

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI  
BOTANİKA İNSTİTUTU**

---

---

*Əlyazması hüququnda*

**HAMİDEH JAVADI BƏXŞƏLİ QIZI**

**KƏKLİKOTUNUN BƏZİ NÖVLƏRİNİN BİOMÜXTƏİLİFLİYİNİN  
SİTOGENETİK VƏ MOLEKULAR XÜSUSİYYƏTLƏRİNİN  
TƏDQIQI**

2409.01 – Genetika

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru alimlik dərəcəsi almaq üçün təqdim  
olunmuş dissertasiyanın

**A V T O R E F E R A T I**

**BAKI-2013**

Dissertasiya işi Bakı Dövlət Universitetinin Biologiya fakultəsinin Genetika və Təkamül təlimi kafedrasında və İran İslam Respublikasının Meşələrin və Otluqların tədqiqatı İnstitutunun (RIFR) Molekulyar laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

**Elmi rəhbərlər:** Biologiya elmləri doktoru,  
Professor **M.Ş.Babayev**  
Ph.D. **S.M.Hesamzade Hecazi**

**Rəsmi opponentlər:** Biologiya elmləri doktoru,  
**İ.Ə.Şahmuradov**  
Biologiya elmləri namizədi,  
**İ.T.Əsgərov**

**Aparıcı təşkilat:** AMEA-nın Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun  
Texniki, yem və dərman bitkiləri şöbəsi

Dissertasiyanın müdafiəsi «\_28\_» \_\_06\_\_2013-ci il tarixdə saat  
\_\_-da AMEA Botanika İnstitutunun D.01.061 Dissertasiya Şurasının  
yığıncağında aşağıdakı ünvanda keçiriləcəkdir.

**Ünvan: Bakı şəhəri, Az1073, Badamdar yolu, 40.**

Dissertasiya ilə AMEA Botanika İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq olar.

Dissertasiyanın avtoreferatı «\_\_»\_\_\_\_2013-ci il tarixdə  
göndərilmişdir.

**D.01.061 Dissertasiya  
Şurasının Elmi katibi,  
b.e.d., professor**

**S.D.İBADULLAYEVA**

## GİRİŞ

**Mövzunun aktuallığı:** Dərman bitkiləri müxtəlif orqanlarının tərkibində ikincili sintez mənşəli metabolitlər saxladığına görə tibbi cəhətdən əhəmiyyətliyə malikdir. Belə əhəmiyyətli bitki cinslərindən biri də Kəklikotu (*Thymus L.*) cinsi və daxil olan növləridir ki, onların əsas tibbi əhəmiyyətə malik olan efir yağlarının tərkibində 20-dən artıq bioloji fəallığa malik komponent aşkarlanmışdır.

Kəklikotu növləri bir-birilə çarpazlaşma, növdaxili və növlərarası hibridləşmə, həmçinin müxtəlif mühitlərdə yaşamaq və sağ qalmaq üçün adaptasiya nəticəsində həddən artıq polimorfluq (biomüxtəliflik) nümayiş etdirirlər ki, bu da bitkilərin təyinatında bir sıra çətinliklərin yaranmasına səbəb olur. Bundan başqa elə bu səbəblərdən bitkilərdə morfoloji müxtəlifliklə yanaşı mikro-morfoloji, biokimyəvi və genetik müxtəlifliklərin yaranması da baş verir [Nixon 2006]. Genetik müxtəlifliyin tədqiqi bitkilərin seleksiyasında mühüm əhəmiyyət kəsb edir, belə ki, hər hansı bir seleksiya proqramını həyata keçirmək üçün tədqiq olunacaq populyasiyada əlamətlərin davamlı irsiliyi haqqında məlumatların toplanması olduqca vacibdir [Lynch və Walsh 1998]. Bunun üçün ilk növbədə bitkilərin dəqiq tanınması, onların genetik, sitogenetik xüsusiyyətlərinin və ploidliliklərinin aşkar edilməsi, növlərin (cinslərin) əlamətləri arasında əlaqələrin müəyyən edilməsi vacibdir [John 1989; Reem & Toby 2007]. Seleksiya proqramının müvəffəqiyyəti təkcə populyasiyanın genetik müxtəlifliyi, strukturu və potensialı haqqında seleksiyaçıya veriləcək məlumatların həcmindən deyil, eyni zamanda bu məlumatın dürüslüyündən də asılıdır. Belə ki, aydın ifadə olunan müxtəlifliyin olmadığı yerdə seçim imkanları da yoxdur və bu halda nümunələrin genetik cəhətdən yaxşılaşdırılması imkanları da qeyri-mümkündür [Acquaah 2008; Heyes 2007; Sleper 2006].

Ədəbiyyat məlumatlarına əsaslanaraq əminliklə deyə bilərik ki, digər bitkilərlə müqayisədə Kəklikotu cinsinin növləri molekulyar səviyyədə demək olar ki, öyrənilməmişdir. Kəklikotu bitkisinin tibbi əhəmiyyəti və s. xüsusiyyətləri haqqında yuxarıda söylənilənləri, həmçinin bu bitkinin genetik müxtəlifliyi və əlamətlərinin irsiliyi haqqında məlumatların çox az olmasını nəzərə alsaq, yerinə yetirilmiş tədqiqat işinin aktuallığı daha aydın olar.

**Tədqiqatın məqsəd və vəzifəsi:** Dissertasiya işinin əsas məqsədi müasir sitoloji və molekulyar genetik metodlardan istifadə etməklə İranda və Azərbaycanada bitən bəzi kəklikotu növlərində baş verən növdaxili və növlərarası genetik müxtəlifliyin əsas parametrlərinin təyini olmuşdur. Bu

məqsədi həyata keçirmək üçün qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

1. Sitogenetik əlamətlər əsasında kəklivotu nümunələrinin qiymətləndirilməsi, növlərin ploidlilik səviyyəsinin və xromosom sayının təyini;
2. Müxtəlif parametrlərlə nümunələrin kariotiplərinin tədqiqi və müxtəlif sitogenetik əlamətlərinə görə onların fərqləndirilməsi;
3. Kariotiplərdə asimmetriklilik dərəcəsinin müxtəlif parametrlərlə təyini;
4. Növlər arasında əlaqənin Piyerson cədvəli ilə təyini;
5. Kariotiplərin simmetrikliliyi və asimmetrikliliyi əsasında məlum və yeni növlərin təyini;
6. Klaster analizi (KA) metodundan istifadə edərək Kəklivotu nümunələrini sitogenetik əlamətlər əsasında qruplaşdırmaq və onlar arasında əlaqələrin müəyyənəşdirilməsi, seleksiya işində çarpazlaşaraq yeni hibridlər verə biləcək, genetik cəhətdən bir-birinə yaxın növlərin təyini;
7. Populyasiyanın genetik müxtəlifliyinin RAPD markerlərlə tədqiqi və nümunələrin bu əlamətlər üzrə fərqləndirilməsi;
8. Populyasiyalar arasında oxşarlıq dərəcəsinin və genetik məsafənin təyini;
9. Klaster və prinsipial komponent analizi (PKA) metodlarından istifadə etməklə Kəklivotu nümunələrinin sitoloji və molekulyar-genetik əlamətlərə görə qruplaşdırılması;
10. Kəklivotu nümunələrinin qruplaşdırılmasında sitogenetik metodlardan və molekulyar markerlərlərdən istifadə edilərək əldə olunan nəticələr arasında əlaqələrin müəyyənəşdirilməsi.

**İşin elmi yenilikləri:** İlk dəfə olaraq sitogenetik metodlardan və DNT-markerlərdən kompleks şəkildə istifadə olunaraq İran və Azərbaycan ərazisində bitən kəklivotunun bəzi genotipləri arasında genetik müxtəliflik öyrənilmişdir. Genotiplər arasında müxtəliflik dərəcəsinin müəyyənəşdirilməsi məqsədi ilə nümunələrin arasında genetik oxşarlıq və genetik məsafə təyin edilmişdir. İlk dəfə olaraq İranda və Azərbaycanda bitən bəzi kəklivotu növləri sitoloji və molekulyar genetik səviyyədə müqayisəli şəkildə tədqiq olunmuş, növlərin kariotip formulu təyin edilmiş, sitoloji və genetik əlamətlər arasında korrelyasiyalar müəyyən edilmişdir.

**İşin praktiki əhəmiyyəti:** Sitogenetik əlamətlər və RAPD DNT markerləri ilə həyata keçirilən tədqiqatların nəticələri əsasında klaster analizi metodu vasitəsilə qurulmuş dendroqramların köməyi ilə seleksiya məqsədləri üçün götürülən kəklivotu nümunələri ilə tədqiq etdiyimiz kəklivotu nümunələri

arasında genetik məsafəni təyin edərək daha üstün əlamətlərə malik nümunələri seleksiyasında istifadə oluna bilər. Başqa sözlə, böyük genetik məsafəyə malik, yəni bir-birindən daha uzaqda duran genotiplərin hibridləşdirilməsi ilə yüksək heterozisli hibridlər yaradıla bilər. Sitogenetik əlamətlər və RAPD markerlərindən istifadə etməklə aşkar olunan DNT fraqmentləri arasında müəyyən olunmuş korrelyasiyalar böyük zaman itkisi və vəsait sərfinin qarşısını almaqla nümunələrin qısa zamanda dəqiq identifikasiyasına, bununla da seleksiyanın qısa zaman ərzində həyata keçirilməsinə şərait yaradır.

**Dissertasiyanın aprobasiyası:** Dissertasiyanın əsas müddəaları və tədqiqatın nəticələri İran Genetika Cəmiyyətinin 10-cu Konqresində (İran İslam Respublikası (İİR), Tehran, 2008), 16-cı Milli və 4-cü Beynəlxalq Biologiya Konfransında (İİR, Məşhəd, 2010), 7-ci Milli Biotexnoloji Konqresində (İİR, Tehran, 2011), “Biokimyəvi Nəzəriyyələrin Aktual Problemləri” II Beynəlxalq Konfransında (Azərbaycan, Gəncə, 2011), “Müasir elmin aktual problemləri” Beynəlxalq Konfransında (Lənkəran, 2011) məruzə edilmiş və materiallarında nəşr olunmuşdur. Tədqiqatın əsas nəticələri *Caryologia* (2009), *Journal of Botany* (İran, 2010), *Lənkəran Dövlət Universitetinin Elmi Xəbərləri* (2011), *Annals of Biological Research* (2013) kimi jurnal və toplularda dərc edilmişdir.

**Nəşr edilmiş əsərlər:** Dissertasiya işinə aid 11 elmi əsər nəşr olunmuşdur ki, onların 6-sı xarici ölkədə çapdan çıxmışdır.

**Dissertasiyanın quruluşu və həcmi:** Dissertasiya işi girişdən, tədqiqatın materialı və metodikalarından, tədqiqatın nəticələrini əks etdirən iki fəsildən, yekundan, nəticələrdən və istifadə edilmiş ədəbiyyat siyahısından ibarət olmaqla, ümumi həcmi 183 səhifədən ibarətdir, Dissertasiya nəticələri özündə əks etdirən 52 cədvəl və 38 şəkillə illüstrasiya olunmuşdur.

## 2. TƏDQIQATIN MATERIALI VƏ METODLARI

Tədqiqatın materialı İran İslam Respublikasının və Azərbaycanın müxtəlif ərazilərində bitən 9 növ kəklitotunun 30 populyasiyasının toxumları olmuşdur.

**Genetik müxtəlifliyin sitogenetik əlamətlərə görə tədqiqi.** Sitogenetik tədqiqatlar aşağıdakı sxem üzrə yerinə yetirilmişdir: *Toxumların cücərdilməsi, Fiksasiya, Nümunələrin hidrolizi, Nümunələrin rənglənməsi, Preparatların hazırlanması, Nümunələrin mikroskopik tədqiqi.* hazırlanmış müvəqqəti preparatlar mikroskopda (BX50, 100X) yoxlanılmışdır. Hər bir populyasiyada 4 metafaza lövhəsi kompüter proqramı ilə (Live 3000) çəkilmişdir. Kariotiplərin şəkilləri AdobePhotoshop proqramına verilmiş və xromosomların

müxtəlif çiyinlərinin ölçüləri (LA: xromosomun böyük çiyininin uzunluğu, SA: xromosomun kiçik çiyininin uzunluğu və TL: xromosomun tam (ümumi) uzunluğu) MikroMeasure proqramı ilə təyin olunmuşdur.

*Kariotipləri öyrənmək üçün müxtəlif parametrlərdən istifadə olundu:*

**AR** (xromosom çiyinlərinin nisbəti) = LA/SA

**CI** (Sentromer indeksi) = SA/TL = SA/(LA+SA)

**TF%** (Kariotipin ümumi formasının faizi) =  $(\sum SA / \sum TL) \cdot 100\%$

**DRL** (xromosomların nisbi uzunluqlarının fərqi) =  $Max_{RL\%} - Min_{RL\%}$

Xromosomun nisbi uzunluğu:  $RL\% = (\sum (LA+SA) / \sum TL) \cdot 100\%$

**A<sub>1</sub>** ( xromosom daxili asimetriklik indeksi) =  $1 - \sum (SA-LA) / n$

**A<sub>2</sub>** ( xromosomlararası asimetriklik indeksi) = Sd/X

**Sd** – xromosomların orta uzunluqlarından standart kənar çıxımlar, xromosomların orta uzunluqları:  $X = \sum TL / n$

**LA%** (xromosomun böyük çiyininin nisbi uzunluğu) =  $(LA / \sum TL) \cdot 100\%$

**SA%** (xromosomun kiçik çiyininin nisbi uzunluğu) =  $(SA / \sum TL) \cdot 100\%$

**SI%** (simmetriya indeksi faizi) =  $(\sum SA / \sum LA) \cdot 100\%$

**CG%** (sentromerin qradianti) =  $(SA_{med} / TL_{med}) \cdot 100\%$

**DI** (dispersiya indeksi) =  $A_2 \cdot CG\%$

*Sitogenetik nəticələrin statistik analizi.*

Yuxarıda qeyd olunan parametrlərin hesablanması və diaqramların çəkilməsi üçün EXEL, variasiya analizi və orta qiymətlərin müqayisəsi üçün SAS (tam təsadüfi analiz rejimində), PCA (principal component analysis), və klaster analizi üçün JMP proqramından istifadə edilmişdir.

**Genetik müxtəlifliyin RAPD markerləri ilə tədqiqi.** Genetik müxtəlifliyin RAPD markerlərlə tədqiqi aşağıdakı sxem üzrə yerinə yetirilmişdir:

*Bitkilərin cücərdilməsi, nümunələrdən DNT-nin ayrılması, DNT-nin keyfiyyətini yoxlanılması, DNT-nin kəmiyyətinin yoxlanılması, PZR-in aparılması, Amplifikasiya məhsullarının elektroforezi, Zolaqların qimətləndirilməsi.*

RAPD markerləri ilə keyfiyyət əlamətləri, statistik analizlərin aparılması üçün onların kəmiyyət qiymətlərinə çevrilməsi tələb olunur. Bu iş PhotoCapt proqramı ilə yerinə yetirilmiş və hər gəldə zolaqlar molekulların kütlələri əsasında təyin olunmuşdur. Bu matrislər NTSYS-PC proqramı vasitəsi ilə analiz edilmişdir. Sonra bu proqram vasitəsi ilə Cakard oxşarlıq indeksi və Single Linkage metodu əsasında klaster qurulmuşdur. Populyasiyaların daxilində və populyasiyalar arasındakı fərqlər molekulyar variasiyalar analizi (AMOVA) metodu vasitəsilə tədqiq edilmişdir.

## TƏCRÜBİ HİSSƏ

### III FƏSİL. KƏKLİKOTU POPULYASIYALARININ SİTOGENETİK TƏDQIQI

Kəklükotunun (*Thymus ssp.*) müxtəlif növlərinin 30 populyasiyasının üzərində sitogenetik tədqiqat işləri yerinə yetirilmişdir. Sitogenetik tədqiqatlar xromosomların şəklləri əsasında onların ölçüsü, forma və sayları üzrə aparılmışdır. Əldə olunan nəticələr əsasında qeyd etməliyik ki, tədqiq olunan bütün nümunələr  $x=15$  olmaqla iki ploidlilik səviyyəsi: diploidlik ( $2n=2x=30$ ) və tetraploidlik ( $2n=4x=60$ ) göstərmişlər. 1 saylı şəkildə tədqiq olunan bəzi nümunələrin xromosomlarının metafaza mərhələsində qeydə alınmış kariotiplərinin şəklləri göstərilmiş. Tədqiq olunan nümunələrin əksəriyyəti simmetrik kariotipə malik olub, Stebbinə görə 1A sinfinə aid edildilər. Lakin iki populyasiya: *Th. daenensis*-2 və *Th. kotschyanus*-3 simmetriya parametrlərinə görə fərqlənərək uyğun olaraq 1B və 2B siniflərində yer almışlar.

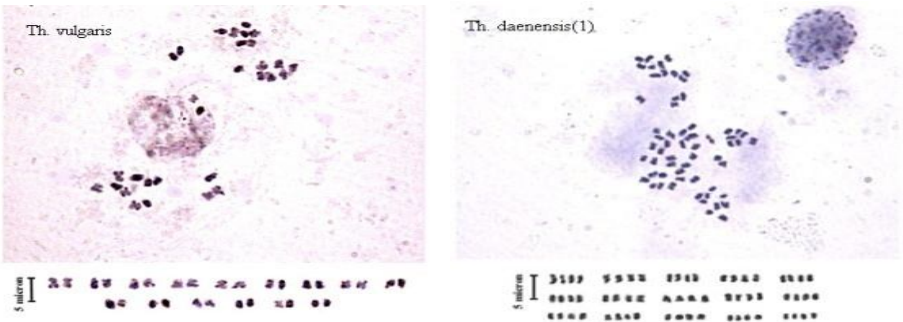
30 populyasiyada 14 kariotip əlamətləri (TL, LA, SA, AR, CI, TF%, DRL, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, LA%, SA%, SI, CG, DI) əsasında variasiya analizi aparılmışdır. Nəticələr göstərdi ki, populyasiyaların arasında kariotip əlamətlərinə görə fərqlər vardır. Bu fərqlər müxtəlif parametrlər üzrə 1% və 5% qiymətli (mənalı) fərqlər təşkil edir. Bu onu göstərir ki, bu əlamətlər genetik müxtəliflik yaratmağa qabildirlər.

Diploid populyasiyaların içərisində genomun tam ölçüsü ( $\Sigma TL$ ), *Th. vulgaris* də maksimum (26,778 mkm), *Th. daenensis*-7-də minimum (12,739 mkm) təşkil etmişdir. Tetraploid populyasiyalarda bu parameter diploid populyasiyalardan xeyli yüksək olmuşdur. Belə ki, tetraploid populyasiyalar içərisində bu parametrin qiyməti *Th. kotschyanus*-3 və *Th. daenensis*-1-də ən yüksək (uyğun olaraq 48,766 və 47.031 mkm), *Th. kotschyanus*-12-də ən aşağı (21,964 mkm) olmuşdur.

*Th. vulgaris* diploid olmasına baxmayaraq digər tetraploid növlərin populyasiyaları ilə müqayisədə VRC(xromatinin nisbi miqdarı) parametrinin qiymətində onları üstələyir. Bu parameter *Th. vulgaris*-də maksimum (1,652) olmaqla, qiymətə *Th. kotschyanus*-3 (1,626), *Th. daenensis*-1 (1,568) və s. kimi tetraploid nümunələrə qismən yaxın olsa da, *Th. kotschyanus*-12 (0,732), *Th. trautvetteri* (0,846) və s. kimi tetraploid nümunələrdən demək olar ki, iki dəfə çoxdur.

Tədqiq olunan populyasiyalarda sentromer indeksləri (CI) o qədər də fərqlənməmişdir. Belə ki, bu parameter 0,432÷0,447 arasında dəyişərək özünü cinsin növləri üçün daha stabil parameter kimi göstərmişdir.

Tədqiq olunan populyasiyalarda təyin olunan kariotip əlamətlərinin orta qiymətləri müqayisə olunmuşdur. Nəticələr göstərilmişdir ki *Th. vulgaris* ən böyük xromosomun tam uzunluğuna (TL) və ən uzun (LA) və qısa çiyinə (SA) malikdir, *Th. kotschyanus*-12 isə TL, LA və SA parametrlərinin ən aşağı qiymətlərinə malikdirlər. Başqa sözlə desək, *Th. vulgaris* ən böyük və *Th. kotschyanus*-12 isə ən kiçik xromosomlara malikdirlər. *Th. vulgaris* həm də ən böyük AR (çiyinlərin nisbəti) (1,490) və ən az CI (sentromer indeksi) (0,402) parametrlərinə, *Th. carmanicus*-2 isə əksinə, ən aşağı AR (1,238) və ən yuxarı CI (0,447) parametrlərinə malikdir. Bu onu göstərir ki, *Th. vulgaris*-də LA/TL nisbəti (3,984) *Th. carmanicus*-2-də isə SA/TL nisbəti (1,490) daha çoxdur. Lakin ümumilikdə SA/TL nisbəti *Th. daenensis*-6 populyasiyasında maksimum (2,929) qiymətə malikdir.



**Şəkil 1.** *Th. daenensis* (1) (a) və *Th. vulgaris* (b) növlərində kariotipin şəkli.

Həmçinin TF% parametrlərinin qiyməti *Th. carmanicus*-2-də (44,692) ən yuxarı, *Th. vulgaris*-də isə ən aşağıdır (40,244). Əksinə *Th. vulgaris* A<sub>1</sub>-in maksimum qiymətinə (0,564), *Th. carmanicus*-2 isə minimum (0,425) qiymətinə malikdir. Nəzərdə tutsaq ki, TF% ilə A<sub>1</sub> arasında tərs mütənəsblik (TF% artdıqca A<sub>1</sub> azalır və ya əksinə) mövcuddur, onda *Th. vulgaris*-in aşağı TF%-ə və yuxarı A<sub>1</sub>-ə, *Th. carmanicus*-2-nin isə yuxarı TF%-ə və aşağı A<sub>1</sub>-ə malik olması aydın olar.

TF% ilə sentromer indeksinin (CI) arasında düz mütənəsb asılılıq vardır (TF% artdıqca CI artır və ya əksinə). Bu parametrlər A<sub>1</sub> və AR parametrləri ilə birlikdə əsasən kariotipin simmetrikliliyini müəyyən edirlər. Məsələn, *Th. vulgaris*-də A<sub>1</sub>,



AR göstəriciləri yuxarı, TF% və CI göstəriciləri aşağı olduğundan kariotip asimmetrik, *Th. carmanicus-2* də isə  $A_1$ , AR aşağı, lakin TF% və CI parametrləri yuxarı olduğundan populyasiyanın kariotipi simmetrikdir.

$A_2$ -nin maksimal qiyməti (0,479) *Th. kotschyanus-3*-də, minimal qiyməti (0,341) isə *Th. pubescens-3*-də müşahidə edilir. Lakin *Th. pubescens-3* DRL-in aşağı (1,189), *Th. kotschyanus-3* isə əksinə ona nisbətən DRL-in yuxarı qiymətinə (1,789) malikdir. Ümumilikdə isə DRL-in maksimal qiyməti (2,206) *Th. daenensis-2*, minimal qiyməti (1,189) isə *Th. pubescens-3* populyasiyalarında müşahidə olunur.

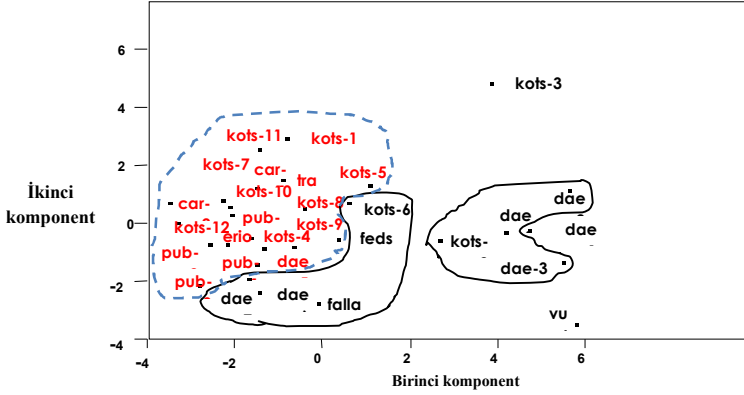
LA% və SA% parametrlərinin qiymətləri diploid populyasiyalar olan *Th. daenensis-2*, *Th. daenensis-3*, *Th. daenensis-4*, *Th. daenensis-6*, *Th. daenensis-7*, *Th. kotschyanus-2*, *Th. kotschyanus-6*, *Th. fallax*, *Th. vulgaris* və *Th. fedstchenkoi*-də tetraploid populyasiyalara nisbətən əhəmiyyətli dərəcədə (orta hesabla ~2 dəfə) çoxdur. Populyasiyalar arasında LA%-nin maksimum qiyməti (4,004) *Th. daenensis-3*-də, SA%-nin maksimum qiyməti (2,929) *Th. daenensis-6*-da aşkarlanmışdır.

Simmetriya indeksinin (SI) maksimal qiyməti (66,233) *Th. vulgaris*-də, sentromer qradiyentinin (CG) maksimal qiyməti (44,885) *Th. carmanicus-2*-də müşahidə edilir. Qeyd etdiyimiz kimi, *Th. kotschyanus-3* populyasiyası  $A_2$ -nin maksimum qiymətinə malik olduğundan ən aşağı SI-nə (40,044), ən yüksək DI-nə (3,124) malikdir.

Populyasiyaların arasında potensial olaraq müxtəliflik yaratmağa qabil kariotip əlamətlərinin təsirini müəyyən etmək üçün prinsiplial komponent analizi (PCA) metodundan istifadə olunaraq ixtiyari üç qrup komponentə görə parametrlər arasında variasiyalar qiymətləndirilmişdir. Birinci komponentə görə variasiyanın faizi ilə parametrlər arasında tam variasiya faizi bir-birindən fərqlənməmiş və 57,541% təşkil etmişdir. Buna baxmayaraq, birinci komponent əsasında analizlərin nəticələrinə görə TL, LA, SA, AR, CI, TF%,  $A_1$  və CG parametrləri arasında variasiyalar mövcuddur və bu fərqlər mənalıdır. Bu isə həmin əlamətlərə görə əhəmiyyətli fərqlərə malik genotiplər arasında seçim etməyin mümkünlüyünü göstərir. İkinci komponentə görə variasiyanın faizi 21,640%, parametrlər arasında tam variasiya faizi isə 79,181% təşkil etmişdir. Bu iki göstərici arasındakı fərq özlüyündə təxminən 4 dəfə olsa da, bu seçimə imkan verən parametrlərin sayını əhəmiyyətli dərəcədə azaltmışdır. Belə ki, birinci komponentə görə 8 parametr əsasında seçim etmək mümkün idisə, ikinci komponentə görə etibarlı seçim ancaq üç parametərə ( $A_2$ , SI və DI) görə mümkündür.

Eyni vəziyyət üçüncü komponentə görə variasiyalarda da müşahidə edilmişdir: variasiyanın faizi 14,619%, tam variasiya isə 93,801% olmaqla, bu

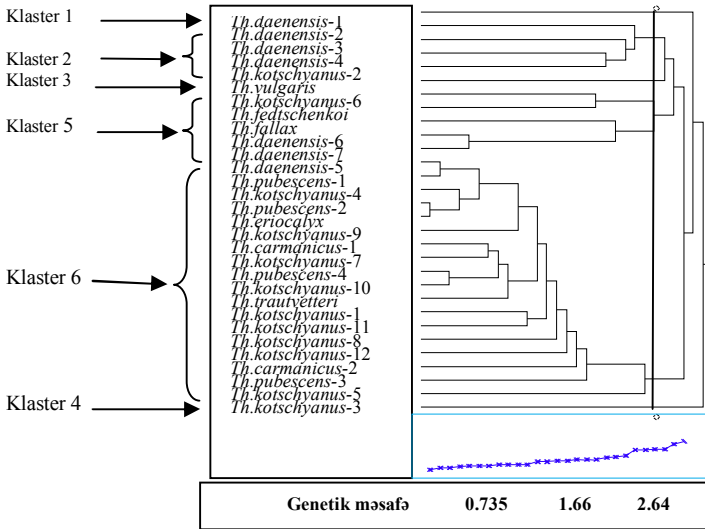
göstəricilər arasındakı fərq ~6,4 dəfə təşkil etmişdir. Üçüncü komponentə görə yalnız DRL, LA%, SA% əlamətləri əsasında seçim etmək olar. Prinsipial koordinat analizi (PCOA) metodundan istifadə edərək iki komponent üzrə tədqiq olunan genotiplərin yuxarıda qeyd olunan parametrlərə görə ikiözlü müstəvidə paylanması öyrənilmişdir. Nəticələr 2 sayılı şəkildə verilmişdir.



**Şəkil 2.** Kariotip əlamətlərinə görə Kəkləkotu genotiplərinin ikiözlü müstəvidə iki komponent üzrə paylanması

Populyasiyalar kariotip əlamətləri (TL, LA, SA, AR, CI, TF%, DRL, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, LA%, SA%, CG, SI, DI) əsasında qruplaşdırmaq üçün isə Ward metodundan istifadə olunmuşdur. İerarxik klaster analizi əsasında populyasiyalar kariotip əlamətlərinin fərqlənməsinə (və ya yaxınlığına) görə altı həqiqi qrupa bölünmüşdür. Nəticələr binar klaster ağacı dendeoqramma şəkildə illüstrasiya edilərək 3 sayılı şəkildə təqdim olunmuşdur. Göründüyü kimi *Th. vulgaris* və *Th. kotschyanus*-3 populyasiyaları kariotip əlamətlərinin məcmusunda yaranan böyük fərqlərə görə digər populyasiyalardan daha çox aralanmış və hər biri ayrıca qruplarda özlərinə yer almışlar. *Th. daenensis*-1 populyasiyası da ayrıca təmsil olunaq bir qrup yaradır. Lakin bu fərqlər yuxarıdakı populyasiyalar arasındakı fərqlərdən azdır.

*Th. pubescens*-in bütün populyasiyaları bir qrupda (6-cı qrup) yerləşmişlər. Eyni vəziyyət iki populyasiya ilə təmsil olunan *Th. carmanicus*, hər biri bir populyasiya ilə təmsil olunan *Th. trautvetteri*, *Th. erioalyx* (hər üç növün populyasiyaları 6-cı klasterdə yerləşir), *Th. fedtschenkoi* və *Th. fallax* (hər iki növ 5-ci qrupda klasterləşib) populyasiyaları ilə də müşahidə olunmuşdur. Bu onların kariotip əlamətlərinə görə yaxın olduqlarından xəbər verir.



**Şəkil 3.** Populyasiyaların kariotip əlamətlər əsasında *Single Linkage* metodu ilə qruplaşması

Maraqlı nəticələr *Th. daenensis* və *Th. kotschyanus* növlərinin populyasiyaları ilə alınmışdır. Ayrıca qruplar yaradan *Th. daenensis*-1 (1-ci klaster) *Th. kotschyanus*-3 (4-cü klaster) populyasiyaları istisna olmaqla hər iki növün yerdə qalan populyasiyaları üç müxtəlif qrupda (2, 5 və 6-cı qruplarda) klasterləşmişlər. Bu növlərin populyasiyalarının bu şəkildə paylanması həmin populyasiyalarda davamlı fərqlərin olmasından irəli gəlir ki, bu da onlardan seleksiya məqsədləri üçün valideyn fərdlərin seçimi imkanlarını da artırır. Qeyd etmək lazımdır ki, *Thymus* növlərində növdaxili hibridləşmədən başqa, eyni uğurla növlərarası hibridləşmə aparmağın da mümkünlüyünü nəzərə alsaq onda alınan nəticələrin nə qədər əhəmiyyətli olduğu başa düşülər.

Kariotip əlamətlər arasında mövcud olan korrelyasiya əlaqələrini aşkar etdi, xromosomun tam uzunluğu (TL) ilə xromosomun uzun çiyini (LA), qısa çiyini (SA), çiyinlərin nisbəti (AR) və xromosomdaxili asimmetriklilik indeksi ( $A_1$ ) əlamətləri arasında işarəcə müsbət və mənəli korrelyasion əlaqə, həmin parametrlə sentromer indeksi (CI), kariotipin ümumi formasının faizi (TF%) və sentromerin qradienti (CG) kimi parametrlər arasında isə işarəcə mənfi və mənəli korrelyasion əlaqələr mövcuddur.

AR parametri (çiyinlərin nisbətləri) ilə  $A_1$  arasında işarəcə müsbət və mənəli, CI, TF% və CG parametrləri arasında isə işarəcə mənfi və mənəli korrelyasion əlaqələr var. CI və TF% parametrləri arasındakı korrelyasion

əlaqə işarəcə müsbət və mənalı olub, vahidə bərabərdir (korrelyasiya 100% təşkil edir). DRL parametrinin yalnız LA% və SA% parametrləri ilə işarəcə müsbət və mənalı əlaqəsi vardır.

A<sub>2</sub> ilə DI arasındakı korrelyasiya əlaqəsi işarəcə müsbət və mənalı, SI ilə isə işarəcə mənfə və mənalıdır. A<sub>2</sub> parametri ilə LA% və SA% parametrləri arasında da işarəcə müsbət və mənalı korrelyasiyalar mövcuddur.

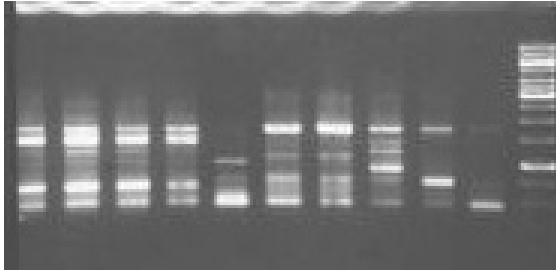
Başqa əlamətlər arasında da işarəcə müxtəlif olan əlaqələr mövcuddur, lakin bu əlaqələr fluktuasiyaya xarakterli olub mənalı deyillər.

#### **IV FƏSİL. KƏKLİKOTU POPULYASIYALARININ MOLEKULAR-GENETİK TƏDQIQI**

Bu məqsədlə *Thymus*-un 7 növünün 13 populyasiyasından istifadə olunmuşdur. Kəklükotu nümunələrinin molekular-genetik müxtəlifliyinin tədqiqində 30 təsadüfi RAPD praymerindən istifadə edilmişdir. Eksperimentin üç təkrarından sonra bütün praymerlərin arasından yüksək polimorfizmə malik 5 praymer seçilmişdir. Müxtəlif praymerlərlə amplifikasiya olunan fraqmentlərin ölçüsü tam fərqli olmuş, statistik analizlərə 300-4000 n.c uzunluğunda yüksək təkrara malik spektrlər (patternlər) daxil edilmişdir.

Patternlər MgCl<sub>2</sub>-in 2 mMol/l qatılığında və praymerlərin 35°C “birləşmə” (annealing) temperaturunda daha aydın müşahidə olunmuşlar. Seçilmiş praymerlərdən cəmi 54 pattern əldə edilmişdir. Yüksək polimorf patternlər A09 və E19 praymerlərindən, zəif polimorfizm isə D03 praymerindən istifadə olunduqda müşahidə edilmişdir. Cəmi 46 (ümumu saya nəzərən 85,18%) yüksək polimorf patternlər tədqiq olunmuşdur (şəkil 4, cədvəl 1).

*Molekular variasiyanın analizi.* Tədqiq olunan populyasiyalar daxilində və populyasiyaların arasında genetik müxtəlifliyi təyin etmək üçün molekular variasiyanın analizindən (AMOVA) istifadə edilmişdir. Analizin nəticələri 2 sayılı cədvəldə verilmişdir. Alınan nəticələr göstərmişdir ki, həm populyasiyaların daxilində, həm də populyasiyaların arasındakı genetik müxtəliflik  $p=0,01$  etibarlılıqla qiymətlidir (mənalıdır). Bu müxtəlifliyin 37,0%-i populyasiyaların daxilində olan müxtəliflik və 63,0%-ni isə populyasiyaların arasındakı müxtəliflik təşkil edir. Genetik müxtəliflik dərəcəsi ( $\Phi=0,628$ ) populyasiyaların arasında müxtəlifliyin yüksək səviyyədə olduğunu göstərmişdir.



**Şəkil 4.** A09 praymeri ilə bəzi nümunələrdə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentləri

**Cədvəl 1.** İstifadə olunmuş RAPD praymerlər və onların aşkar etdikləri polimorfizm

Praymerlər	Ardıcılıqları(5'-3')	Zolaqların sayı	Fraqmentlərin ölçüləri (n.c.)	Polimorf zolaqlar	Polimorfizmin faizi
A09	GGGTAACGCC	17	450-4000	17	100
A17	GACCGCTTGT	8	700-3000	8	100
DO3	GTCGCCGTCA	7	350-1600	6	85,71
E19	ACGGCGTATG	12	300-2100	12	100
E20	AACGGTGACC	10	450-2000	3	30
Cəmi		54		46	85,18

**Cədvəl 2.** RAPD markerlərlə tədqiq olunan *Thymus* populyasiyalarında molekulyar variasiyanın analizi (AMOVA) metodu ilə genetik

Dəyişkənlik mənbəyi	Sərbəstlik dərəcəsi	Variantların cəmi	Variantların orta rəqəmi	Variantın komponentləri	Variantın faizi
Populyasiyaların arasında	12	163,194	13,599**	4.588	63%
Populyasiyaların daxilində	18	49	2,722**	2.722	37%
Cəmi	30	212,194		7,310	100%
** - p=0,01					

*Populyasiyaların arasında genetik oxşarlıq və genetik məsafəsinin öyrənilməsi.* Kəklitotunun 13 populyasiyası arasında genetik məsafə Nei düsturu əsasında təyin olunaraq, bu məlumatlar əsasında Nei genetik oxşarlıq matrisi tərtib olunmuşdur. Genetik məsafə indeksinin qiymətinin 0÷0,463 arasında dəyişməsi müəyyən edildi. Maksimum genetik məsafə 11-ci və 13-cü populyasiyalar, yəni *Th.carmanicus-2* (İran: İsfahan) və *Th.vulgaris* (İran: Dəməvənd) arasında (0,463), 10-cu və 13-cü populyasiyalar, yəni *Th.eriocalyx* (İran: Kermanshah) və *Th.vulgaris* arasında (0,453), 7-ci və 11-ci populyasiyalar, yəni *Th.kotschyamus-10*

(Azərbaycan: Astara) və *Th.carmanicus*-2 arasında (0,450) müşahidə olunmuşdur. Buradan belə qənaətə gəlmək olar ki, bu populyasiyalar arasındakı böyük genetik məsafə eyni zamanda onların daha az genetik oxşarlığa malik olmasını şərtləndirir. Belə ki, genetik məsafənin yüksək olduğu 11-ci 13-cü populyasiyaların genetik oxşarlığı 0,630, 10-cu və 13-cü populyasiyaların genetik oxşarlığı 0,644, 7-ci və 11-ci populyasiyaların genetik oxşarlığı 0,638 təşkil edərək digər populyasiyalarla müqayisədə genetik cəhətdən daha çox fərqlənmişlər. Kiçik genetik məsafəyə malik *Th.danenensis*-4 (İran: Zəncan, Rıman) və *Th.danenensis*-3 (İran: Zəncan, Kinevərs) (0,071), *Th.kotschyanus*-1 (İran: Qəzvin, Qaqazan) və *Th.kotschyanus*-5 (İran: Qəzvin, Ələmut) (0,055) populyasiyaları isə əksinə yüksək oxşarlığa (uyğun olaraq 0,947 və 0,965) malikdilər.

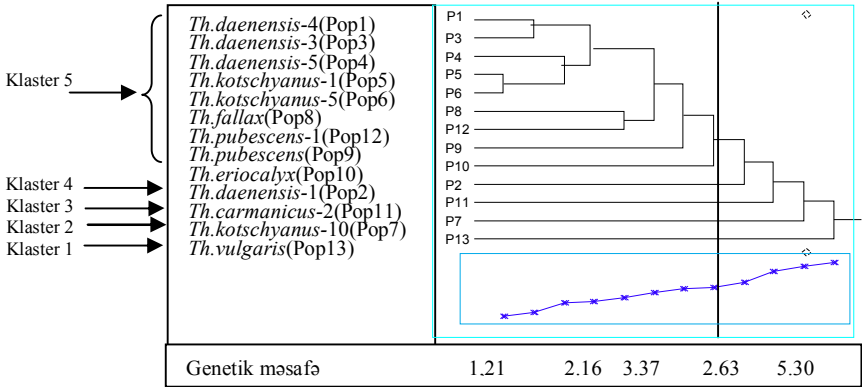
*Molekulyar-genetik tədqiqatların nəticələri əsasında klaster analizi.* RAPD markerlərlə tədqiq olunan kəklivotu populyasiyalarının klaster analizi NTSYS-PC 2.02 kompüter proqramı vasitəsilə həyata keçirilmişdir, klasterləşmə indeksi müəyyənləşdirilərək və onun maksimum qiyməti (5,30) *Single Linkage* metodu ilə əldə edilmişdir. Bu analizin nəticələrini əks etdirən dendroqram 5 sayılı şəkildə təqdim edilmişdir. Göründüyü kimi 2,63-ə bərabər orta genetik məsafədə 13 populyasiyanın genotipləri 5 müxtəlif qrupa ayrılmışlar.

Tədqiq edilən genotiplərin böyük əksəriyyəti, yəni 9 genotip (*Th.danenensis*-4, *Th.danenensis*-3, *Th.danenensis*-5, *Th.kotschyanus*-1, *Th.kotschyanus*-5, *Th.fallax*, *Th.pubescens*-2, *Th.pubescens*, *Th.eriocalyx*) beşinci qrupda klasterləşdirilmişdir. Qalan qrupların hər birində bir genotip aid edilmişdir. Birinci qrup 13 (*Th.vulgaris*), ikinci qrup 7 (*Th.kotschyanus*-10), üçüncü qrup 11 (*Th.carmanicus*-2) və dördüncü qrup 2 sayılı (*Th.danenensis*-1) genotiplərdən ibarət olmuşdur.

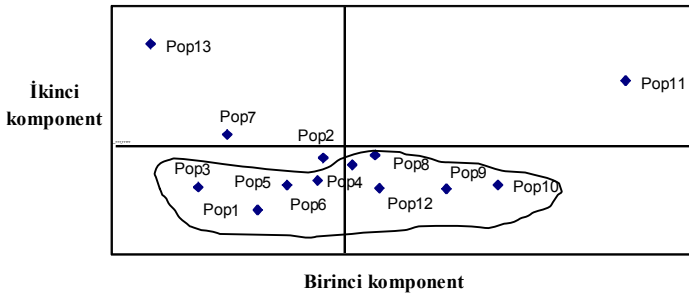
*RAPD markerlərlə tədqiqatın nəticələrinin prinsiplial koordinant analizi (PCOA).* Bu analizi həyata keçirmək üçün ilkin üç komponent (məxsusi zolaqların sayı, variasiyanın faizi, tam variasiyanın faizi) əsasında variasiya analizi aparıldı. Variasiya analizinin nəticələri göstərdi ki uç ilkin komponent birlikdə 74,85% tam variasiyaya malikdirlər ki, bunun da 33,07%-i birinci komponentin, 25,10%-i ikinci və 16,68%-i üçüncü komponentin payına düşür .

RAPD markerləri vasitəsi ilə tədqiq olunan kəklivotunun genotiplərinin ikiölçülü müstəvidə 2 komponent əsasında paylanması nəzərdən keçirilərək 6-ci şəkildə göstərilən paylanma sxemi qurulmuşdur. İlkin iki komponentin əsasında genotiplərin genetik müxtəlifliyə görə paylanmasını əks etdirən sxem əvvəlki klaster analizinin (şəkil 5) nəticələri bir daha təsdiq edildi. Belə ki, 6 sayılı şəkildə göstərilən PCOA metodu ilə müəyyən olunmuş 5 qrupdakı genotiplər klaster analizi nəticəsində qruplaşmış genotiplərə (şəkil 5) tamamilə uyğun olmuşlar.

Birinci və ikinci prinsipial komponentlər bütün genotipləri kifayət qədər bir-birindən fərqləndirə bilmişdir. Baxmayaraq ki, qruplar daxilində genotiplərin paylanması müşahidə olunur, bir qrupa daxil edilmiş nümunələr müxtəlif qruplarda yerləşmiş nümunələrlə müqayisədə genetik daha yaxındırlar və onların genom səviyyəsindəki oxşarlıqları yüksəkdir.



Şəkil 5. Populyasiyaların RAPD markerləri əsasında Single Linkage metodu ilə qruplaşması



Şəkil 6. İkiölçülü müstəvidə kəklitotunun populyasiyalarının RAPD markerləri vasitəsi ilə 2 komponent əsasında paylanması

Birinci və ikinci prinsipial komponentlər bütün genotipləri kifayət qədər bir-birindən fərqləndirə bilmişdir. Baxmayaraq ki, qruplar daxilində genotiplərin paylanması müşahidə olunur, bir qrupa daxil edilmiş nümunələr müxtəlif qruplarda yerləşmiş nümunələrlə müqayisədə genetik daha yaxındırlar və onların genom səviyyəsindəki oxşarlıqları yüksəkdir.

## NƏTİCƏLƏR

1. Sitogenetik tədqiqatlarla 9 növ kəklipotunun 30 populyasiyasında əsas xromosom sayının  $x=15$  olmaqla iki ploidlilik səviyyəsi – diploid və tetraploid olması aşkar edilmişdir. Tədqiq olunan 30 populyasiyanın 10-u diploid, 20-si isə tetraploiddir.
2. Tədqiq olunan kəklipotunu populyasiyalarının əksəriyyəti Stebbinə görə 1A simmetriya sinfinə aid edilmişdir. *Thymus kotschyanus*-3 (İran: Qom, Kərəmcegan) populyasiyası daha çox sub-metasentrik xromosomlara malik olduğu üçün 2B simmetriya sinfinə və *Th. daenensis*-2 (İran: Qəzvin, Abgərm) populyasiyası böyük və kiçik xromosomların uzunluğundakı ən böyük fərqlərə görə isə 1B simmetriya sinfinə aid edilmişdir.
3. Ən uzun xromosom tetraploid *Th. kotschyanus*-3 populyasiyasında, ən qısa xromosom isə tetraploid *Th. kotschyanus*-12 (Azərbaycan: Culfa) populyasiyasının nümayəndələrindədir. Lakin, orta hesabla bir xromosoma düşən xromatinin miqdarına görə "liderlik", ümumilikdə, diploid *Th. vulgaris* (İran: Dəməvənd) populyasiyasının nümayəndələrinə məxsusdur - yəni bu populyasiyanın xromosomları orta hesabla daha uzundur. Beləliklə, ploidlilik dərəcəsi artdıqca xromosomların kiçilməsi meyləli müşahidə olunur.
4. Simmetriya parametrlərinin ( $A_1$ ,  $A_2$ , CI, AR, TF%) əsasında diploid populyasiyalar arasında *Th. vulgaris*-in asimmetrik, tetraploid populyasiyalar arasında isə *Th. carmanicus*-2-nin (İran: İsfahan-2) simmetrik, *Th. daenensis*-1 (İran: Qəzvin, Qaqazan) populyasiyasının isə asimmetrik kariotipə malik olduğu müəyyən edilmişdir.
5. Kəklipotunu populyasiyalarında 14 kariotip əlamətlərinə görə variasiya analizinin nəticələri göstərdi ki, bütün kariotip əlamətləri üzrə tədqiq olunan populyasiyalar arasında qiymətli fərqlər ( $P \leq 0,05$ ) olmaqla korrelyasiya mövcuddur. Üç komponent üzrə əlamətlər arasında variasiyanın analizi 1-ci komponent (TL, LA, SA, AR, CI, TF%,  $A_1$  və CG parametrləri) üzrə tam variasiya 57,541%, 2-ci komponent ( $A_2$ , SI və DI parametrləri) üzrə 21,640%, 3-cü komponent (DRL, LA% və SA% öparametrləri üzrə) üzrə isə 14,619% təşkil etmişdir. Onda ilkin üç komponent üzrə cəmi 93,801% variasiya olmuşdur. İki ilkin komponent 2,64-ə bərabər genetik məsafədə 14 kariotip əlamətləri əsasında tədqiq olunan populyasiyalar tərkibcə eyniyyət təşkil edən 6 qrupda klasterləşdiyi müəyyən edilmişdir. *Th. vulgaris* və *Th. kotschyanus*-3 növləri hər iki komponentə görə digər növlərdən daha uzaqda yerləşir ki, bu da həmin növlərin digərlərindən daha çox divergensiya etmişini göstərir.



6. 8 növ kəklikotunun 27 populyasiyası 30 ədəd RAPD markerlə tədqiq olunaraq onlardan 5 ədəd polimorf RAPD markerin polimorf olması aşkar edildi ki, onların da içərisində A09 praymeri daha polimorfdur. Variasiya analizi ilə müəyyən olundu ki, bütün variasiyanın 63,0%-i populyasiyalar arasında, 37,0%-i isə populyasiyalar daxilindədir ( $P \leq 0,01$ ).
7. Ən böyük genetik məsafənin və ən az genetik oxşarlığın *Th. vulgaris* və *Thymus carmanicus*-2 populyasiyalar arasında, ən kiçik genetik məsafənin və ən böyük genetik oxşarlığın isə *Th. daenensis*-3 (İran: Zəncan, Kinevərz) və *Th. daenensis*-4 (İran: Zəncan, Riman) populyasiyaları arasında olması müəyyən edilmişdir.
8. RAPD markerlərilə tədqiqatların nəticələri, həm iki komponent əsasında ikiözlü müstəvidə paylanma əsasında tədqiq olunan kəklikotu populyasiyaları 5 qrupda klasterləşdirilmişdir ki, buda hər iki analizin nəticələrinin bir-birinə uyğun olduğunu göstərir. *Th. vulgaris*, *Th. carmanicus*-2, *Th. kotchyanus*-10 (Azərbaycan: Astara) və *Th. daenensis*-1 populyasiyaları daha böyük genetik məsafəyə malik olması ilə digər populyasiyalardan fərqlənərək ayr-ayrı qruplarda yerləşdiyi müəyyən edilmişdir. Molekulyar-genetik tədqiqatların nəticələrinə istinad etməklə hibridləşmə proqramlarında valideynlərin seçimində istifadə oluna bilər.
9. Müəyyən edilmişdir ki, sitogenetik və molekulyar-genetik məlumatların klaster analizinin nəticələri arasında müstəqim əlaqə mövcuddur. Tədqiqatlar göstərdi ki, genetik müxtəlifliyin qiymətləndirilməsində RAPD markerlərdən istifadə olunması əsas və effektiv vasitə hesab oluna bilər.

## DISSERTASIYA MÖVZUSU ÜZRƏ NƏŞR OLUNMUŞ ƏSƏRLƏRİN SIYAHISI

1. Javadi H., Hesamzadeh S.M., Babayev M.Sh. Ploidy levels variation in different species of *Thymus* / 16<sup>th</sup> national and 4<sup>th</sup> international conference of Biology. Ferdowsi University of Mashad, Iran: 2010, p. 319
2. Javadi H., Hesamzadeh S.M. and Babayev M.SH., Ploidy levels in *Thymus daenensis* / 10<sup>th</sup> Congres Iranian Genetics Society. Iran: Tehran, 2008, p. 221
3. Javadi H., Hesamzadeh S.M., Babayev M.Sh. Karyotypic studies of three *Thymus* (Lamiaceae) species and populations in Iran // *Caryologia*, 2009, v. 62, No 4, p. 316-325
4. Javadi H., Hesamzadeh S.M., Babayev M.Sh. Comparison of karyotypic traits in different species of *Thymus* L. / 7<sup>th</sup> National Biotechnology Congress of I.R.Iran. Iran: 2011, code.1373
5. Javadi H., Hesamzadeh S.M., Babayev M.Sh. Karyotypic studies of different populations of *Thymus kotschyanus* Boiss & Hohen. / 7<sup>th</sup> National Biotechnology Congress of I.R.Iran. Iran: 2011, code.1372
6. Javadi H., Babayev M.Sh. Karyotypic studies of five *Thymus* species // Lənkəran Dövlət Universitetinin elmi xəbərləri, 2011, s. 116-122
7. Javadi H., Babayev M.Sh. Ploidy levels variation in *Thymus kotschyanus* / Biokimyəvi nəzəriyyələrin actual problemləri. Gəncə Dövlət Universiteti, 2011, s. 5-10
8. Javadi H., Hesamzadeh S.M., Babayev M.Sh. Chromosome reports on two species of *Thymus* // *Journal of Botany Iran*, 2012, v. 18, No 1, p. 108-112
9. Javadi H., Babayev M.Ş. Kəklitotunun 6 populyasiyasında kariotip öyrənməsi // Müasir elmi actual problemləri, L.D.U., 2012
10. Javadi H., Hesamzadeh S.M., Babayev M.Sh. Comparison of karyotypic triats of *Thymus* species in Iran // *Annals of Biological Research*, 2013, v. 4, No 1, p. 199-208
11. Javadi H., Babayev M.Sh., Hesamzadeh S.M. Chromosome reports on two species of *Thymus* (Lamiaceae) from Azerbaijan // *AMEA Botanika İnstitutunun elmi əsərləri*, 2012, XXII cild, s. 295-298

**STUDY OF GENETIC DIVERSITY IN SOME *THYMUS* SPECIES  
USING CYTOLOGICAL AND MOLECULAR MARKERS**

**SUMMARY**

In this study, 30 populations of *Thymus spp.* that were located from different regions of Iran and Azerbaijan, examined for genetic variability based on cytogenetics and molecular genetics (RAPD). For cytogenetics study, were used meristems from seedling obtained by the germination of ripe seeds on wet filter paper in petri-dishes left at 25°C temperature. After pretreatment, fixation, hydrolysis and staining of roots, microscopic samples were prepared by squash method and observed with an optical microscope (BH2 Olympus supplemented Digital color video camera) at a magnification of about 2000x. In all of populations, the basic chromosome number was  $x=15$  with two ploidy levels (diploid and tetraploid). The results of analysis of variation, showed significant differences among populations for all traits (TL:length of total chromosome, LA:length of long arm, SA:length of short arm, AR:arm ratio, CI:centromer Index, TF%:total form percentage,  $A_1$  and  $A_2$ : inter and intra chromosomal asymmetry index, DRL:difference of range relative length, L%: length relative long arm, S%: length relative short arm, SI:symmetry Index, CG:centromeric gradient, DI:dispersion index).The symmetry factors, revealed that *Th. vulgaris* (Iran:Damavand) with the most of AR,  $A_1$  and lowest of the CI, TF% had karyotype asymmetry and *Th. carmanicus-2* (Iran:Esfahan-2) with the most of CI, TF% and the lowest of AR,  $A_1$  had symmetry karyotype. *Th. vulgaris* and *Th. kotschyanus-12* (Azerbaijan:Jolfa) had the highest and lowest of average value length of chromosome respectively. The longest of chromosome in *Th. kotschyanus-3* (Iran:Gom,Karamjegan) and the shortest of chromosome in *Th. kotschyanus-12* was showed, also *Th.kotschyanus-3* and *Th. daenensis-1*(Iran:Gazvin,Gagazan) had the most of number of Sub-meta centric chromosomes. Using principal components analysis, the first three components determined 93% of the total variation. The most important traits were recognized as TL, LA, SA, CI, TF%,  $A_1$ , CG in the first component,  $A_2$ , SI, DI in the second components and finally DRL, L%, S% in the three components. The 30 populations were classified into 6 groups based on Single Linkage cluster method. The diagram of the populations dispersion, based on two first components, agree with the results of cluster analysis. The results of

karyotypic traits correlation showed that the increase of TL become cause increase LA, SA, AR and A<sub>1</sub>, and increase AR and A<sub>1</sub>, reduce CI, TF%, CG and vice versa.

Genetics diversity within and among populations also was studied using of RAPD markers. Out of a total 30 Genset primers evaluated, we selected 5 based on the quality and reliability of the amplification, which were applied to this study. The amplification profiles produced by 5 RAPD primers produced 50 polymorphic bands with presence-or-absence of patterns in 300-4000 (bp) bounds. The highest and lowest polymorphic band produced by OPA-09 and OPD-03 primers. The most and lowest of polymorphic percentage produced by OPA-09, OPE-19, OPA-17(100%) and OPE-20(70%) primers respectively. Molecular variance analysis showed significant variation among populations and within populations, with average of 63% and 37% respectively. Analysis of populations structure based on  $\phi$ -statistics revealed a( $\phi=0.628$ ) indicating higher values of within populations variation. Genetics similarity among populations based on Nei's genetic similarity coefficients ranged from 0.63 to 0.965. The higher similarity and dissimilarity coefficients values were obtained between *Th. kotschyanus*-1(Iran:Gazvin,Gagazan) vs. *Th. kotschyanus*-5(Iran:Gazvin,Alamut) and *Th. vulgaris* vs. *Th. carmanicus*-2 respectively. The molecular data were subjected to *Single-Linkage* cluster analysis JAM software, populations were partitioned into 5 groups. Using principal coordinate analysis, the first three coordinates determined 74.85% of the total variation. However, distribution of populations within same clusters, were in agreement with the cluster pattern of cytological data. In general, RAPD marker data proved to be a good method of assessing genetics variation among populations of *Thymus spp.*

**ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ БИОРАЗНООБРАЗИЯ НЕКОТОРЫХ  
ВИДОВ ТИМЬЯНА**

**РЕЗЮМЕ**

В диссертации приводятся результаты исследования генетической изменчивости 30 популяций видов рода Тимьян, произрастающих в различных регионах Ирана и Азербайджана, на основе цитологических и генетических (RAPD) маркеров. Цитологическими методами определено, что исследованные популяции являются диплоидами и тетраплоидами с основным числом хромосом  $x=15$ . Результаты вариационного анализа показали значительные различия между популяциями по всем параметрам (TL – общая длина хромосом; LA – длинное, SA – короткое плечо хромосомы; AR - соотношение длин плеч, CI – центромерный индекс; TF% - общий процент форм хромосом;  $A_1$  и  $A_2$  – внутри- и межхромосомный индекс асимметрии, DRL – разница диапазона относительной длины; LA% - относительная длина длинного плеча, SA% - относительная длина короткого плеча; SI - индекс симметрии; CG – центромерный градиент; DI – индекс дисперсии). Факторы симметрии выявили, что *Th. vulgaris* (Иран, Демавенд) обладая высокими значениями AR,  $A_1$  и низкими CI, TF% имеет асимметричный кариотип асимметрии, а *Th. carmanicus-2* (Иран, Исфахан-2) с большими значениями CI, TF% и самыми низкими значениями AR,  $A_1$  имеет симметричный кариотип. Популяции *Th. vulgaris* и *Th. kotschyanus-12* (Азербайджан, Джульфа, с. Азафсе) обладали самым высоким и самым низким значением средней длиной хромосомы соответственно. *Th. kotschyanus-3* (Иран, Гом-Каремджеван) обладает самыми длинными, а *Th. kotschyanus-12* самыми короткими хромосомами. Также было показано, что *Th. kotschyanus-3* и *Th. daenensis-1* (Иран, Казвин-Гагазан) имеют самое большое число суб-метацентрических хромосом. Методом анализа главных компонент (PCA) установлено, что, первый из трех компонентов обладают 93% от общей вариации. По первому компоненту наиболее важными характеристиками были признаны показатели, такие как TL, LA, SA, CI, TF%,  $A_1$ , CG, по второму -  $A_2$ , SI, DI, а по третьему – DRL, LA%, SA%. С применением метода кластеризации Single Linkage исследованные популяции были разделены на 6 групп, что согласуется с данными

диаграммы, построенной на основе первых двух компонентов. Результаты анализа корреляций между кариотипическими признаками показали, что увеличение значений TL приводит к увеличению параметров LA, SA, AR и  $A_1$ , а увеличение AR и  $A_1$  уменьшению значений CI, TF%, CG и наоборот. Внутри- и межпопуляционное генетическое разнообразие изучено также с помощью RAPD маркеров. Из 30-и праймеров, взятых в нашем исследовании, выбраны 5 праймеров, отличающихся высокой полиморфностью, качеством и надежности ПЦР. Профили, полученные этими RAPD праймерами, выявили 50 полиморфных полос с наличием или отсутствием полос в области 300-4000 п.н., среди которых самыми высоко- и низкополиморфными оказались праймеры OPA-09 и OPD-03, соответственно. Праймеры OPA-09, OPE-19, OPA-17 обладали высоким (100%), а OPE-20 низким (70%) процентом полиморфизма. Анализ молекулярной вариации показал наличие значительной вариации среди и внутри исследованных популяций, в среднем 63% и 37%, соответственно. Анализ структур популяций, основанный на Ф-статистику выявил высокую ( $\varphi=0,628$ ) внутривнутрипопуляционную вариацию. Генетическое сходство среди популяций, определенное на основе коэффициента генетического сходства Нея, варьирует в пределах  $0.630\pm 0,965$ . Самый высокий коэффициент сходства наблюдался между популяциями *Th. kotschyanus*-1 (Иран, Казвин-Гагазан) и *Th. kotschyanus*-5 (Иран, Казвин-Аламут), а высокий коэффициент несходства между популяциями *Th. vulgaris* и *Th. carmanicus*-2 (Иран, Исфахан-2). На основе полученных молекулярных данных с помощью компьютерной программы JAM и методом кластерного анализа Single-Linkage исследованные популяции тимьяна были разделены на 5 групп. Использование метода главных компонент (PCA) обнаружил, что 74,85% общей вариации связано с первыми тремя компонентами. Таким образом, полученные на основе молекулярных исследований данные о распределении популяций по кластерам согласуются с данными цитогенетического анализа. Исследования показали, что использование RAPD маркеров могут быть основным и эффективным средством для оценки генетического разнообразия популяций.

Kağız formatı 60x84 1/16.  
Sayı 100

---

Bakı Dövlət Universiteti nəşriyyatı,  
Bakı-370073, Z.Xəlilov küçəsi, 23.  
BDU Nəşriyyatının mətbəəsi

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА  
ИНСТИТУТ БОТАНИКИ**

---

---

*На правах рукописи*

**ДЖАВАДИ ХАМИДЕ БАХШАЛИ КЫЗЫ**

**ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ БИОРАЗНООБРАЗИЯ НЕКОТОРЫХ  
ВИДОВ ТИМЬЯНА**

**2409.01 – Генетика**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации представленной на соискание ученой степени  
доктора философии по биологии

**БАКУ - 2013**