

BİOLOGİYA ELMLƏRİ VƏ AQRAR ELMLƏR
BIOLOGICAL SCIENCES AND AGRARIAN SCIENCES

DOI: <https://doi.org/10.36719/2707-1146/29/7-13>

Elfira Zaur qızı Ağayeva
Gəncə Dövlət Universiteti
biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
shanur@rambler.ru

Güləbatın Vaqif qızı Hübətova
Gəncə Dövlət Universiteti
aqrar elmləri üzrə fəlsəfə doktoru
humbatovagulebatin@gmail.com
UOT: 575.17:582.736+577.21

**NADİR NÖV OLAN *ASTRAGALUS GJUNAICUS* A.GROSSH. (FABACEAE)
NÖVDAXİLİ POLİMORFİZMİNİN ÖYRƏNİLMƏSİ**

Xülasə

Azərbaycanda nadir endemik növ olan *Astragalus gjunaicus*un altı populyasiyasının genetik müxtəlifliyini qiymətləndirmək üçün genom DNT-nin (ISSR) növlərarası analiz metodundan istifadə edilib. Beş primerlə DNT amplifikasiyası nəticəsində 89 DNT fraqmenti əldə edilmişdir ki, onlardan 81-i (94,1%) polimorf olmuşdur. Zivlan populyasiyasının digər populyasiyalarla müqayisədə oxşarlıq səviyyəsi aşağı, Nei oxşarlıq əmsalı isə 0,139 idi. Zivlan populyasiyasının digər populyasiyalarla aşağı oxşarlığı onun uzunmüddətli təcrid olunmasını sübut edir. Əldə edilmiş nəticələr əsasında *Astragalus gjunaicus*un mühafizəsi strategiyası təklif edilmişdir.

Açar sözlər: *Fabaceae*, *Astragalus gjunaicus*, genetik dəyişkənlik, ISSR, nadir növ, bitkilərin mühafizəsi

Elfira Zaur Aghayeva
Gandja State University
Ph.D in Biology
shanur@rambler.ru
Gulabatin Vagif Humbatova
Gandja State University
Ph.D in Agricultural Sciences
humbatovagulebatin@gmail.com

**Study of intraspecific polymorphism of rare species *Astragalus gjunaicus*
A.Grossh. (FABACEAE)**

Abstract

The method of interspecific analysis of genome DNA (ISSR) was used to assess the genetic diversity of six populations of *Astragalus gjunaicus*, a rare endemic species in Azerbaijan. As a result of DNA amplification with five primers, 89 DNA fragments were obtained, of which 81 (94.1%) were polymorphic. The Zivlan population had a low level of similarity compared to other populations, with a Nei similarity coefficient of 0.139. The low similarity of the Zivlan population to other populations proves its long-term isolation. Based on the results obtained, a strategy for the protection of *Astragalus gjunaicus* has been proposed.

Keywords: *Fabaceae*, *Astragalus gjunaicus*, genetic variability, ISSR, rare species, plant protection

Giriş

Genom DNT-nin mikrosatellit sahələrinin arası analizinin üsulu (ISSR) Azərbaycanın nadir endemik növü olan *Astragalus gjunaicus* altı populyasiyasının genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsi üçün istifadə olunmuşdur. DNT-nin beş praymerlə amplifikasiyası nəticəsində 89 DNT fraqmenti əldə olunmuşdur ki, onlardan 81-i (94.1%) polimorfudur. Zivlən populyasiyasının digər populyasiyalara nisbətən aşağı oxşarlıq səviyyəsi müəyyən olunmuşdur, Nei oxşarlıq əmsalı 0.139 təşkil edirdi. Zivlən populyasiyasının digər populyasiyalara oxşarlıq göstəricisinin azlığı, onun kifayət qədər uzun müddətli təcrid olunmasını sübut edir. Əldə olunmuş nəticələrin əsasında *Astragalus gjunaicus* qorunması strategiyası təklif olunub.

Müasir dövrdə bioloji müxtəlifliyin qorunması problemi aktuallığını dahada artırır. İnsanın təbiətə təsirinin intensivliyi ümumbəşər xüsusiyyət daşıyır və çoxsaylı növlərin itirilməsinə gətirib çıxarır.

Nadir, mühafizəyə ehtiyacı olan növlər sırasına güney gəvəni (pasxladəni) *Astragalus gjunaicus* Grossh. (şək. 1) aid edilir.



Şək. 1. *Astragalus gjunaicus* – güney gəvəni (paxladən)

Göygöl sahillərinin şimal və şərqində darlokal yayılması olan endemik növ *A. gjunaicus* pleystosen bozqır reliktlərinə aiddir (Malyshev, Peshkova, 1984: 265; Redkiye i ischezayushchiye rasteniya Sibiri, 1980: 223).

Növ Qırmızı kitaba daxil edilib (Aleksyeva, Boykov, 2002: 39). Göy-gölün sahillərində, eləcə də sahil torpaqlarının açıq ərazilərində çuxurlarda təsadüf edilir. Təcrid olunmuş sahələrdə məhdud ərazidə yaşayır. Məlum olan populyasiyaların əksəriyyəti Göygöl gölünün şimal sahilində, Zivlən populyasiyası şərq sahilə arealın əsas hissəsindən 3 km uzaqlıqda yaşayır (şək.2).

A. gjunaicus populyasiyası Zivlən kəndi yaxınlığında Göygöl Milli Parkında mühafizə altındadır. Ancaq son illərdə bu ərazidə turist sahəsinin fəal inkişafı gətirdiyi üçün *A. gjunaicus* yaşadığı ərazilərə antropogen yüklənmə ildən ilə artır.



Şək. 2. Şəkil-xəritə. Gəncə-Qazax bölgəsi üzrə *Astragalus gjunaicus* A.Grossh. arealı

Gəvənin bu növü yaşayışın ekstremal sahələrində təsadüf etdiyi üçün, istənilən antropogen təsir populyasiyanın sayının kəskin azalmasına gətirib çıxarır ki, onun sonrakı mövcudluğunu təhlükə altına alır. *A. gju-naicus* növünə çarpaz to zlanma xasdır və o müstəsna olaraq toxumla çoxalır. Toxumların mayalanması hava şəraitindən asılı olaraq müxtəlif illərdə güclü dərəcədə dəyişir (Tulokhonov, 2009: 17-22). Belə ki, Zivlən populyasiyasında 2018-ci ildə hər fərdə görə 898 toxum, 2019-cu ildə -500, 2020-ci ildə isə fərdə görə - 2347 toxum əmələ gətiridilər. Çox zaman toxumlar tam mayalanmır və yaxud həşaratlar tərəfindən güclü dərəcədə zədələnilirlər (təcrübə illərində Zivlən populyasiyasında tamqiymətli toxumların payı 10-23% arasında olurdu).

Beynəlxalq Təbii sərvətlər və Təbiəti Mühafizə İttifaqı (IUCN) təbiəti mühafizə tədbirlərinin aparılması və planlaşdırılması zamanı, növ müxtəlifliyinin və ekoloji sistemlərin müxtəlifliyinin öyrənilməsində genetik tərkibinin də tədqiqinin vacibliyini qəbul etdi (Sandanov, Selyutina, Dulepova, 2014: 295-305).

Nadir növlərin mühafizəsi strategiyasının işlənməsi zamanı növlərin populyasiyalarının genetik differensiasiyası və genetik dəyişkənliyinin səviyyəsi haqda mümkün qədər çox məlumatın olması vacibdir. Bu ilk növbədə öyrənilən növlərin maksimum çox saylı genetik müxtəlifliyə malik mərkəzlərin aşkarlanması üçün çox vacibdir.

Nadir növlərin genetik müxtəlifliyini öyrənmək məqsədilə onların mühafizəsi üçün son zamanlar molekulyar üsullardan geniş istifadə olunur.

İSSR- nişanlama üsulu populyasiya və taksonomik tədqiqatlarda geniş istifadə olunur, çünki İSSR markerlər yüksək dərəcə variabelliyyə malikdirlər (Gupta, Chyi, Romero-Severson, Owen, 1994: 998-1006; Nybom, 2004: 1143-1155).

DNT polimorfizminin öyrənilməsi metodlarına nisbətən bu üsul yaxşı həyata keçirilir, az əmək tələb edir və daha sadədir (Harris, 1999: 221-228). Mikrosatellitarası markerlərin tədqiqi metodu (İSSR- metod) digər üsullarda mümkün olandan daha çox polimorf lokuslar aşkarlamağa imkan verir (Esselman, Jianqiang, Crawford, 1999: 443-451). İSSR-markerlər dominant tip irsiyyətinə aiddirlər, onlar istifadə üçün çox sərfəlidirlər, DNT ardıcılığı haqda ilkin məlumat tələb etmirlər, bununla yanaşı RAPD- markerlərə nisbətən daha çox təkrarlana bilən nəticələr verirlər (Wolfe, Xiang, Kephart, 1998: 1107-1125).

Bununla əlaqəli olaraq *A. gju-naicus* populyasiyalarının genetik dəyişkənliyi və genetik differensiasiyasının tədqiqi aktualdır.

Təqdim olunan tədqiqatın məqsədi - nadir endemik növ olan *A. gju-naicus* genom DNT-nin mikrosatellitarası sahələrinin analizi üsulu vasitəsilə (İSSR) genetik differensiasiyasının öyrənilməsidir.

Material və metodlar. Bizim tərəfimizdən təbii yeddi məlum olan *A. gju-naicus* populyasiyalarının altısının nümunələri tədqiq olunublar: bir populyasiya şərq sahildən, digərləri şimal.

Göygöl gölünün şərq sahili

Göygöl populyasiyası. Külək yelləyən çuxurun xarici divarı, müxtəlifotlu-sivriyarpaq assosiasiya.

Göygöl gölünün şimal sahili

Zivlən 1. populyasiyası 1. Müxtəlifotlu-qatırquyruğu assosiasiyası.

Zivlən 2 populyasiyası 2. Çovdarsünbüllü assosiasiya.

Goranboy populyasiyası. Çovdarsünbüllü assosiasiya.

Faxralı populyasiyası 1. Müxtəlifotlu-gəvən assosiasiyası.

Naftalan populyasiyası 2. Müxtəlifotlu-gəvən assosiasiyası.

Hər populyasiyadan 7-dən 8-ə qədər nümunə tədqiq olunub. DNT-ni cücərmiş toxumlarının qurudulmuş 7-9 mq bitki toxumasından CTAB üsulunun bir qədər modifikasiyalarıyla ayırmış (Doyle, 1987: 11-15). İş prosesində aşkarlandı ki, güney gəvənin DNT-nin ayrılması üçün istifadə olunan material kimi bitkinin inkişafının istənilən fazasında olan yaşıl yarpaqlarından yararlanmaq olar. Ancaq daha uyğun material kimi 5-7 günlük cücərtiləri münasibdilər, çünki onları laboratoriya şəraitində ilin bütün fəsilələrində əldə etmək olar. Həmçinin cücərtilərdən əldə olunan DNT daha az miqdarda qarışıqlara malik olur.

Polimeraz zəncirvari reaksiyanı (PZR) C1000 Thermal Cycler (BioRad Laboratories, USA) amplifikatorunda aşağıdakı protokola uyğun həyata keçirmişik: DNT-nin ilkin denaturasiyası 1.30 dəq.

94°C dərəcədə; 35 amplifikasiya dövrü, buraya 0,40 dəqiqə ərzində 94 °C temperaturda DNT-nin denaturasiyasıda daxildir, 41–54 °C – 0.45 dəq praymerin yandırılması və 72 °C – 1.30 dəq. zəncirin elonqasiyası; yekun mərhələdə 72 °C dərəcədə – 5 dəq. Amplifikasiya üçün 50 nq matriks və 1,5 vahid Taq-polimerazadan (Rusiya, Medi-gen) ibarət PZR reaktivlərinin qarışığını hazırlamışıq (Frankel, 1974: 53-65).

Amplifikasiya üçün 19 praymer istifadə etmişik. Amplifikasiya qarışığının təmizliyini qiymətləndirilməsi üçün mənfi nəzarətdən istifadə etmişik, nəzarət nümunəsi DNT əlavə olunmadan amplifikasiya qarışığını tamlıqla saxlayırdı. Xarici qrup kimi *Gueldenstaedtia monophylla* istifadə etmişik.

Amplifikasiya məhsullarını elektroforez vasitəsilə 1%-li aqaroz gəldə 1×TBE buferdə parçalayırdıq. Boyaq qisminə CYBR-Green istifadə etmişik, onu gələ köçürmədən əvvəl bilavasitə hər nümunəyə əlavə edirdik. Gellərin U-B şüaları altında fotosəkillərini alırdıq (Bio-Rad GelDoc XR+).

Elektroforeqramlar əsasında binar matrikslər qurulub, burada hər amplikon marker kimi nəzərdən keçirilirdi və onun mövcudluğu (1) və yaxud olmaması (2) qeydə alınır. Gəldə oxşar hərəkətliliyi nümayiş edən amplikonları RAPD və İSSR metodlardan istifadə olunan tədiqatlarda adətən qəbul edilən homoloji hesab edirdik (O’Hanlon, Peakall, 2000: 15-16; Rossello, CebriAn, Mayol, 2002: 321-327) tövsiyələrinə uyğun olaraq amplikonların boyanma intensivliyinin nəzərə alınmırdı. DNT fraqmentlər şüalanmanın müxtəlif gücünü nümayiş edirdilər, ancaq bizim işimizdə yalnız aydın, yaxşı seçilən amplikonları qeydə alırdıq. Nümunələr arası oxşarlıq meyarı kimi məsafənin ölçüsü seçilmişdir (Nei, Li, 1979: 5269-5273):

$$D = 2N_{ab}/N_a + N_b$$

Burada N_a və N_b – a və b nümunələrinin amplifikasiya olunmuş fraqmentlərinin sayı; N_{ab} - a və b nümunələrinin uyğun elektroforeqrafik hərəkətli fraqmentlərin sayı. Məlumatların klaster analizi UPGMA metodu ilə TreeCon 3.1. proqramı vasitəsilə həyata keçirilib. Butstrep qiymətləri 1000 təkrar üçün hesablanıb.

A. gjunaiicus genom DNT-si ilə aparılan PZR reaksiya zamanı tərəfimizdən nukleotid ardıcılıqlarına görə fərqlənən 19 praymer təcrübədən keçirilmişdir. Tədqiq olunan praymerlərin 14-dən amplifikasiya əldə olunmuşdur, və yalnız 11 praymer *A. gjunaiicus* genotipik müxtəlifliyinin öyrənilməsi üçün daha effektiv olmuşdur. Bu praymerlər çoxsaylı dəqiq yaxşı təkrarlana bilən amplikonlar yaradırdılar ki, sonradan genetik analiz üçün seçilmişdirlər. Populyasiyaarası fərqlər ən gözəl şəkildə beş markerlə aşkarlanmışlar (cədv.1). Beş praymerin istifadəsi ilə DNT amplifikasiyası zamanı DNT-nin 89 fraqmenti əldə olunmuşdur (amplikon), onlar dan 81 polimorfdu. Praymerlərin hamısı üçün polimorf lokuslarının payı hər növ üçün 94.1 % təşkil etmişdir. Öyrənilən altı populyasiyadan olan bitkilərin DNT-nin amplifikasiyası zamanı əldə olunan fraqmentlərin sayı 14-dən (814, 99A) 25 (M10) qədər tərəddüd edirdi. Hər praymerə görə amplikonların orta sayı 18,2, polimorf amplikonların orta sayı – 17,2.

Cədvəl 1.
Populyasiyaarası differensasiyanın tədqiqində İSSR PZR -də istifadə olunan praymerlərin xüsusiyyətləri

Marker	Ardıcılıq (5->3)	t, ist °C		Polimorf fraqmentlərin sayı	P,%
814	(CT) ₇ CTT,-<G>	51	14	13	92,9
99A	(CA) ₆ A-<G>	47	14	13	92,9
HB11	(GT) ₆ C-<G>	50	16	15	93,7
M1	(AC) ₈ -<G>	56	22	21	95,5
M10	(CA) ₆ R-<G>	42	25	24	96,0

Populyasiyalar arası oxşarlıq meyarı kimi Nei (D) məsafə dəyəri seçildi. Tədqiq olunan bütün populyasiyalar arası oxşarlıq əmsalının qiymətləri 0-dan 0,909 qədər dəyişirdilər. (Cədv.2). Genetik oxşarlığın ən aşağı qiymətləri Zivlən populyasiyalarına xasdılar. Bu populyasiya ilə digər populyasiyalar arası oxşarlıq əmsalı müxtəlif praymerlərə görə 0-dan 0,333 qədər tərəddüd edirdi. Bu zaman ən çox fərqləri 99A praymeri nümayiş etdirdi – oxşarlıq əmsalı D 0,166-dan (Zivlən – Million) 0,333 qədər (Zivlən - Zivlən) təşkil etdi, və ümumilikdə bütün praymerlər üçün 0,129-dan 0,178 qədər (orta hesabla 0,145) olmuşdur.

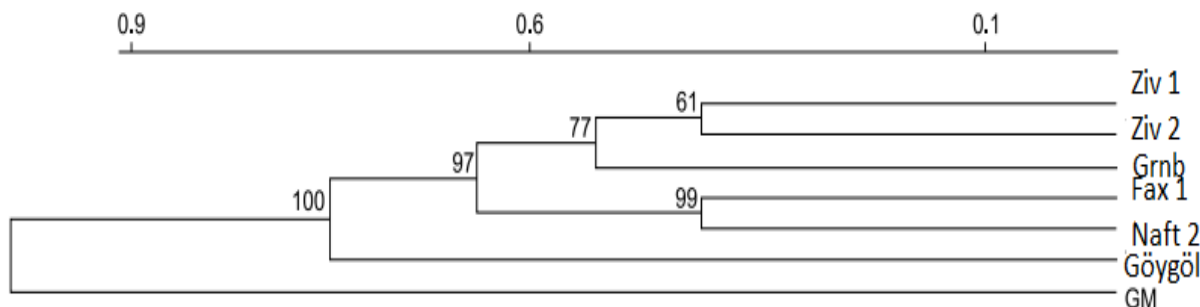
Ən çox genetik oxşarlıq Zivlən1 və Zivlən2 populyasiyaları arasında aşkarlanmışdır, Oxşarlıq əmsalının qiyməti 0,750-dən (M1) 1,00 (M10) qədər, və orta hesabla $D = 0,851$ təşkil edirdi. Goranboy populyasiya Zivlən 2 populyasiya ilə əhəmiyyətli dərəcədə oxşarlığa malikdir – $D = 0,666$ -dan (M1, HB11) 0.909 (99A, M10) qədər, beş praymerə görə orta hesabla $D = 0,790$ və, bir qədər az oxşarlıq Zivlən 1 populyasiyası ilə $D = 0,500$ -dən (M1).

$D = 0.909$ (99A, M10) qədər, orta hesabla beş praymerə görə $D = 0.747$.

Cədvəl 2

A. *gjuinaicus* beş praymer əsasında maksimum populyasiyaarası differensasiyanı nümayiş edən Nei genetik məsafə

Populyasiya	Göygöl	Zivlən1	Zivlən2	Faxralı1	Naftalan2	Goranboy
Göygöl		0,137	0,178	0,153	0,129	0,130
Zivlən1			0,777	0,558	0,550	0,465
Zivlən2				0,503	0,423	0,493
Faxralı1					0,851	0,747
Naftalan2						0,790



Şək. 3. A. *gjuinaicus* altı populyasiyası arasında (Nei, Li, 1972) genetik qiymətlər matriksinin əmsalının əsasında qurulmuşUPGMA-dendroqram Rəqəmlərlə butstren-dayağın ölçüsü göstərilib (%).

Faxralı1 və Naftalan2 populyasiyaları arasında oxşarlıq əmsalı 0,545-dən (M1)1,00 (99A) qədər təşkil edirdi, beş praymerə əsasən bu əmsalın qiymətinin orta göstəricisi $D = 0, 777$. D-nin yüksək göstəriciləri bu populyasiyaların yaxın qohumluğuna işarə edirlər. Zivlən1, Zivlən2 və Goranboy qrupu Faxralı1 və Naftalan2 populyasiya qrupları ilə coğrafi cəhətdən məsafədədilər, onlar arasında oxşarlıq əmsalı bütün praymerlər üzrə $D = 0.423–0.558$. təşkil edir.

UPGMA-dendroqramın məlumatları Göygöl populyasiyasının arealın əsas hissəsinin populyasiyaları ilə müqayisədə əhəmiyyətli dərəcədə genetik differensasiyasını nümayiş edir (butstrep-dayaqla 100%) (şək.3). Həmçinin Zivlən1 və Zivlən2 populyasiyaları yüksək dərəcədə oxşarlıq səviyyəsini, Goranboy, Faxralı1 və Naftalan2 onlara yaxınlıq nümayiş edirlər.

Bitki populyasiyalarının genetik differensasiyası növün uzunmüddətli təkamül tarixinin qarşılıqlı təsirini, onun daxilində mutasiya, genetik dreyf, genlər axını və seçmə kimi baş verən genetik prosesləri əks etdirir (yəni, arealın dəyişməsi, yaşayış yerlərinin fraqmentləşməsi və populyasiyaların təcridi) (Schaal, Haywoth, Olsen, 1998: 465-474).

Bitkilərin müxtəlif növləri populyasiyalar arasında genetik müxtəlifliyin paylanması strukturuna görə fərqlənirlər. Coğrafi yerləşmə, ətraf mühit şəraiti, yaşayış yerlərinin azalması və parçalanma məhdud yayılma ilə növlərdə populyasiyanın fərqliliyini artırma bilən amillərdir (Travis, Maschinski, Keim, 1996: 735-745).

A. gjuhaicus arealının şərq hissəsində yerləşən Göygöl populyasiyası arealın əsas (mərkəzi) hissəsindən ən uzaq məsafədədir. Arealın əsas hissəsinin populyasiyaları arasındakı güclü genetik differensasiya, bir tərəfdən, Zivlən populyasiyası ilə digər tərəfdən bizim fikrimizcə bu populyasiyanın fərqli ekoloji şəraitdə uzunmüddətli Göygöl gölünün şərq sahilində coğrafi təcridinin nəticəsidir

Goranboy rayonundakı azsaylı populyasiya son 50-60 il ərzində təcrid olunubdur. O, Zivlən populyasiyasından təcrid olunubdur. Baxmayaraq ki, keçmişdə Zivlən1 və Zivlən2 ilə tək populyasiya təşkil edən Göygöl populyasiyası 50 il müddətində təcridə olmuşdur, onlar arasında genetik differensasiya aşkarlanmamışdır. Cüt populyasiyaların oxşarlığı (Faxralı1, Naftalan2 və Zivlən1 Zivlən2) onların bir-birinə yaxın yerləşməsi ilə əlaqəlidir ki, çox guman var ki onlar ümumi genofonda malikdirlər.

Bəzi çoxillik çarpaztozlanan taksonlar arasında əhəmiyyətli dərəcədə genetik differensasiyanı yalnız 600 il təcriddən sonra aşkarlamışlar (Su, Qu, He, 2003: 212-219). Bu məlumatlar bizim əldə etdiyimiz nəticələrlə uyğundur. Populyasiyaların əsas qruplarıyla digərlərindən uzun müddət ərzində təcrid olan Göygöl populyasiyalarının arasında maksimal genetik fərqlər müəyyən olunur.

Nəticə

Əldə olunan nəticələr təcrid olunmuş və coğrafi cəhətdən uzaqda yerləşən populyasiyalar arasında əhəmiyyətli dərəcədə differensasiyanın mövcudluğunu subut edirlər. Populyasiya cütləri arasında orta səviyyədə oxşarlıq 0,459 təşkil edir. *A. gjuhaicus* üçün bizim tərəfimizdən əldə olunan populyasiya-genetik fərqlərinin xüsusiyyətləri, bu növün qorunması strategiyasının işlənilməsində böyük əhəmiyyət kəsb edir. *A. gjuhaicus* populyasiyalarının yüksək səviyyədə genetik differensasiyasını nəzərə alaraq, mövcud populyasiyaların hamısının *in situ* qorunması bu sahədə üstünlük təşkil edən məsələ (prioritet) olmalıdır.

A. gjuhaicus populyasiyaları üçün aşkar edilmiş yüksək dərəcədə fərqlilik genetik bankın yaradılması zamanı və bu növün introduksiyası və reintroduksiyası üzrə işlər aparılarkən nəzərə alınmalıdır.

Ədəbiyyat

1. Malyshev, L., Peshkova, G. (1984). Osobennosti i genezis flory Sibiri (Predbaykal'ye i Zabaykal'ye). Novosibirsk, 265 s.
2. Redkiye i ischezayushchiye rasteniya Sibiri. (1980). Novosibirsk, 223 s.
3. Alekseyeva, Ye., Boykov, T. (2002). Astragal shelkovisto-sedoy – Astragalus sericeocanus Gontsch. Krasnaya kniga Respubliki Buryatiya: Redkiye i ischezayushchiye vidy rasteniy i gribov. Novosibirsk, 39 s.
4. Tulokhonov, A. (2009). Sistemnyy podkhod k prirodopol'zovaniyu v Baykal'skom regione. Geografiya i prirod. Resursy. № 3, s.17-22.
5. Sandanov, D., Selyutina, I., Dulepova, N. (2014). Struktura soobshchestv i tsenopopulyatsiy Astragalus sericeocanus Gontsch. na poberezh'ye Baykala. Sib. ekol. zhurn. № 2, s.295-305.
6. Gupta, M., Chyi, Y., Romero-Severson, J., Owen, J. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple sequence repeats. Theoret. Appl. Gen. V. 89, p.998-1006.
7. Nybom, H. (2004). Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Mol. Ecol. V. 13, p.1143-1155.
8. Harris, J. (1999). RAPDs in systematics – a useful methodology? P.M.Hollingsworth, R.M.Bateman, R.J.Gornall. Molecular systematics and Plant Evolution, p.221-228.
9. Esselman, E., Jianqiang, L., Crawford, D. (1999). Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* subsp. *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. Mol. Ecol. V. 8, p.443-451.

10. Wolfe, A., Xiang, Q., Kephart, S. (1998). Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Ibid.* V. 7, p.1107-1125.
11. Doyle, J. (1987). A rapid DNA isolation of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bull.* V. 19, p.11-15.
12. Frankel, O. (1974). Genetic conservation: our evolutionary responsibility. *Genetics.* V. 78, p.53-65
13. O'Hanlon, P., Peakall, R. (2000). A simple method for detection of size homoplasy among amplified fragment length polymorphism fragments. *Mol. Ecol.* V. 9, p.815-816.
14. Rossello, J., Cebrian, M., Mayol, M. (2002). Testing taxonomic and biogeographical relationship in a narrow Mediterranean endemic complex (*Hippocrepis balearica*) using RAPD markers. *Ann. Bot.* V. 89, p.321-327.
15. Nei, M., Li, W. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1979. V. 76, No. 10, p.5269-5273.
16. Schaal, B., Hayworth, D., Olsen, K. (1998). Phylogeographic studies in plants: problem and prospects. *Mol. Ecol.* V. 7, p.465-474.
17. Travis, S., Maschinski, J., Keim, P. (1996). An analysis of genetic variation in *Astragalus cremnophylax* var. *Cremnophylax*, a critically endangered plant, using AFLP markers. *Mol. Ecol.* V. 5, p.735-745.
18. Su, H., Qu, L., He, K. (2003). The Great Wall of China: a physical barrier to gene flow? *Heredity.* V. 90, p.212-219.

Göndərilib: 27.12.2023

Qəbul edilib: 18.02.2023