

УДК 577.20
AGRIS F30

https://doi.org/10.33619/2414-2948/112/05

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА И РАЗНООБРАЗИЯ *Vigna L.* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАРКЕРОВ ISSR И RAPD

- ©Агазаде Г. Ф., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, gunnel.agazade1996@mail.ru
©Мусаева С. Э., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, musayeva.sevinc11@gmail.com
©Оруджева Р. Н., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, orucovaremale@gmail.com
©Фаталиева Н. Г., Азербайджанский государственный аграрный университет,
г. Гянджа, Азербайджан, nfataliyeva32@gmail.com

STUDY OF GENETIC RELATEDNESS AND DIVERSITY OF *Vigna L.* ACCESSORIES USING ISSR AND RAPD MARKERS

- ©Agazade G., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, gunnel.agazade1996@mail.ru
©Musaeva S., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, musayeva.sevinc11@gmail.com
©Orujeva R., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, orucovaremale@gmail.com
©Fatalieva N., Azerbaijan State Agrarian University,
Ganja, Azerbaijan, nfataliyeva32@gmail.com

Аннотация. Молекулярно-генетические исследования были проведены на 30 образцах, принадлежащих к 2 видам рода *Vigna L.* — *V. unguiculata* и *V. radiata*. Однако, поскольку четкие линии не были получены для 2 образцов, представляющих вид *V. radiata*, анализы были продолжены на 28 генотипов *V. unguiculata*. Первоначально полимеразная цепная реакция проводилась с 5 праймерами ISSR, с 2 из которых (UBC 810 и UBC 812) не было синтезировано ни одного продукта амплификации для более чем половины образцов, тогда как для остальных 3 образцов были получены ампликоны для большинства образцов. С использованием праймеров UBC 810 и UBC 812 было синтезировано 8 (5 полиморфов) и 6 (3 полиморфа) последовательностей длиной 250–900 нп. соответственно. Другой профиль был получен для образца №12 AG-342 с маркером UBC 810 с последовательностью (GA)8T.

Abstract. Molecular genetic studies were performed on 30 samples belonging to 2 species of the genus *Vigna* - *V. unguiculata* and *V. radiata*. However, since clear lines were not obtained for 2 samples representing the species *V. radiata*, the analyses were continued on 28 genotypes of *V. unguiculata*. Initially, the polymerase chain reaction was carried out with 5 ISSR primers, with 2 of which (UBC 810 and UBC 812) no amplification product was synthesized for more than half of the samples, whereas for the remaining 3 samples amplicons were obtained for most samples. Using primers UBC 810 and UBC 812, 8 (5 polymorphs) and 6 (3 polymorphs) sequences of 250–900 bp in length were synthesized, respectively. Another profile was obtained for sample #12 AG-342 with marker UBC 810 with the sequence (GA)8T.

Ключевые слова: RAPD, ДНК, маркер, праймер, ISSR, генетическое родство, *Vigna*.

Keywords: RAPD, DNA, marker, primer, ISSR, genetic relationship, Vigna.

Вигна початковая, Вигна китайская (*Vigna unguiculata* (L.) Walp., $2n = 2x = 22$), также известный как Коровий горох, Коровий горох китайский, хорошо приспособлен к тропикам. Он охватывает около 50 тыс га обрабатываемых земель в Индии, Нигерии, Буркина-Фасо, Гане, Кении, Уганде, Малави, Шри-Ланке, Бирме, Бангладеш, Филиппинах, Индонезии, Таиланде и др. Все данные свидетельствуют о том, что вигна родом из Африки. Точный центр цивилизации неизвестен. Предполагаемым центром одомашнивания растения считаются Эфиопия, Центральная и Южная Африка. В Индии вигна известен со времен Вед. По данным Симмондса (1976), Западная Африка и Индия считаются центрами разнообразия этого растения. Однако основным местом происхождения вигны принято считать Африку, поскольку, хотя дикие подвиды этого вида были обнаружены в Африке, в Азии они не встречаются. *V. unguiculata* имеет более 20 синонимов. Известны 3 культурных и 2 диких подвида вигны: *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*, *Dolichos sesquipedalis* L., *Vigna sesquipedalis* (L.) Fuhrw.; *Vigna unguiculata* subsp. *Cylindrica* (L.) Verdc.; *Vigna unguiculata* ssp. *dekindtiana* (L.); *Vigna unguiculata* var. *mensensis* (Schweinf.) Maréchal, Mascherpa & Stainier.

Первые три из этих подвидов являются культурными, а два других — дикими. Многие ученые не рассматривают эти три подвида как отдельную группу, классифицируя их как *V. unguiculata* subsp. *unguiculata* и рассматривает их как межвидовую категорию — культигруппу. Сюда входят 5 групп сортов: *Unguiculata*, *Biflora*, *Sesquipedalis*, *Textilis* и *Melanophthalmus*. Представители группы сортов *Textilis* используются для производства волокна в некоторых регионах Нигерии. Слово «коровий горох» впервые было использовано в Соединенных Штатах в 1798 году [1]. Это название, вероятно, произошло от их использования в качестве корма для коров [2]. Черные бобы отличаются наличием отчетливо видимой черной точки на семени. *Susquipedalis* в переводе с латыни означает «пол фута». Это растение отличается необычайно длинными стручками. Коровий горох в основном используется в качестве сухого семенного материала, корма для животных, зеленого удобрения и покровной культуры [1, 2].

Хромосомы Вигны, имеющие диплоидный набор хромосом, малы и с ними трудно работать. Начинают применяться передовые цитогенетические методы, такие как флуоресцентное окрашивание хромосом и гибридизация *in situ*, которые, как ожидается, будут полезны для программ селекции растений в будущем. У вигны ($2n=22$) имеется 1 короткая (19 μm), 7 средних (26–36 μm) и 3 длинные (41–45 μm) хромосомы. Размер его генома составляет 620 миллионов пар нуклеотидов (нп). Геном вигны был секвенирован в 2019 г с помощью однонуклеотидного секвенирования в реальном времени на платформе PacBio (Pacific Biosciences of California, Inc., Менло-Парк, Калифорния, США). Всего было секвенировано 568 Gb последовательностей и аннотировано 29 773 локуса, кодирующих белки. В геноме коровьего гороха обнаружено 39,2% транспозонных элементов, 4% SSR и 5,7% неидентифицированных повторяющихся последовательностей. Повторяющиеся последовательности в основном сосредоточены в областях центромеры и перицентромеры. Составлен полный список из 159 генов и предложены стандартные символы генов на основе стандартных правил номенклатуры генов, принятых Международным комитетом по расширенным сигналам генов и Кооперативом по генетике [1-3].

Материал и методы исследования

Научно-исследовательские работы проводились в 2017-2018 гг на Абшеронской экспериментальной базе Института генетических ресурсов НАНА в условиях обычного

орошения. Посев проводили по методике на глубину 5-7 см, с шириной междурядий 60 см и расстоянием между растениями 5-10 см. В качестве семенного материала были взяты 30 образцов коровьего гороха, полученных из Генбанка Института генетических ресурсов НАНА. Образцы были подвергнуты сравнительному анализу.



Рисунок. Геном вигны. а-хромосомы; центромерная часть показана красной полосой

Анализ и обсуждение

Целью исследования была оценка генетического разнообразия и степени родства в коллекции *Vigna*, а также выявление генетически дивергентных форм для селекции. Известно, что в отличие от специфических праймеров, разработанных для одного растения, неспецифические ISSR- и RAPD-маркеры обладают способностью амплифицировать фрагменты ДНК в разных растениях. Однако информативность этих маркеров, их полиморфизм и возможность получения полезных для анализа профилей различаются в зависимости от изучаемого растения и коллекции.

Молекулярно-генетические исследования были проведены на 30 образцах, принадлежащих к 2 видам рода *Vigna* L. (*V. unguiculata*, *V. radiata*). Однако, поскольку четкие линии не были получены для 2 образцов, представляющих вид *V. radiata*, анализы были продолжены на 28 генотипов *V. unguiculata*.

Первоначально полимеразная цепная реакция проводилась с 5 праймерами ISSR, с 2 из которых (UBC 810 и UBC 812) не было синтезировано ни одного продукта амплификации для более чем половины образцов, тогда как для остальных 3 образцов были получены ампликоны для большинства образцов грунтовки. С использованием праймеров UBC 810 и UBC 812 было синтезировано 8 (5 полиморфов) и 6 (3 полиморфа) последовательностей длиной 250–900 н.п. (пара нуклидов) соответственно. Другой профиль был получен для образца № 12 AG-342 с маркером UBC 810 с последовательностью (GA)₈T.

Igwe D. O. et al. использовали 10 праймеров ISSR для оценки генетического разнообразия в 18 генотипах коровьего гороха, и только 4 из праймеров амплифицировали видимые полосы и использовались для дальнейшего анализа [3].

Используя праймер UBC 818, который амплифицирует последовательности между микросателлитными локусами (CA)₈G, было синтезировано 8 последовательностей для 28 образцов коровьего гороха, 6 из которых были полиморфными, что привело к проценту полиморфизма 75% (Таблица 1).

Таблица

ПОКАЗАТЕЛИ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ ISSR-МАРКЕРОВ

Наименование праймера	Последовательность праймера 5'-3'	Кол-во синтезируемых узлов	Кол-во полимор. Фич. узлов	Полиморфизм, %	Кэф. ген. разнов.	ЕПИ	КЭМ	ИР	ПД	СПД
UBC 818	(CA) ₈ G	8	6	75	0.83	0.36	4.5	1.62	3.36	0.56
UBC 835	(AG) ₈ YC	13	12	92.3	0.89	0.33	11.07	3.66	5.96	0.50
UBC 857	(AC) ₈ YG	7	4	57	0.69	0.33	2.3	0.76	1.7	0.43
UBC 810	(GA) ₈ T	8	5	62.5	0.54					
UBC 812	(GA) ₈ A	6	3	50	0.50					
Среднее		8.4	6	67.4	0.70	0.34	5.94	2.01	3.76	0.50
Общее		42	30							

ЕПИ – емкость полиформической информации, КГР – коэффициент генетической разновидности, КЭМ – коэффициент эффективности мультиплекса, ИР – индекс различия, ПД – показатель потенциала дискриминации, СПД – среднее ПД

Информационная емкость полиморфизма (ЕПИ) отражает способность праймера или комбинации праймеров обнаруживать полиморфизм между двумя случайно выбранными генотипами и основана на числе аллелей и распределении их частот. ЕПИ принимает минимальное значение (0) для мономорфных маркеров и максимальное значение (0,5) для маркеров, которые присутствуют в 50% генотипов, но отсутствуют в остальных 50%. В нашем эксперименте коэффициент генетического разнообразия (КГР) и информационная емкость полиморфизма (ЕПИ) для праймера UBC 818 составили 0,827 и 0,36 единиц соответственно, что является достаточно высоким показателем.

Размер синтезированных связей варьировался в диапазоне 250–1500 нп (пара нуклидов).

В результате различных комбинаций полученных линий было выделено 8 различных профилей для 28 генотипов.

Уникальный профиль был зарегистрирован для генотипов AG-342, K-1138 и сорта «Айла».

Вывод

Всего для коллекции коровьего гороха с ISSR-маркерами было синтезировано 28 аллелей со средним индексом полиморфизма 75%. Было обнаружено, что коллекция отличается богатым генетическим разнообразием (КГР=0,80; ЕПИ=0,34). Статистический анализ показал, что эффективность и разрешение праймеров UBC 835 и UBC 818 были высокими.

Список литературы:

1. Small E. Top 100 food plants. NRC Research Press, 2009.
2. Kole C. Pulses, sugar and tuber crops. Springer Science & Business Media, 2007. V. 3.
3. Igwe D. O., Afiukwa C. A., Ubi B. E., Ogbu K. I., Ojuederie O. B., Ude G. N. Assessment of genetic diversity in *Vigna unguiculata* L.(Walp) accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) and start codon targeted (SCoT) polymorphic markers //BMC genetics. – 2017. – Т. 18. – С. 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0567-6>

References:

1. Small, E. (2009). Top 100 food plants. NRC Research Press.
2. Kole, C. (2007). Pulses, sugar and tuber crops (Vol. 3). Springer Science & Business Media.
3. Igwe, D. O., Afiukwa, C. A., Ubi, B. E., Ogbu, K. I., Ojuederie, O. B., & Ude, G. N. (2017). Assessment of genetic diversity in *Vigna unguiculata* L.(Walp) accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) and start codon targeted (SCoT) polymorphic markers. *BMC genetics*, 18, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0567-6>

Работа поступила
в редакцию 27.01.2025 г.

Принята к публикации
09.02.2025 г.

Ссылка для цитирования:

Агазаде Г. Ф., Мусаева С. Э., Оруджева Р. Н., Фаталиева Н. Г. Изучение генетического родства и разнообразия *Vigna* L. с использованием маркеров ISSR и RAPD // Бюллетень науки и практики. 2025. Т. 11. №3. С. 40-44. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/112/05>

Cite as (APA):

Agazade, G., Musaeva, S., Orujeva, R., & Fatalieva, N. (2025). Study of Genetic Relatedness and Diversity of *Vigna* L. Accessories using ISSR and RAPD Markers. *Bulletin of Science and Practice*, 11(3), 40-44. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/112/05>