

УДК 635.654; 631.526.32
AGRIS F30

https://doi.org/10.33619/2414-2948/100/24

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ В КОЛЛЕКЦИИ *Vigna Savi* И ХАРАКТЕРИСТИКА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

©Гулиева Л. Н., Гянджинский государственный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, leyla-piriyeva@bk.ru

©Агазаде Г. Ф., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, gunelagazade1996@mail.ru

©Мусаева С. Э., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, musayevasevinc11@gmail.com

©Алиева Д. Л., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, nicat-zamanov-94@mail.ru

GENETIC DIVERSITY IN THE *Vigna Savi* COLLECTION AND CHARACTERISTICS USING MOLECULAR MARKERS

©Gulieva L., Ganja State University, Ganja, Azerbaijan, leyla-piriyeva@bk.ru

©Agazade G., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, gunelagazade1996@mail.ru

©Musaeva S., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, musayevasevinc11@gmail.com

©Alieva D., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, nicat-zamanov-94@mail.ru

Аннотация. Генетическое разнообразие оценивалось по биоморфологическим признакам и маркерам ISSR в коллекции из 30 образцов, принадлежащих к роду *Vigna Savi*. В изученной коллекции наблюдалась большая изменчивость по биоморфологическим признакам, были отобраны генотипы с превосходящими показателями. Самый высокий выход у К-259 (108 г) и *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc. (250 г). Среди образцов *Vigna* высота до первого боба составила 12,5–47,0 см, что свидетельствует о том, что подавляющее большинство изученных генотипов пригодны для механизированной уборки. Для 30 образцов с ISSR-маркерами всего амплифицировано 22 аллеля и выявлены генотипы с уникальными аллелями в коллекции. Средний индекс генетического разнообразия коллекции оказался очень высоким — 0,73 единицы, что свидетельствует о высоком генетическом разнообразии между образцами *V. radiata* (L.) R. Wilczek и *V. unguiculata* (L.) Walp. По маркерам ISSR выявлено в среднем 73% полиморфизма. Полученные результаты позволяют отобрать генетически различные образцы с лучшими экономическими показателями и использовать их в качестве родительских форм для получения рекомбинантов, имеющих селекционное значение.

Abstract. Genetic diversity was assessed by biomorphological characters and ISSR markers in a collection of 30 accessions belonging to the genus *Vigna Savi*. In the studied collection, great variability in biomorphological characteristics was observed; genotypes with superior indicators were selected. The highest yield of K-259 (108 g) and *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc. (250 g). Among *Vigna* accessions, the height to the first pod was 12.5-47.0 cm, which indicates that the vast majority of the studied genotypes are suitable for mechanized harvesting. For 30 samples with ISSR markers, a total of 22 alleles were amplified and genotypes with unique

alleles in the collection were identified. The average genetic diversity index of the collection was very high — 0.73 units, indicating high genetic diversity between *V. radiata* (L.) R. Wilczek and *V. unguiculata* (L.) Walp. accessions. An average of 73% polymorphism was identified using ISSR markers. The results obtained make it possible to select genetically different samples with the best economic indicators and use them as parental forms to obtain recombinants of breeding value.

Ключевые слова: вигна, ISSR, урожайность, генетическое разнообразие, молекулярный маркер.

Keywords: *Vigna*, ISSR, crop yield, genetic diversity, molecular marker.

Vigna Savi, один из богатейших родов семейства бобовых, включает ряд экономически важных культурных и дикорастущих видов. Широкое биоразнообразие рода встречается в Африке, Северном Кавказе, Индии и других странах Азии [8]. Подавляющее большинство видов *Vigna* являются самоопыляющимися однолетниками, и, как и у других бобовых, их семена очень богаты запасным белком, крахмалом и незаменимыми аминокислотами. *Vigna radiata* (L.) Wilczek и *V. unguiculata* (L.) Walp. — наиболее популярные виды рода *Vigna*, используемые в пищевых и кормовых целях. *V. radiata* и *V. unguiculata* широко культивируются и потребляются населением Азии и Африки в качестве овощей, зерна, кормов и фуража в качестве источника дешевого белка. Растущее осознание важности состава продуктов питания для здоровья человека привело к повышению интереса и к включению в рацион большого количества фруктов и овощей. Для достижения цели более сбалансированного питания особое значение имеет увеличение потребления необходимых питательных веществ, особенно бобовых, которые представляют собой устойчивый источник недорогого белка. Однако потребление бобовых также накладывает некоторые ограничения, которые необходимо учитывать, чтобы избежать неблагоприятного воздействия на благополучие и здоровье потребителей.

В ряде работ отмечается, что виды *V. radiata* и *V. unguiculata* представляют собой расходящиеся, но параллельные эволюционные линии [4]. Изученные виды имели одинаковое число хромосом ($2n=22$) и сходное содержание ДНК ($1,0 \text{ ng}/2C$), что позволяет предположить, что у этих видов имеется большое количество общих ортологичных генов. В состав зерна вигны входят 53% углеводов, 2% жиров и 22–33% белков, оно богато лизином. Растение устойчиво к засухе и играет важную роль в развитии сельского хозяйства в засушливых и полусушливых районах. Хотя Азербайджан и не считается родиной вигны, принадлежащая к этому роду сортовая *azerbaidjanika* — является редкой формой и встречается только в нашей республике. Большое народнохозяйственное значение имеет создание в нашей республике коллекций видов *V. radiata* и *V. unguiculata*, пополнение этих коллекций новыми продуктивными и механизированными сортами.

С этой целью в Институте генетических ресурсов Министерства образования АР была создана и регулярно использовалась в качестве объекта исследования коллекция различных видов рода *Vigna*, в том числе *V. radiata* и *V. unguiculata*. Эффективное сохранение и использование коллекций требует обнаружения и оценки содержащихся в них генетических вариаций.

На сегодняшний день оценка коллекции азербайджанской вигны проводится только на основании морфологических признаков. Хотя эти признаки важны как основные экономические показатели, они имеют некоторые ограничения, например, низкую наследственность (особенно количественные признаки, на которые влияет окружающая

среда). Технология молекулярных маркеров, основанная на изучении полиморфизма ДНК, позволяет преодолеть эти ограничения, дифференцировать даже близкие сорта и формы и получать точные результаты в короткие сроки, независимо от цикла роста растения. Несколько систем маркеров применялись для генетического картирования, оценки генетического разнообразия, создания основных коллекций и скрининга устойчивости к стрессорам у видов *Vigna*. Среди них маркеры RFLP, RAPD, SCOT, SSR и ISSR [1,2,3,5,7]. ISSR-маркеры, основанные на изучении локусов между микросателлитными областями, широко распространенными в геноме, являются легкими и гипервариабельными, позволяя анализировать большое количество локусов одновременно [6].

Основной целью исследования было изучение генетической изменчивости и генетического родства на основе биоморфологических признаков и маркеров ISSR в коллекции образцов *V. radiata* и *V. unguiculata*.

Материалы и методы

Объект исследования составили 30 образцов, представляющих виды *V. radiata* и *V. unguiculata*. Образцы были посеяны на Абшеронской экспериментальной базе Института генетических ресурсов Министерства образования АР в двух повторностях каждого образца и над ними проведены фенологические наблюдения. После сбора из каждого образца отбирали по 5 растений и записывали их структурные характеристики. Эти признаки включали высоту растения, высоту до первого стручка, количество стручков на растение, количество зерен на растение, массу зерен на растение, количество зерен на стручок, размер стручка, массу 100 зерен и урожайность.

ДНК выделяли из образцов листьев, взятых от каждого генотипа, в лабораторных условиях, проверяли количество и качество ДНК. Затем на образцах проводили PZR — реакцию с двумя маркерами ISSR. Общий объем PZR -реакции составлял 20 мкл и состоял из 2 μl 10-кратного PZR -буфера, 1 μl 50 mM MgCl₂, 1 мкл 10 μlM dNTP, 2 μl 10 μlM праймера, 0,1 μl 5U/ μl Taq-полимеразы и 2 μl 50 ng/μl ДНК. ПЦР проводили с 35 циклами по 94 °C по 2 мин, каждый цикл состоял из 94 °C в течение 40 с, температуры отжига 40 с, 72 °C в течение 2 мин и 72°C в течение 3 мин. Продукты амплификации анализировали электрофоретически в 1,5–2% агарозном геле и визуализировали с помощью аппарата для документирования Bio-Rad Gel. Результаты подвергали статистической обработке и рассчитывали индекс генетического разнообразия по формуле Вейра [9].

Результаты исследований и обсуждения

В исследованных образцах высота растения варьировала в пределах 30–150 см, самый высокий генотип — VIG-3, самый низкий — K-771. Кроме того, генотипы K-261, VIG-36 отличались от остальных высокой окраской. Одна из основных характеристик, высота до 1-го боба, составила 12,5–47,0 см, что свидетельствует о том, что подавляющее большинство изученных генотипов пригодны для механизированной уборки. Самый длинный стручок 32,5 см, наблюдался у подвида *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc.

Показатели количества семян в одном растении колеблется в широких пределах от 57 до 240 штук, а количество семян у бобов колебалось в пределах 8–16 штук. Максимальный показатель зафиксирован у образца K-252, высокие показатели также имели образцы K-259 и K-262 (130 и 160 единиц соответственно).

Известно, что масса 100 зерен является одним из важнейших показателей урожайности. Самый низкий показатель указанного признака в изученной коллекции составил 3,0 г, а

самый высокий показатель — 18,7 г. К-252 (23,5 г) по массе зерна в одном растении, выделены образцы *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc. (22,5 г) и К-271 (29,1 г).

Конечный выход в коллекции из 30 образцов и изменение между ними составляет 15–260 г в зависимости от образцов. Самая высокая продуктивность К-259 (108 г) наблюдалась у *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc. (250 г).

Генотипы с превосходными показателями могут использоваться как непосредственно в хозяйствах для получения высоких урожаев, так и в качестве стартовых форм для приобретения новых сортов. Другой целью исследования была оценка генетического разнообразия локусов ISSR в коллекционных образцах, принадлежащих к роду *Vigna*. PZR проводили с использованием двух доминантных мультилокусных праймеров ISSR (UBC 818 и UBC 835) и получали генетический профиль образцов для изученных локусов (Рисунок).

Для коллекции из 29 образцов всего 22 аллели были амплифицированы с помощью двух праймеров, а для некоторых генотипов были зарегистрированы уникальные аллели. Число аллелей, синтезированных праймерами, составило 11 единиц. Найме Галми с коллегами (2009) удалось получить в среднем 8,7 балла в 19 образцах *Vigna* алжирского происхождения с 12 праймерами ISSR [6].

В исследованиях оба праймера показали высокий полиморфизм, процент полиморфизма по праймерам составил 64% и 81% соответственно. В коллекции обнаружен в среднем 73% полиморфизма. Следует отметить, что коэффициент полиморфизма и генетического разнообразия коллекции зависит от количества и эффективности праймеров. Несмотря на то, что в наших исследованиях использовались только два праймера, высокий полиморфизм свидетельствует об эффективности использованных праймеров и гипервариабельности анализируемых локусов.

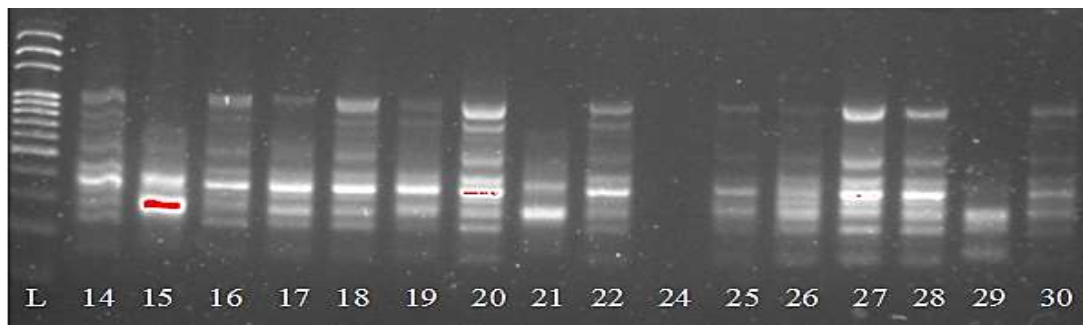


Рисунок. Продукты амплификации, синтезированные для некоторых образцов *Vigna* с праймером UBC 835

Индекс генетического разнообразия, выявленный с помощью праймера UBC 818, составил 0,83, а с праймером UBC 835—0,63 ед. Эти показатели свидетельствуют о том, что коллекция видов *V. radiata* и *V. unguiculata* очень богата с генетической точки зрения. Тот факт, что средний коэффициент генетического разнообразия по коллекции составляет 0,73 единицы, еще раз подтверждает этот факт.

Успех программ селекции в некоторой степени зависит от того, являются ли выбранные экземпляры генетически далекими или близкими к родительской форме. Использование при скрещивании генетически различных образцов позволяет получать рекомбинанты с нужными аллелями. Поэтому результаты, полученные в результате исследовательской работы, после небольшого расширения могут быть использованы при прогнозировании селекционных программ, а также при генетической идентификации образцов на основе уникальных аллелей.

Вывод

Так, в коллекции, представляющей 2 вида рода *Vigna* (*V. radiata* и *V. unguiculata*), обнаружена широкая изменчивость как по биоморфологическим, так и по генетическим показателям. Самая высокая продуктивность К-259 (90,4 г) и *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc. (250 г). Средний полиморфизм в коллекции составил 73%, средний коэффициент генетического разнообразия — 0,73 единицы, что свидетельствует об очень богатой коллекции по микросателлитным локусам

Список литературы:

1. Agbicodo E. M., Fatokun C. A., Bandyopadhyay R., Wydra K., Diop N. N., Muchero W., Van der Linden C. G. Identification of markers associated with bacterial blight resistance loci in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] // *Euphytica*. 2010. V. 175. P. 215-226. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0164-5>
2. Ba F. S., Pasquet R. S., Gepts P. Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] as revealed by RAPD markers // *Genetic resources and crop evolution*. 2004. V. 51. P. 539-550. <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000024158.83190.4e>
3. Badiane F. A., Gowda B. S., Cissé N., Diouf D., Sadio O., Timko M. P. Genetic relationship of cowpea (*Vigna unguiculata*) varieties from Senegal based on SSR markers // *Genet. Mol. Res*. 2012. V. 11. №1. P. 292-304.
4. Singh S. R., Rachie K. O. Cowpea research, production, and utilization. Wiley, 1985.
5. Diouf D., Hilu K. W. Microsatellites and RAPD markers to study genetic relationships among cowpea breeding lines and local varieties in Senegal // *Genetic resources and crop evolution*. 2005. V. 52. P. 1057-1067. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-6107-z>
6. Ghalmi N., Malice M., Jacquemin J. M., Ounane S. M., Mekliche L., Baudoin J. P. Morphological and molecular diversity within Algerian cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces // *Genetic resources and crop evolution*. 2010. V. 57. P. 371-386. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9476-5>
7. Menancio-Hautea D. et al. Comparative genome analysis of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and cowpea (*V. unguiculata* L. Walpers) using RFLP mapping data // *Theoretical and Applied Genetics*. 1993. V. 86. P. 797-810. <https://doi.org/10.1007/BF00212605>
8. Singh M., Upadhyaya H. D., Bisht I. S. (ed.). Genetic and genomic resources of grain legume improvement. Newnes, 2013.
9. Weir B. S. Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates, Inc. Publishers, 1990.

References:

1. Agbicodo, E. M., Fatokun, C. A., Bandyopadhyay, R., Wydra, K., Diop, N. N., Muchero, W., ... & Van der Linden, C. G. (2010). Identification of markers associated with bacterial blight resistance loci in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Euphytica*, 175, 215-226. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0164-5>
2. Ba, F. S., Pasquet, R. S., & Gepts, P. (2004). Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] as revealed by RAPD markers. *Genetic resources and crop evolution*, 51, 539-550. <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000024158.83190.4e>
3. Badiane, F. A., Gowda, B. S., Cissé, N., Diouf, D., Sadio, O., & Timko, M. P. (2012). Genetic relationship of cowpea (*Vigna unguiculata*) varieties from Senegal based on SSR markers. *Genet. Mol. Res*, 11(1), 292-304.
4. Singh, S. R., & Rachie, K. O. (1985). *Cowpea research, production, and utilization*. Wiley.

5. Diouf, D., & Hilu, K. W. (2005). Microsatellites and RAPD markers to study genetic relationships among cowpea breeding lines and local varieties in Senegal. *Genetic resources and crop evolution*, 52, 1057-1067. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-6107-z>
6. Ghalmi, N., Malice, M., Jacquemin, J. M., Ounane, S. M., Mekliche, L., & Baudoin, J. P. (2010). Morphological and molecular diversity within Algerian cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57(3), 371–386. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9476-5>
7. Menancio-Hautea, D., Fatokun, C. A., Kumar, L., Danesh, D., & Young, N. D. (1993). Comparative genome analysis of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and cowpea (*V. unguiculata* L. Walpers) using RFLP mapping data. *Theoretical and Applied Genetics*, 86, 797-810. <https://doi.org/10.1007/BF00212605>
8. Singh, M., Upadhyaya, H. D., & Bisht, I. S. (Eds.). (2013). *Genetic and genomic resources of grain legume improvement*. Newnes.
9. Weir, B. S. (1990). *Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data*. Sinauer Associates, Inc. Publishers.

Работа поступила
в редакцию 15.02.2024 г.

Принята к публикации
27.02.2024 г.

Ссылка для цитирования:

Гулиева Л. Н., Агазаде Г. Ф., Мусаева С. Э., Алиева Д. Л. Генетическое разнообразие в коллекции *Vigna Savi* и характеристика с помощью молекулярных маркеров // Бюллетень науки и практики. 2024. Т. 10. №3. С. 164-169. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/100/24>

Cite as (APA):

Gulieva, L., Agazade, G., Musaeva, S., & Alieva, D. (2024). Genetic Diversity in the *Vigna Savi* Collection and Characteristics Using Molecular Markers. *Bulletin of Science and Practice*, 10(3), 164-169. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/100/24>