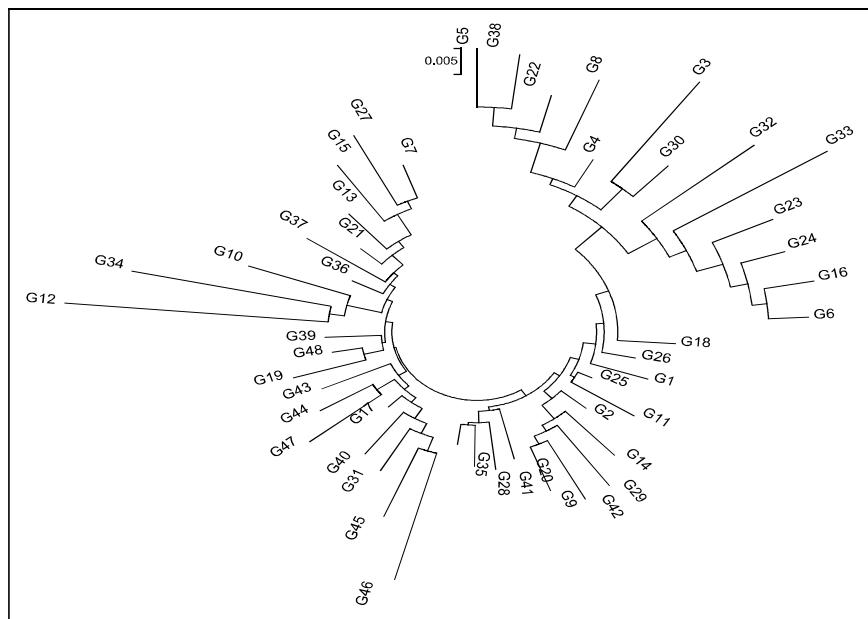
turşularının dəyişilməsinə səbəb olmur. Nuk-leotid-lərin variasiyasına əsasən isə TNP-lərin 2 növü məlumdur: tranzisiya və tranversiya. Tranzisiya zamanı purinlər purinə (A – G), primidinlər isə primidinə çevirilir (C – T). Transversiya tipli dəyişilmə zamanı isə (A – C, A – T, G – C, G – T) purinlər primidinə, primidinlər isə purinə çevirilir.

3ABA praymeri vasitəsilə amplifikasiya olunmuş 424 n.c.-dən ibarət gen fragmentində ümumiyyətdə 94 TNP müəyyən edilmişdir (Cədvəl 3, ixtisarla). Bunlardan 48-i tranzisiya tipli TNP-lərə aid olub umumi polimorfizmin 51%-ni, 27-i isə transversiya tipli TNP-lərə aid olub 29%-ni təşkil et-

mişdir. Həmçinin öyrənilən fragmntin 342 və 369 n.c. mövqelərində 2 InDel (insersiya və yaxud delesiya), 17 halda isə bir nukleotidin 3 fərqli nukleotidlə əvəz olunması müşahidə olunmuşdur (məs. A/T/C). Nəzəriyyədə qeyd olunur ki, nukleotid transversiyalarının sayı tranzisiyaların sayından 2 dəfə çoxdur, əksinə tranzisiyaların rastgəlmə tezliyi 1,5-2,5 ədəd transversiyaların tezliyindən yüksəkdir. Bu isə CpG dinukleotidlərində 5-metilsitozinin timidinə görə yüksək spontan deaminlaşmə (amin qrupunun ləğv edilməsi) səviyyəsi ilə izah oluna bilər (Khlestkina and Salina 2006).

Cədvəl 3. Gen fragmentində müəyyən edilmiş Tək Nukleotid Polimorfizminin (TNP) mövqeyi (ixtisarla)

TNP-nin növü və mövqeyi	TNP-lərin rast gəlmə tezliyi	Genotiplər üzrə nukleotid əvəzedilmələri
T/A (1)	27/21	T- G 2; 4; 5; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15; 16; 18; 19; 21; 23; 24; 27; 30; 34; 35; 36; 38; 41; 42; 48
	56% T 44% A	A G 1; 3; 8; 17; 20; 22; 25; 26; 28; 29; 31; 32; 33; 37; 39; 40; 43; 44; 45; 46; 47
T/G (2)	31/17	T- G1; 2; 7; 9; 10; 14; 15; 17; 19; 20; 21; 25; 26; 27; 28; 29; 31; 34; 35; 36; 37; 39; 40; 41; 42; 43; 44; 45; 46; 47; 48
	65% T 35% G	G G3; 4; 5; 6; 8; 11; 12; 13; 16; 18; 22; 23; 24; 30; 32; 33; 38
T/C (10)	43/5	T- G 1-10; 13-19; 21-29; 31-33; 35-48
	90% T 10% C	C G11; 12; 20; 30; 34
G/T (17)	45/3	G- G 1-2; 4-7; 9-37; 39-48
	94% G 6% T	T□ G 3; 8; 38



Şəkil 3. TNP-lor əsasında 48 yumşaq buğda genotipinin klaster analizi vasitəsilə qruplaşdırılması

MEGA6 bioinformatik programı vasitəsilə gen fragmentində müəyyən edilmiş TNP-lər əsasında Kimura 2-parameter metodundan istifadə edilməklə genetik məsafə matrisi qurulmuşdur. Neighbor-Joining metodu və klaster analizinin nəticəsində tədqiq olunmuş 48 yumşaq buğda genotiplərinin 424 n.c. uzunluqlu sekvesnlərində mövcud olan TNP-lər nümunələri 2 əsas və 5 yarımklastere ayırmışdır.

1-ci yarımqrup klaster müxtəlif mənşəli 13 genotipi birləşdirərək, ümumi genotiplerin 27,1%-ni təşkil etmişdir. Bu qrupda genetik məsafə indeksinə görə genetik oxşarlıq əmsalının minimum və maksimum qiymətləri müvafiq olaraq 0,012-0,061 arasında dəyişmişdir. Belə ki, yarımqrup daxilində genetik məsafə baxımından ən yaxın genetik oxşarlıq 0,012 qiymətində 6-ci (Ubiley-naya 100) genotiplə 24-cü (Mv Dalma) genotip arasında, ən uzaq genetik məsafə isə 0,061-ə bərabər genetik məsafədə 5-ci (Gerek) genotiplə 33-cü (Grs1201/Tam202) genotip arasında aşkar edilmişdir. Genetik məsafə baxımından bir-birinə oxşar (və ya yaxın) olan mününələrin nukleotid ardıcılığına və TNP tərkibinə nəzər salıqlıda, 24 nömrəli genotiplə 6 nömrəli genotipin müqayisəli analizi zamanı 5 TNP (3 transversiya - 60%, 2 tranzisiya - 40%) müəyyən edilmişdir. Göstərilən genotiplərin 424 n.c. uzunluqlu fragmentlərində eyni nukleotid mövgələrində tək nukleotid əvəzlənməsi (TNP) həmin nümunələri eyni klasterdə birləşdirərək onların genetik oxaşarlığını göstərmişdir. Genetik məsafə indeksinə əsasən bir-birindən uzaq olan mününələr TNP-lərin sayına görə daha çox fərqlənmişlər. Belə ki, 5-ci genotiplə 33-cü genotip arasında 24 TNP müəyyən edilmişdir. Bunlardan 70,8%-nin (17) transversiya, 29,2%-nin (7) isə tranzisiya tipli TNP-lər olduğu müəyyən edilmişdir. 2-ci yarımqrup ümumilikdə 10 genotipi əhatə etmişdir ki, bu da 48 genotipin 21,7%-ni təşkil etmişdir. 3-cü yarımqrup genotiplərin 8,3%-ni təşkil edərək, cəmi 4 nümunədən (G20, G28, G35, G41) ibarət ən kiçik klaster kimi qiymətləndirilmişdir. Yarımqrup daxilində genetik oxşarlıq 0,012-0,024 səviyyələrində dəyişmişdir. Qeyd etmək lazımdır ki, bu yarımqrupda geniş hüdudlu variasiya müşahidə edilməmiş, belə ki, genotiplər bir-birindən çoxda fərqlənməmişdir. Həmçinin yarımqrupa daxil olan digər genotiplərin nukleotid ardıcılığını müqayisə etdikdə də müvafiq olaraq 6-7 TNP (tək nukleotid əvəzlənməsi) müşahidə edilmişdir. 4-cü yarımqrup 8 genotipdən ibarət olmaqla, ümumi dendroqramın 16,7%-ni, 5-ci yarımqrup isə 13 genotipi əhatə etməklə, dendroqramın 27,1%-ni təşkil etmişdir. Beləliklə, klaster analizi genotipləri TNP-lərin sayı əsasında qruplaşdırılmışdır. Belə ki, TNP-lərin miqdalarının (tək nukleotid əvəzlənməsi) azlığı genotipləri oxşar, çox olması isə onları uzaq genotiplər kimi ayırmışdır.

Gələcək tədqiqatlarımızda biz müəyyən etdiyimiz TNP-lərdən istifadə edərək TNP əsaslı praymerlər dizayn edə bilər və həmin praymerlərdən quraqlığa davamlı buğda sortlarının qiymətləndirilməsində, eyni zamanda seleksiya proqramlarında istifadə edə bilərik.

MİNNƏTDARLIQ

Tədqiqat işi Avropa Komissiyası tərəfindən maliyyələşdirilən Erasmus Mundus 2-ci Fəaliyyət Programı çərçivəsində elan olunmuş ALRAKIS II layihəsi əsasında yerinə yetirilmişdir. Tədqiqat işinin həyata keçməsində dəstəyi olan Varşava Təbiət Elmləri Universitetinin (SGGW) Professoru Monika Rakoczy Trojanowskaya və institutun "Bitki seleksiyası, Genetikası və Biotexnologiyası" şöbəsinin əməkdaşlarına təşəkkür edirik.

ƏDƏBİYYAT SİYAHISI

- Əliyev R.T., Abbasov M.Ə., Rəhimli V.R.** (2014) Stres və bitkilərin adaptasiyası. Bakı: Elm, 348 s.
- Agarwal P.K., Agarwal P., Reddy M.K., Sopory S.K.** (2006) Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Reports*, **25(12)**: 1263–1274.
- Brookes A.** (1999) The Essence of SNPs. *Gene*, **234**: 177–186.
- Deschamps S., Campbell M.** (2010) Utilization of next-generation sequencing platforms in plant genomics and genetic variant discovery. *Mol. Breed.*, **25(4)**: 553–570.
- Edwards K.J., Poole R.L., Barker G.L.A.** (2008) SNP discovery in plants. In: Henry R.J. (ed) *Plant genotyping II: SNP Technology*. Wallingford, Oxfordshire, pp. 1–29
- Ganal M.W., Altmann T., Röder M.S.** (2009) SNP identification in crop plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **12**: 211–217
- Hikmet B., Melda K., Kuaybe Y.K.** (2013) Drought Tolerance in Modern and Wild Wheat. *The Scientific World Journal, Review Article ID 548246*, **2013**: 16 p.
- Huseynova I.M., Rustamova S.M.** (2010) Screening for drought stress tolerance in wheat genotypes using molecular markers. *Proceedings of ANAS (biological Sciences)*, **65(5-6)**: 132-139
- Khlestkina E.K., Salina E.A.** (2006) SNP markers: methods of analysis, ways of development, and comparison on an example of common wheat. *Genetika*, **42**: 725-730.
- Lucas S., Durmaz E., Akpnar B.A., Budak H.** (2011) The drought response displayed by a DRE-

- binding protein from *Triticum dicoccoides*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **49**(3): 346–351.
- Murray M.G., Thompson W.F.** (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.*, **8**: 4321–4326.
- Riechmann J.L., Heard J., Martin G. et al.** (2000) *Arabidopsis* transcription factor: genome wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, **290**: 2105–2110
- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K.** (1997) Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol.*, **115**: 327–334.
- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K.** (2000) Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **3**: 217–223/
- Singh V.K., Kumar A.** (2001) PCR primer design. *Mol. Biol. Today*, **2**: 27–32
- Varshney R.K., Spurthi N., Nayak S., May G.D., Jackson S.A.** (2009) Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends Biotechnol.*, **27**: 522–530.

**Сравнительное Изучение Гена TdicDRF1 РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ
(*Triticum aestivum* L.) НА ОСНОВЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ (ОНП)**

Д. Мурсалова, З.И. Акпаров

Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана

48 генотипов мягкой озимой пшеницы были подвергнуты скринингу на присутствие гена TdicDRF1, кодирующего фактор транскрипции (ABA-независимый). После частичного секвенирования их сравнивали на однонуклеотидный полиморфизм. В амплифицированных фрагментах гена исследуемых образцов в общей сложности было выявлено 94 одиночных нуклеотидных полиморфизма (ОНП), 48 из которых принадлежали к транзиционному, а 27 - к трансверсному типам, представляющим соответственно 51% и 29% от общего полиморфизма.

Ключевые слова: ОНП, секвенирование, транскрипционный фактор, абсцизовая кислота, TdicDRF1

**Comparative Study Of Different Soft Wheat (*Triticum aestivum* L.) Accessions Based
On The Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Of The TdicDRF1 Gene**

J. Mursalova, Z.I. Akparov

Institute of Genetic Resources, Azerbaijan National Academy of Sciences

In this study 48 genotypes of bread winter wheat were screened for the presence of the gene TdicDRF1 (ABA-independent) coding the transcription factor and after the partial sequencing they were compared by single-nucleotide polymorphism. In total, 94 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were identified in the amplified gene fragments of the studied samples and 48 of them belonged to transition, 27 to transversion type of SNPs, representing accordingly 51% and 29% of the total polymorphism.

Key words: SNP, sequence, transcription factor, abscisic acid, TdicDRF1