NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI
ILMIY AXBOROTNOMASI, [2026-10]
ISSN:2181-1458
ISSN:2181-0427

03.00.00-BIOLOGIYA
journal.namdu.uz
BIOLOGICAL

UO‘K 582.794.1

FERULA L. TURKUMIGA MANSUB AYRIM TURLARNI RBCL DNK BARKODI ASOSIDA MOLEKULYAR TAVSIFLASH

Tojiboyeva Umida Komil qizi
O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Botanika instituti
ORCID: 0009-0007-5030-6701
E-mail: tojiboeva.umida@mail.ru
Yuldashev Husanboy Ergashali o‘g‘li
O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Botanika instituti
ORCID: 0009-0002-8249-0228
E-mail: xusanboyyuldashev968@gmail.com

Annotatsiya: *Annotatsiya Ushbu tadqiqot Ferula L. turkumining ayrim turlarini molekulyar-genetik usul asosida tavsiflashga bag‘ishlangan. Tadqiqot davomida Ferula turkumining 14 ta turiga mansub namunalardan genomik DNK ajratib olindi va xloroplast genomida joylashgan rbcL geni molekulyar marker sifatida tanlandi. rbcL fragmentlari polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) yordamida amplifikatsiya qilinib, mos PCR mahsulotlari sekvenslandi. Natijada Ferula sobulosa, F. samarkandica, F. korshinsyi, F. ferganensis, F. varia, F. ugamica, F. tuberifera, F. ternisecta, F. lithophila, F. kyzylkumica, F. kokanica, F. foetida, F. diversivittata va F. ceratophylla turlariga tegishli rbcL ketma-ketliklari olindi. Olingan ketma-ketliklar GenBank ma’lumotlar bazasiga PZ845946–PZ845959 accession raqamlari bilan joylashtirildi. Tadqiqot natijalari rbcL markeridan Ferula turkumining ayrim vakillarini molekulyar tavsiflashda foydalanish mumkinligini va yangi ketma-ketliklar ushbu turkum bo‘yicha mavjud molekulyar ma’lumotlar bazasini boyitishini ko‘rsatadi.*

Kalit so‘zlar: *Ferula L., Apiaceae, DNK barkodlash, rbcL, molekulyar marker, PCR, sekvenslash, GenBank.*

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА FERULA L. НА ОСНОВЕ ДНК-БАРКОДИРОВАНИЯ ГЕНА rbcL

Аннотация: *Аннотация Исследование посвящено молекулярно-генетической характеристике некоторых видов рода Ferula L. В ходе исследования из образцов 14 видов рода Ferula была выделена геномная ДНК, а ген rbcL, расположенный в хлоропластном геноме, выбран в качестве молекулярного маркера. Фрагменты rbcL амплифицировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), после чего соответствующие продукты ПЦР были секвенированы. В результате были получены последовательности rbcL, относящиеся к Ferula sobulosa, F. samarkandica, F. korshinsyi, F. ferganensis, F. varia, F. ugamica, F. tuberifera, F. ternisecta, F. lithophila, F. kyzylkumica, F. kokanica, F. foetida, F. diversivittata и F. ceratophylla. Полученные последовательности депонированы в базе данных GenBank под номерами PZ845946–PZ845959. Результаты исследования показывают возможность использования маркера rbcL для молекулярной характеристики отдельных представителей рода Ferula и расширяют имеющуюся молекулярную базу данных этого рода.*

Ключевые слова: *Ferula L., Apiaceae, ДНК-баркодирование, rbcL, молекулярный маркер, ПЦР, секвенирование, GenBank.*

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME SPECIES OF THE GENUS FERULA L. BASED ON rbcL DNA BARCODING

Abstract: *Abstract This study is devoted to the molecular-genetic characterization of selected species of the genus Ferula L. Genomic DNA was isolated from samples representing 14 Ferula species, and the rbcL gene located in the chloroplast genome was selected as a molecular marker. rbcL fragments were amplified using polymerase chain reaction (PCR), and the corresponding PCR products were sequenced. As a result, rbcL sequences were obtained for Ferula sobulosa, F. samarkandica, F. korshinsyi, F. ferganensis, F. varia, F. ugamica, F. tuberifera, F. ternisecta, F. lithophila, F. kyzylkumica, F. kokanica, F. foetida, F. diversivittata, and F. ceratophylla. The obtained sequences were deposited in the GenBank database under accession numbers PZ845946–PZ845959. The results demonstrate that the rbcL marker can be used for the molecular characterization of selected representatives of the genus Ferula and contribute new sequences to the existing molecular database of the genus.*

Keywords: *Ferula L., Apiaceae, DNA barcoding, rbcL, molecular marker, PCR, sequencing, GenBank.*

Kirish

Ferula L. turkumi Apiaceae oilasining yirik va taksonomik jihatdan murakkab guruhlaridan biri hisoblanadi. Turkum vakillari asosan Yevroosiyoning quruq va yarim quruq hududlarida, xususan, O‘rta yer dengizi, Eron-Turon floristik mintaqasi, Markaziy Osiyo va unga tutash tog‘li hududlarda tarqalgan. *Ferula* vakillari ko‘p yillik o‘simliklar bo‘lib, ko‘plab turlari dorivor va xo‘jalik ahamiyatiga ega [1].

Ferula turkumining sistematikasi uzoq vaqt davomida morfologik belgilar asosida shakllantirilgan. Biroq morfologik belgilarining o‘zgaruvchanligi, yaqin turlar o‘rtasidagi o‘xshashlik va ayrim diagnostik belgilarining ekologik sharoit ta’sirida o‘zgarishi turlarni aniq chegaralashni qiyinlashtiradi. Molekulyar tadqiqotlar ham *Ferula* turkumida murakkab filogenetik munosabatlar mavjudligini ko‘rsatgan. 126 ta *Ferula* turi va unga yaqin Leutea turkumi vakillari asosida olib borilgan tadqiqotda yadro va plastid markerlari o‘rtasida nomuvofiqliklar aniqlangan [2].

Keyingi tadqiqotlarda xloroplast genomlari asosidagi filogenetik tahlillar *Ferula* turkumining evolyutsion munosabatlarini o‘rganishda yuqori informativlikka ega ekanligi ko‘rsatilgan. To‘liq plastom ma’lumotlari asosida *Ferula* monofiletik guruh sifatida qo‘llab-quvvatlangan va turkum ichida asosiy evolyutsion liniyalar ajratilgan [3]. Shu bilan birga, ayrim turlarni molekulyar jihatdan tavsiflash uchun standart markerlardan foydalanish zarurati saqlanib qolmoqda.

DNK barkodlash o‘simlik turlarini molekulyar darajada tavsiflashning amaliy usullaridan biridir. Ushbu yondashuvda genomning standartlashtirilgan qismlaridan foydalanilib, olingan nukleotid ketma-ketliklari mavjud ma’lumotlar bilan taqqoslanadi [4, 5].

Xloroplast genomida joylashgan *rbcL* geni o‘simliklar uchun keng qo‘llaniladigan DNK barkod markerlaridan biridir. Uning keng qo‘llanilishiga o‘simliklarda keng tarqalganligi, PCR orqali nisbatan oson amplifikatsiya qilinishi va ma’lumotlar bazalarida ko‘plab taqqoslanadigan ketma-ketliklarning mavjudligi sabab bo‘ladi [4, 5]. Biroq *rbcL* genining nisbatan konservativ tabiati yaqin qarindosh turlarni ajratishda uning diskriminatsiya imkoniyatini cheklashi mumkin [5].

Shu munosabat bilan ushbu tadqiqotning maqsadi *Ferula* L. turkumining ayrim turlaridan DNK ajratish, *rbcL* markerini PCR yordamida amplifikatsiya qilish, olingan fragmentlarni sekvenslash hamda yangi ketma-ketliklarni GenBank ma’lumotlar bazasiga kiritishdan iborat.

Materiallar va usullar

Tadqiqot materiali sifatida *Ferula* L. turkumining 14 ta turi: F. sobulosa, *F. samarkandica*, *F. korshinsyi*, *F. ferganensis*, *F. varia*, *F. ugamica*, *F. tuberifera*, *F. ternisecta*, *F. lithophila*, *F. kyzylkumica*, *F. kokanica*, *F. foetida*, *F. diversivittata* va *F. ceratophylla* namunalari olindi. *Ferula* namunalari to‘qimalaridan genomik DNK ajratib olindi, DNKning sifati va miqdori PCR amplifikatsiyasidan oldin baholandi.

Genomik DNK CTAB usuli asosida ajratildi. Taxminan 100 mg maydalangan o‘simlik to‘qimasiga 500–1000 μL ekstraksiyalovchi CTAB buferi qo‘shilib, gomogenat 65 °C da 60 daqiqa inkubatsiya qilindi. Keyinchalik sentrifugalash, RNKaza bilan ishlov berish, xloroform/izoamil spirt bilan ekstraksiya, natriy atsetat va sovuq izopropanol yordamida cho‘ktirish bosqichlari bajarildi. DNK TE buferida eritilib, konsentratsiyasi NanoDrop yordamida tekshirildi.

Molekulyar tavsiflash uchun xloroplast genomining *rbcL* geni tanlandi. *rbcL* fragmentini amplifikatsiya qilish uchun *rbcL*a-F (AGACCTWTTTGAAGAAGGTTCWGT) va *rbcL*a-R (TCGGTYAGAGCRGGCATRTGCCA) primerlaridan foydalanildi. PCR reaksiyasi DreamTaq Green PCR Master Mix (2X), primerlar, DNK matritsasi va nukleazasiz suvdan tashkil topdi. Umumiy reaksiya hajmi 20 μL bo‘lib, 10.0 μL PCR Master Mix, 8.6 μL ddH_2O, 0.2 μL forward primer, 0.2 μL reverse primer va 1 μL DNKdan iborat bo‘ldi.

PCR dastlabki denaturatsiya (94 °C, 3 min), denaturatsiya (94 °C, 30 s), annealing (56 °C, 45 s), elongatsiya (72 °C, 45 s), yakuniy elongatsiya (72 °C, 10 min) va 4 °C da saqlash bosqichlarini o‘z ichiga oldi. Amplifikatsiya mahsulotlari agaroz gel elektroforezi yordamida tekshirildi. Sekvenslash uchun mos PCR mahsulotlari tanlandi. Olingan nukleotid ketma-ketliklari sifat jihatidan tekshirildi, zarur hollarda past sifatli uchlari olib tashlandi va teskari yo‘nalishdagi ketma-ketliklar reverse-complement shakliga keltirildi.

PCR natijasida olingan amplifikatsiya mahsulotlari agaroz gel elektroforezi yordamida tekshirildi. PCR mahsulotlarini ajratish va amplifikatsiya qilingan fragmentlarning taxminiy uzunligini aniqlash maqsadida 1,5% li agaroz gel tayyorlandi. Tayyorlangan gel elektroforez kamerasiga joylashtirilib, tegishli elektroforez buferi bilan to‘ldirildi. PCR mahsulotlari yuklash buferi bilan aralashtirilib, gel quduqchalariga yuklandi. Fragmentlarning o‘lchamini baholash uchun DNK molekulyar massasi markeri (DNA ladder) ishlatildi. Elektroforez yakunlangach, gelda hosil bo‘lgan DNK fragmentlari vizualizatsiya qilindi va amplifikatsiya natijalari baholandi. Olingan fragmentlarning taxminiy uzunligi *rbcL* markeri uchun kutilgan fragment hajmi bilan taqqoslandi. Sekvenslash uchun aniq va yetarli sifatdagi amplifikatsiya mahsulotlari tanlab olindi.

Natijalar

Tadqiqot davomida *Ferula* L. turkumining 14 ta turiga mansub namunalar molekulyar-genetik jihatdan o‘rganildi. *rbcL* fragmentlari PCR yordamida muvaffaqiyatli amplifikatsiya qilindi. 1,5% li agaroz gel elektroforezi natijasida barcha 14 ta namunada taxminan 600 bp hajmida aniq amplifikatsiya fragmentlari kuzatildi (1-rasm). DNK molekulyar massasi markeri yordamida amplifikatsiya qilingan fragmentlarning taxminiy uzunligi baholandi. Olingan aniq PCR mahsulotlari keyingi sekvenslash uchun tanlab olindi. Natijada o‘rganilgan *Ferula* turlariga tegishli *rbcL* nukleotid ketma-ketliklari olindi.

1-rasm. *Ferula* L. turlaridan ajratilgan DNK namunalarida *rbcL* fragmentining PCR amplifikatsiyasi natijalari. M — DNK molekulyar massasi markeri; 1–14 — tadqiqotda o‘rganilgan *Ferula* turlariga tegishli namunalar.

Olingan *rbcL* ketma-ketliklari tegishli turlar nomi bilan tartibga keltirildi va GenBank ma’lumotlar bazasiga joylashtirildi (1-jadval).

1-jadval. Tadqiqotda o‘rganilgan *Ferula* turlari va *rbcL* ketma-ketliklarining GenBank accession raqamlari.

Muhokama

Ferula L. turkumi Apiaceae oilasining taksonomik jihatdan murakkab guruhlaridan biri bo‘lib, uning vakillarini tavsiflashda morfologik va molekulyar belgilarni birgalikda qo‘llash muhimdir. Ushbu tadqiqotda *Ferula* turkumining 14 ta turi uchun *rbcL* markeridan foydalanilib, ularning molekulyar ma’lumotlari olindi.

rbcL o‘simliklar DNK barkodlash tadqiqotlarida keng qo‘llanadigan xloroplast markerlaridan biridir. Kress va Erickson [4] *rbcL* markerining o‘simliklarni DNK barkodlashdagi amaliy imkoniyatlarini ko‘rsatgan. CBOL Plant Working Group [5] esa *rbcL* va *matK* kombinatsiyasini quruqlik o‘simliklari uchun standart DNK barkodlash tizimining asosiy komponentlari sifatida tavsiya qilgan.

Ushbu tadqiqotda olingan 14 ta *rbcL* ketma-ketlikning GenBank ma’lumotlar bazasiga joylashtirilishi *Ferula* turkumining mavjud molekulyar ma’lumotlarini kengaytiradi. PZ845946–PZ845959 accession raqamlari bilan ro‘yxatdan o‘tkazilgan ketma-ketliklar kelgusidagi molekulyar va filogenetik tadqiqotlarda foydalanilishi mumkin.

Shu bilan birga, *rbcL* genining nisbatan konservativ xususiyatini hisobga olish zarur. Yaqin qarindosh turlar o‘rtasidagi genetik farqlar kichik bo‘lishi mumkinligi sababli, faqat *rbcL* asosida tur darajasida to‘liq diskriminatsiya har doim ham ta’minlanmasligi mumkin [5]. *Ferula* turkumining murakkab evolyutsion tarixini hisobga olgan holda, kelgusidagi tadqiqotlarda *rbcL* bilan bir qatorda boshqa plastid yoki yadro markerlaridan foydalanish maqsadga muvofiq.

Shunday qilib, mazkur ish *Ferula* turkumining ayrim vakillari uchun yangi *rbcL* ketma-ketliklarini taqdim etadi va ushbu ma’lumotlardan keyingi molekulyar tavsiflash hamda filogenetik tahlillarda foydalanish imkonini beradi.

Xulosa

Olib borilgan tadqiqot natijasida *Ferula* L. turkumining 14 ta turiga mansub namunalar molekulyar-genetik jihatdan o‘rganildi. Xloroplast genomining *rbcL* geni marker sifatida qo‘llanildi va PCR hamda sekvenslash natijasida o‘rganilgan namunalar uchun *rbcL* nukleotid ketma-ketliklari olindi. *Ferula sobulosa*, *F. samarkandica*, *F. korshinsyi*, *F. ferganensis*, *F. varia*, *F. ugamica*, *F. tuberifera*, *F. ternisecta*, *F. lithophila*, *F. kyzylkumica*, *F. kokanica*, *F. foetida*, *F. diversivittata* va *F. ceratophylla* turlariga tegishli ketma-ketliklar PZ845946–PZ845959 accession raqamlari bilan GenBank ma’lumotlar bazasiga joylashtirildi. Olingan ma’lumotlar *Ferula* turkumining molekulyar ma’lumotlar bazasini boyitadi va kelgusidagi molekulyar hamda filogenetik tadqiqotlar uchun foydalanilishi mumkin.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Pimenov M.G., Ostroumova T.A. The Tribe Scandiceae (Umbelliferae) of the Old World: with notes on the infrageneric classification of its genera. Moscow: KMK Scientific Press, 2012.

2. Panahi P., Banasiak Ł., Piwczyński M., et al. Taxonomy of the traditional medicinal plant genus Ferula (Apiaceae) is confounded by incongruence between nuclear rDNA and plastid DNA. Botanical Journal of the Linnean Society. 2018;188(2):173–193.

3. Zhou J., et al. Analysis of complete chloroplast genome sequences and insight into the phylogenetic relationships of Ferula L. BMC Plant Biology. 2022.

4. Kress W.J., Erickson D.L. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. PLoS ONE. 2007;2(6):e508. doi:10.1371/journal.pone.0000508.

5. CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(31):12794–12797. doi:10.1073/pnas.0905845106.