



## Хошуу будааны генетикийн олон янз байдлыг SSR маркер ашиглан тодорхойлсон судалгаа

Я.Мөнхтуяа<sup>1</sup>, Жан Зонгбэн<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ургамал газар тариалангийн хүрээлэн, ХААИС

<sup>2</sup> Ургамлын аж ахуйн эрдэм шинжилгээний хүрээлэн, Бээжин дэх Хятадын ХАА-н академи

\*Холбоо барих хаяг: [munkhsun2020@gmail.com](mailto:munkhsun2020@gmail.com)

### ХУРААНГУЙ

Хошуу будаа (*Avena L.*) нь хүнс, тэжээл үйлдвэрлэлийн чухал үр тарианы таримал юм. Хошуу будааны генетикийн олон янз байдал түүний селекцийг чанартай явуулах үндсэн гол чухал материал болдог. SSR маркер ашиглан хошуу будааны үр хөврөлийн (germplasm) олон янз байдал, түүний генетикийн үндэсийг тодорхойлж болдог. Бид судалгаандаа 83 хос SSR праймер ашиглан 5 өөр улсын 286 хошуу будааны дээжийн генетикийн олон янз байдлыг үнэлэн тогтоолоо. Судалгааны үр дүнгээс харвал дээжүүдийн хоорондын генетикийн ялгаа өндөр байв. SSR маркерын байршил дахь аллелийн тоо 2-8, дунджаар 3.49, харин тойргийн аллелийн давтамж 0.002-0.709, Nei-ийн төрөл зүйл 0.67 байсан бол тойрог нь 0.44-0.85, полиморфизмын мэдээллийн агуулга (PIC) 0.37-0.83 хооронд хэлбэлзэж байв. Зургаан бүлгийг кластер болон бүтцийн дүн шинжилгээгээр тусгаарласан бөгөөд өөр өөр гарал үүсэлтэй дээжүүдийн хоорондох хамаарлыг үзүүлээ.

**Түлхүүр үг:** Хошуу будаа, генетикийн олон янз байдал, SSR маркер

### ОРШИЛ

Хошуу будаа (*Avena spp.*) нь Хойд Америк, Хойд Европ, Хятад, Австралид ургадаг таримал юм. Дэлхий дээр хошуу будааны хоёр хэлбэр байдаг. Энэ нь хальстай болон хальсгүй (нүцгэн) гэсэн 2 төрлөөр ялгагдана. Хошуу будаа нь зүрх судасны өвчин, арьсны харшил өвчин, холестерин бууруулах, чихрийн шижин өвчнөөс урьдчилан сэргийлэхэд тустай ач холбогдолтой тул дэлхийн олон улс оронд эрүүл хоол хүнсээр хүлээн зөвшөөрөгддөг. Аливаа газар зохицсон ургах чадвартай, амьжиргаагаа дэмжихэд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг (Marshall Hoffmann, ба бусад., 1992) [8]. Хошуу будааны үрэнд уураг, тос, микроэлемент ихээр агуулагддаг бөгөөд энэ нь хүнс болон малын тэжээлийн хошуу будааны аль алинд нь өндөр агуулсан байдаг (Tian ба бусад. 2003) [13]. Дэлхийн хошуу будааны тариалангийн талбай ойролцоогоор 7 сая орчим га бөгөөд Канад, Австрали, АНУ, Польш, Хятад орнууд хошуу будааг хамгийн ихээр тариалдаг (FAO 2014) [16] Хошуу будааны генетикийн олон янз байдал нь хошуу будааны селекци болон түүнийг сайжруулахад чухал үүрэгтэй (Diederichsen 2008) [1]. Хошуу будааны 200000 гаруй дээжүүд болон

түүний зэрлэг төрөл зүйлүүд дэлхийн ген банкуудад хадгалагдаж байна (Diederichsen 2008) [1]. Удамшил нь хувьсалын динамик процесс бөгөөд хэтэрхий төвөгтэй болох нь SSR маркерийн судалгаанд нотлогдсон (Ellegren 2004, Pearson 2005) [3]. Селекцийн судалгааны хошуу будааны сортуудыг SSR маркерын генетик шинж чанарыг морфологийн шинж чанаруудтай харьцуулсан үнэлэхэд агрономийн болон молекулын түвшний аль алинд нь генетикийн олон янз байдлын алдагдал ажиглагдсан байна (Nersting 2006) [11]. Заримдаа генетикийн тодорхойгүй байдлаас болж селекцийн ажилд эцэг эхийг тодорхойлоход хэцүү байдаг. Хэдийгээр фенотипийн шинжилгээний аргуудаар хошуу будааны генетикийн ижил төстэй эсвэл ялгаатай байдлыг тодорхойлж болдог ч молекулын маркеруудыг ашигласнаар янз бүрийн популяцийн аллелийн давтамж, генетикийн холбоог илүү нарийн ойлгох боломжтой. Бид энэхүү судалгаагаар Бразил, Канад, Хятад, Монгол, АНУ-ын хошуу будааны 286 сортын генетикийн олон янз байдал, популяцийн бүтэц, генетикийн харилцан хамаарлыг тодорхойллоо.

## СУДАЛГААНЫ АРГА ЗҮЙ

Судалгаанд Бразилийн 19, Канадын 30, Хятадын 69, Монголын 50, АНУ-ын 118, нийт хошуу будааны 286 дээж хамрагдсан. Энэхүү туршилт судалгаанд SSR маркерийг ашигласан.

**ДНХ ялгах.** СТАВ -ын аргыг бага хэмжээнд өөрчлөн навчны эдээс ДНХ ялгав (Dellaporta ба бусад., 1983) [2]. Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-д зориулж ДНХ-ийн концентрацийг 50 нг мкг<sup>-1</sup> хүртэл шингэлэв. Хятадын ХАА-н академийн харьяа Ургамал Газар Тариалангийн Хүрээлэнгийн хошуу будааны судалгааны салбарт боловсруулсан микросателлит праймерыг энэхүү судалгаанд ашиглав (Wu ба бусад., 2012) [12].

**Полимеразын гинжин урвал.** Нийт 450 SSR маркерыг хошуу будааны 286 дээжүүд дээр шалгаж, ПГУ-ын бөөгнөрөлөөс 83 полиморфизм бүхий 83 SSR маркерыг сонгов. ПГУ-ын олшруулалтын урвалын уусмалыг 50 нг ДНХ, 1,5 ммоль L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.2 ммоль L<sup>-1</sup> dNTP, 1.0 нэгж Taq ДНХ полимераз, 0.1 мкмMol L<sup>-1</sup> праймер байхаар бэлтгэв. ПГУ-ыг 94 ° C-д 5 мин(денатураци), дараа нь 30 циклийн давтамжаар 94°C-д 30 сек, 55° C-д 30 сек, 72° C-д

60 сек (праймер хадагдах), 72° C-д 10 мин (уртасгах) явуулж, дараа нь 4°C-д хөргөнө. ПГУ-ын бүтээгдэхүүн 500 mA-н цахилгаан гүйдэлийн 200 V-д 2.5 цагийн турш 8% -ийн өөрчлөлтгүй поликарриамидийн гель (PAGE) болон электрофорез дээр илэрсэн. Гелийг мөнгөний нитратаар будсан.

**Статистик анализ.** SSR маркерууд нь кодоминант шинжтэй бөгөөд гибрид зиготуудыг таниулах чадвартай. SSR маркер бүрт 2 аллель илрэх боломжтой бөгөөд бэнд илэрсэн бол 1, илрээгүй бол 0 гэж тэмдэглэв.

A1/0 матриц нь 83 хос SSR маркерийн багцын аллелийг агуулж байгаа эсэхээс хамаарна. SSR маркерыг ашиглан гаргасан генотипийн мэдээллээр генетикийн олон янз байдал, зүйлийн бүтцэд дүн шинжилгээ хийсэн. Тодорхойлсон генетикийн олон янз байдлын статистикийг Power Marker програмын 3.25 хувилбарыг ашиглан тооцоолов (Liu, Muse 2005) [4]. SSR байршил дахь цэг бүрт ажиглагдсан аллелийг лавлаж нийт ажиглалтын бүх элементийн арифметик дундаж тоогоор байршуулсан элементүүдийн дундажийг тооцоолсон.

## СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

**SSR маркерийн полиморфизм.** Нийт 450 SSR маркерыг хошуу будааны 286 дээжүүд дээр шалгаж, ПГУ-ын бөөгнөрөлөөс 83 полиморфизм бүхий 83 SSR маркерыг сонгосон. 83 SSR тэмдэглэгээний байршилд нийт 290 аллелийг тогтоожээ. SSR байршил дахь аллелийн дундаж тоо 3.49, 2-8 хүртэл (AM2185) байна. 16, 29, 25, 19, 1, 1, 1 SSR маркерууд тус тус 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 аллелийг тодорхойлсон. Аллелийн давтамж нь 0.002-0.709 хооронд хэлбэлзэж, дунджаар 0.262 байна. 290 аллелийн есөн давтамж нь 0.03-аас бага байв. Эдгээр нь ховор аллельд тооцогдож болох бөгөөд өвөрмөц дээжүүдийг тодорхойлоход ашигтай юм. Бүх дээжүүдийн дагуу эдгээр аллелиудын нийт 625 генотипийг үүсгэсэн. AM279 маркераар хамгийн багадаа 2 генотипийг үүсгэсэн бөгөөд AM2185-ийн дээд тал нь 28 генотип үүсгэсэн, генотипийн дундаж тоо нь нэг байршилд 7.53 байна. Бүх дээжүүдэд тооцсон бүх SSR маркер дундаж генийн олон янз байдал нь 0.67 байв. AM2673 маркер 0.85 хүртэл, AM939 маркер 0.44 хооронд хэлбэлзэж байна. Дээжүүдийн бүх SSR маркерууд гитрозигот 0.49, AM623, AM1046 болон AM1057, AM2438 маркерууд 0.00- 0.98 хүртэл байсан юм. Полиморф мэдээллийн агуулга (PIC) AM939,

AM2673 нь 0.37-0.83 хүртэл янз бүр SSR маркер шинжилгээ хошуу будааны дээжүүдийн дунд мэдээллийн маркер нь харьцангуй өндөр тоо илэрсэн болохыг харуулж байна. Маркерууд AM2185 (8 аллельтай), AM2673 (7 аллельтай) болон AM2438 (4 аллельтай) генотип тоо, генетикийн олон янз байдал болон гетерозигот полиморфизмын хамгийн өндөр түвшинг харуулж байна.

**SSR полиморфизм ба аллелийн давтамж.** Энгийн дарааллын давталт (SSR) буюу богино дараалсан давталт (STR) гэгддэг микросателлитууд нь эукариот болон прокариот геномд өргөн тархсан, дараалан давтагдсан 1-ээс 6 нуклеотидын жижиг сэдэлээс бүрдэх ДНХ-ийн кодчилолгүй бүсүүд юм. Бид нийт 526 хос праймерыг үзүүлж, полиморфизм 83 (15.8%) нь тодорхойлсон бөгөөд өмнөх 36% нь харьцангуй бага (Ли ба бусад., 2000) [5]. Nersting ба бусад. (2006) 84 овъёос, тариалангийн 7-р цооногийн 66 мужийг илрүүлсэн бөгөөд нэг байршилд 9.43 аллелийг тогтоожээ [11]. Одоогийн судалгаанд хамрагдсан аллелдийн тоо 3.49 байгаа нь харьцангуй бага боловч Li ба бусад (2000) 16 полиморфик SSR талбайд хоёроос найман эгнээ олдсон [5]. PIC-ийн үнэ цэнэ нь харьцангуй өндөр

байсан бөгөөд одоогийн судалгаагаар 0.37-0.83, Nersting ба бусад. (2006) [11], 0.46 - 0.96 нь Montilla-Bascón ба бусад судлаачид, (2013) [9]. Фу (2007) нар нь SSR праймер 26 хосыг 369 хошуу будааны хандалтыг үнэлж, 0.01-ээс 0.99 хүртэлх аллелийн давтамжийг олж, дундажийг 0.28 болгон ашигласан [15]. Бидний судалгаанд давтамж нь 0.002-0.709 хооронд хэлбэлзэж, дундажаар 0.262 байна. АНУ-аас 8, ховор аллелиудтай 10 холболт орсон байна.

**Хошуу будааны дээжүүдийн генетикийн ялгаа ба харилцан хамаарал.** Генетикийн ялгаатай байдал нь нь генетикийн сонголт, хошуу будааны селекцийн программыг сайжруулах үндэс суурь болдог. Nei-ийн генетикийн олон янз байдал нь янз бүрийн орноос ирсэн хошуу будааны бүлэгт 0.73-0.74 хооронд хэлбэлздэг. Энэхүү судалгааны дээжүүдийн генетик олон янз байдал нь бусад популяцид мэдээлэгдсэн хэмжээнээс харьцангуй их, улс орнуудын хошуу будааны генетикийн

ялгаа өндөр байв. Энэ судалгааны кластерийн шинжилгээгээр бид хошуу будааны генотипийг газар зүйн гарал үүслээр зургаан кластерт ангилсан. Тухайлбал, I, II, III бүлгийнхэн Америкийн ихэнх орнуудаас, харин V болон VI нь Азиас ирсэн дээжүүд (Монгол, Хятад) байв. Гэхдээ кластер IV нь Хятад, Канадын генотипүүдээс бүрдсэн бөгөөд энэ нь хоёр орны хоорондох үр хөврөлийн (гермплазм) солилцоо хамаарлыг харуулж байна (Figure 1). Кластер III нь Бразил, Канад, АНУ-ын дээжүүд нэгдэн орсон хамаарал нь холимог бөгөөд эдгээр нь гурван улс орны гермплазм байна. Кластерын дүн шинжилгээнээс илэрсэн филогенийн харилцан шүтэлцээ нь тивийн хоорондох хошуу будааны нүүдлийн гермплазмын хөдөлгөөний чиг хандлагыг тодорхой харуулсан ба гермплазмын гарал үүсэл нь тухайн материалын бодит газар зүйн гарал үүслийг заавал илэрхийлэх шаардлагагүй болохыг баталсан.

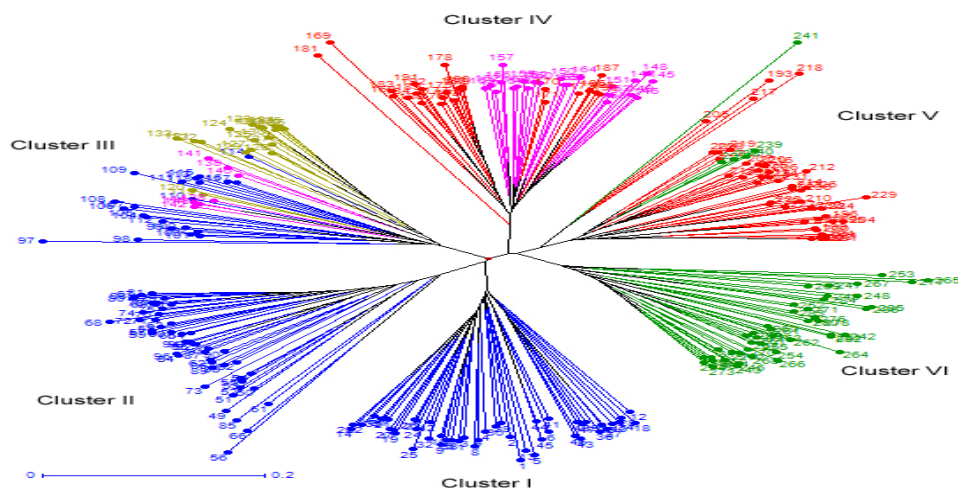


Figure 1. Clusters among 286 oat accessions based on genetic dissimilarity calculated with allele frequencies of SSR markers. Yellow for Brazilian accessions; pink for Canadian accessions; red for Chinese accessions; green for Mongolian accessions; blue for USA accessions

## ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Өнөө үед ДНХ-ийн төрөл бүрийн маркеруудыг нэгэнт тодорхойлсон бөгөөд үүнд ашиглагдаж буй арга бүр зарчим, хэрэглээ, илрүүлэх полиморфизмын хэлбэр, хэмжээ, мөн зардал, урьдчилан тавигдах шаардлагуудаараа ялгаатай. Тухайлбал полиморф ДНХ-ийн санамсаргүй амплификаци (random amplification of polymorphic DNA - RAPD), рестрикцийн хэсгүүдийн уртын полиморфизм (restriction fragment length polymorphisms - RFLP), амплификацийн хэсгүүдийн уртын полиморфизм (amplified fragment length polymorphisms - AFLP), энгийн дарааллын давталт (simple sequence repeats - SSRs)

гэх мэт аргуудыг ашигладаг. Nersting болон бусад судлаачид (2006) 84 нутгийн хошуу будааны болон таримлын долоон SSR байрлалаас locus тутамд дунджаар 9.43 аллельтай 66 аллелийг таньж тогтоосон [11]. Судалгаанд хамрагдсан аллелийн дундаж тоо 3.49 байгаа нь харьцангуй бага боловч Li ба бусад судлаачид (2000) мэдээлснээр 2-8 найман аллелийг 16 полиморфийн SSR маркер илрүүлсэн байна [5]. Fu (2007) 369 дээжийг үнэлэхдээ 26 хос SSR праймеруудыг ашиглаж дунджаар 0.28 болон 0.01-0.99 хүртэлх давтамжтай аллель олсон байна [15]. Энэхүү судалгаагаар Я.Мөнхтуяа., Z.Zhang

(2017) 5 орноос гаралтай хошуу будааны 286 дээжүүдэд 83 SSR молекул маркерыг ашиглан байршлын 290 аллелийг олж илрүүлж түүнчлэн өөр өөр улс орнуудаас гаралтай хошуу будааны

дээжүүдийн төрөл зүйл, гарал үүсэл, өөр хоорондоо, ялгаатай, уялдаа холбоотой байдлыг тогтоосон нь цаашид ийм төрлийн судалгаа хийгдэх боломжтойг харуулж байна.

## ДҮГНЭЛТ

Энэ судалгаагаар 5 орноос гаралтай хошуу будааны 286 дээжүүдээс 83 SSR байршлын 290 аллелийг олж илрүүлж, есөн аллелууд 0.03-аас бага давтамж байсан учраас ховор гэж тодорхойлсон. Өөр өөр орнуудаас гарал үүсэлтэй

дээжүүдийн хоорондох хамаарлыг кластер болон бүтцийн тусгаарласан дүн шинжилгээгээр тогтоов. Бид хошуу будааны генетикийн олон янз байдлыг тогтооход SSR маркер ашиглах нь үр дүнтэй болохыг батлан гаргасан.

## ТАЛАРХАЛ

Энэхүү судалгааг тасралтгүй дэмжиж, оюуны мэдлэг чадвартай миний зөвлөх профессор Zh.Zongwen удирдагчдаа талархал илэрхийлье. Мөн БНХАУ-ын Хөдөө Аж Ахуйн академи болон тус улсын Үрийн генбангийн хошуу будаа, бог

будааны молекул генетикийн лаборатори нь тус судалгааг хийхэд хөрөнгө санхүүгээр дэмжиж, судалгааны лаборатори, багаж, тоног төхөөрөмж зэрэг нөхцөлөөр бүрэн хангаж туслалцаа үзүүлсэнд гүн талархал илэрхийлье.

## АШИГЛАСАН БҮТЭЭЛИЙН ЖАГСААЛТ

- [1] Diederichsen A. 2008. Assessments of genetic diversity within a world collection of cultivated hexaploid oat (*Avena sativa* L.) based on qualitative morphological characters. *Genetic Res and Crop Evol*, **55**, 419-440
- [2] Dellaporta S L, Wood J, Hicks J B. 1983. A plant DNA mini preparation: version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1, 19-21.
- [3] (Ellegren 2004, Pearson 2005). Ellegren H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* **5**, 435-445.
- [4] Liu K, Muse S V. 2005. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics* 21, 2128-2129.
- [5] Li C D, Rosnagel B G, Scoles G J. 2000. The development of oat microsatellite markers and their use in identifying relationships among *Avena* species and oat cultivars. *Theor Appl Genet* 101, 1259-1268.
- [6] Li R, Wang S, Duan L, Li Z, Christoffers M J, Mengistu L W. 2007. Genetic diversity of wild oat (*Avena fatua*) populations from China and the United States. *Weed Sci*, **55**, 95-101.
- [7] Liu H, Mu P, Zhao G. 2015. A study on genetic diversity of *Avena* germplasm resources detected by ISSR. *Acta Pratacultuae Sinica*, **21**, 116-124.
- [8] Marshall HG, McDaniel ME, Cregger LM. 1992. Cultural practices for growing oat in the United States. In: Marshall HG, Sorrells ME (eds) *Oat science and technology*. Agron Monogr 33. ASA and CSSA, Madison, WI, pp 191-221.
- [9] Montilla-Bascón G, Sánchez-Martín J, Rispaill N, Rubiales D, Mur L, Langdon T, Griffiths I, Howarth C, Prats E. 2013. Genetic diversity and population structure among oat cultivars and landraces. *Plant Mol Biol Repr*, **31**, 1305-1314.
- [10] Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **76**, 379-390.
- [11] Nersting L G, Andersen S B, Bothmer R, Gullord M, Jorgensen R B. 2006. Morphological and molecular diversity of Nordic oat through one hundred years of breeding. *Euphytica* 150, 327-337.
- [12] Wu B, Lu P, Zhang Z. 2012. Recombinant microsatellite amplification: a rapid method for developing simple sequence repeat markers. *Mol Breeding* 29, 53-59.
- [13] Tian C., 2002. Oats. In Li R., Chai Y., Liao Q., and Sun S., (eds). *Minor Grain Crops in China*. China Agricultural Sci-Tech Press, Beijing. (In Chinese).
- [14] Fu X., Wang M and Qi X., 2004. Genetic diversity revealed by RAPD in different species of *Avena*. *J North Chi Agr* 19(4): 24-28. (In Chinese).
- [15] Fu Y B, Chong J, Fetch T, Wang M L. 2007. Microsatellite variation in *Avena sterilis* oat germplasm. *Theor Appl Genet*. 114, 1029-1038.
- [16] FAO. 2014. FAOSTATS. <http://faostat.fao.org>

## **Study of genetic diversity in oat accessions identified using of SSR markers**

**Munkhtuya Yarvaan<sup>1\*</sup>, Zhang Zongwen<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Plant and Agricultural Sciences, Mongolian university of Life Sciences, Darkhan, Mongolia

<sup>2</sup> Institute of Plant and Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences China, in Beijing, China

\*Contact address: munkhsun2020@gmail.com

### **ABSTRACT**

Oat is an important cereal crop for the food and feed industries. Genetic resources of oat are the basic materials for sustainable breeding programs. Microsatellites (SSR) are a useful tool for understanding the genetic background of oat germplasm resources. We used 83 SSR primer pairs to assess the genetic diversity of 286 oat accessions from five countries. The results indicated the presence of considerable variation among accessions. The number of alleles per SSR locus ranged from 2 to 8, with an average of 3.49; allelic frequencies ranged from 0.002 to 0.709; Nei's gene diversity was 0.67, ranging from 0.44 to 0.85; and polymorphism information content (PIC) values ranged from 0.37 to 0.83. Six groups were separated by cluster and structure analyses indicating the relationships between accessions with different origins.

**Keywords:** Oat, genetic diversity, simple sequence repeat markers (SSR)