

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI

Əlyazması hüququnda

***İN VİTRO* ŞƏRAİTİNDƏ TƏCRİD EDİLMİŞ BUĞDA KULTURASINDA EPİGENETİK DƏYİŞİKLİKLƏRİN ÖYRƏNİLMƏSİ**

İxtisas: 2422.01 – Biotexnologiya (o cümlədən
bionanotexnologiyalar)

Elm sahəsi: Biologiya

İddiaçı: **Günay İlman qızı İsmayılova**

Fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim edilmiş dissertasiyanın

AVTOREFERATI

Bakı – 2025

Dissertasiya işi Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutunun Bitki biotexnologiyası laboratoriyasında və Türkiyə Respublikası Yıldız Texniki Universitetinin Bitki toxuma kulturası laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbərlər:

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Tofiq Hüsni oğlu Qaragözov

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dos
Mahirə Heybət qızı Məmmədova

Rəsmi opponəntlər:



AMEA-nın həqiqi üzvü
Məmməd Əhəd oğlu Salmanov

biologiya elmlər doktoru, dosent
Saib Qurban oğlu Güləhmədov

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Ülkər Vəqif qızı Neymətova

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən BFD 1.07/1 Dissertasiya Şurası.

Dissertasiya şurasının
sədri:

biologiya elmlər doktoru, professor
AMEA-nın müxbir üzvü
Panah Zülfikar oğlu Muradov

Dissertasiya şurasının
elmi katibi:

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Vəfa Yaşar qızı Həsənova

Elmi seminarın
sədri:

biologiya elmlər doktoru, dosent
Vəfa Xəlil qızı Qasıмова

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı və işlənmə dərəcəsi. Məlumdur ki, *“bitkilərin abiotik streslərə qarşı müqaviməti genetik cəhətdən mürəkkəb reaksiyalar hesab olunur və multigen xarakter daşıyır”*¹ Həmçinin *“müxtəlif inkişaf mərhələlərində stressorun təsiri bitkidə molekulyar, biokimyəvi və fizioloji proseslərin gedişatına bilavasitə təsir edir, bu da məhsulun keyfiyyəti və ümumi məhsuldarlığın azalmasında özünü biruzə verir”*².

Müasir zamanda müxtəlif abiotik stres amillərinə qarşı davamlı kənd təsərrüfatı bitkilərinin alınmasında toxuma kulturası metodlarından istifadə edilir. Dünyanın bir çox ölkələrində bu üsulla *“müxtəlif abiotik streslərə qarşı konkret torpaq-iqlim şəraitinə uyğunlaşdırılmış kənd təsərrüfatı bitkilərinin davamlı sortları alınmışdır”*³. Azərbaycanda da bu istiqamətdə müxtəlif bitkilərdə toxuma kulturası ilə işlər aparılır, lakin nə hüceyrə səviyyəsində, nə də regenerant bitkilərdə *in vitro* seleksiya zamanı baş verən epigenetik dəyişiklər bu vaxta qədər tədqiq olunmamışdır.

Nəzərə alınmalıdır ki, çoxhüceyrəli orqanizmlərdən təcrid edilmiş eksplantlarda müxtəlif differensiasiya olunmuş hüceyrələr vardır. Onlar ətraf mühitin siqnallarına müxtəlif reaksiya verməklə fərqli funksiyaları yerinə yetirirlər. Məhz bu epigenetik faktorlar canlı orqanizmlərdə, o cümlədən bu orqanizmlərdən alınmış toxumalarda *“hüceyrə yaddaşını”* təmin edir. Mutasiyalardan fərqli olaraq, *“epigenetik dəyişikliklər geri*

¹ Zhang, Y.; Xu, J.; Li, R.; Ge, Y.; Li, Y.; Li, R. Plants' Response to Abiotic Stress: Mechanisms and Strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 10915. <https://doi.org/10.3390/ijms241310915>

² Imran, Q.M.; Falak, N.; Hussain, A.; Mun, B.-G.; Yun, B.-W. Abiotic Stress in Plants; Stress Perception to Molecular Response and Role of Biotechnological Tools in Stress Resistance. *Agronomy* 2021, 11, 1579. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081579>

³ Wijerathna-Yapa, A.; Hiti-Bandaralage, J. Tissue Culture—A Sustainable Approach to Explore Plant Stresses. *Life* 2023, 13, 780. <https://doi.org/10.3390/life13030780>

dönmə qabiliyyətinə malikdir və idarə oluna bilər”⁴. Bu da davamlı, yüksək məhsuldar sortların alınmasına yönəlmiş seleksiya işlərini asanlaşdırır və *in vitro* şəraitinin modelləşdirilməsi ilə eksperimental proseslərin tətbiqi üçün platforma yaradır.

Epigenetika hüceyrələrin böyüməsi və bölünməsi zamanı genin aktivliyində irsi dəyişiklikləri, yəni DNT-də nukleotid ardıcılığını dəyişdirməyən və genlərin ekspressiyasını nizamlayan mexanizmləri öyrənir. Son zamanlar DNT-nin metilləşməsi, xromatinin remodelləşməsi, RNT-interferensiya, zülalların prionlaşması və X xromosomun inaktivasiyası ilə yanaşı bitkilərdə ontogeneza zamanı gen ekspressiyasına təsir göstərən digər mexanizmlər tədqiq olunur – bu da retrotranspozonlar adlanan mobil genetik elementlərdir. Retrotranspozonlara olan maraq, onların canlıların genomunun çox böyük hissəsini təşkil etməsi ilə bağlıdır. Həmçinin retrotranspozonların bitki genomunun təşkili, fəaliyyəti və təkamülündə çox böyük rolu vardır. “*Retrotranspozonlar genlərin funksiyalarının dəyişməsi, genlərdə fərqli fraqmentlərin aktivləşməsi və epigenetik nəzarətə təsir etmə yolu ilə genomun struktur və fəaliyyətinə təsir edir, yaxınlıqda yerləşən struktur genlərin transkripsiyasını və ya transkriptlərin prosesinqini dəyişdirə bilər, həmçinin, genlərin susdurulmasında iştirak edirlər*”⁵.

Bir sıra tədqiqatlarla da təsdiq olunmuşdur ki, “*bitkilərdə ontogeneza mərhələsindən asılı olaraq əsasən də stres zamanı, retrotranspozonların hərəkətliliyi xeyli dəyişir*”⁶. Bu da bitkilərdə polimorfizmin artmasına səbəb olur. *In vitro* becərilmə şəraitində induksiya olunmuş dedifferensiasiya, kallus əmələgəlmə,

⁴ Watanabe A., Yamada Y., Yamanaka S. Epigenetic regulation in pluripotent stem cells: a key to breaking the epigenetic barrier. (англ.) // Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences. — 2013. — Vol. 368, no. 1609. — P. 20120292.

⁵ Bennetzen, Jeffrey L.; Wang, Hao (2014). The Contributions of Transposable Elements to the Structure, Function, and Evolution of Plant Genomes. Annual Review of Plant Biology, 65(1), p. 505–530.

⁶ Сормачева И.Д., Блинов А.Г. LTR-ретротранспозоны растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 2. С. 351–381

morfogenez və bitkilərin *de novo* rekonstruksiyası zamanı retrotranspozonların hərəkətliliyinin öyrənilməsi bitkilərdə polimorfizm prosesinin nəzarətinə və tənzimlənməsinə geniş imkanlar yaradır. Bu yolla genetik stabil, yəni polimorfizmi çox aşağı olan və dəyişkənliyə meyilli, yəni polimorfizm göstəricisi yüksək olan bitkilər almaq mümkündür. Digər tərəfdən, *in vitro* seleksiya işlərində retrotranspozonların molekulyar marker kimi istifadəsi, seleksiyanı tələb olunan istiqamətə yönəltməyə imkan yaradır ki, bu da məqsədə uyğun müxtəlif streslərə davamlı yüksək məhsuldar buğda bitkilərinin əldə edilməsi üçün müasir istiqamətdir.

Tədqiqatın obyektı və predmeti. Tədqiqat işində Azərbaycan Respublikası Kənd Təsərrüfatı Nazirliyi Əkinçilik Elmi-Tədqiqat İnstitutundan əldə edilən yerli buğda sortlarından istifadə edilmişdir. Tədqiqatlar zamanı Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutunun Bitki biotexnologiyası laboratoriyasının süni iqlim otağında yetişdirilən buğda genotiplərinin normal və stres şəraitində alınmış hüceyrə kulturasından, regenerant və intakt bitkilərindən istifadə edilmişdir. Epigenetik tədqiqatlar Türkiyə Respublikası Yıldız Texniki Universitetinin Fənn fakültəsi, Genetika bölməsinin Bitki Toxuma Kulturası laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri. Tədqiqat işinin əsas məqsədi normal və stres şəraitində alınmış hüceyrə kulturasında, regenerant və intakt bitkilərdə epigenetik dəyişikliklərin öyrənilməsi olmuşdur.

Bu məqsədə uyğun olaraq, qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

➤ Buğdanın müxtəlif ölçülü yetişməmiş rüşeymlərinin *in vitro* kulturaya keçirilməsi və kallus toxumasının alınması;

➤ Fitohormonların müxtəlif qatılıq və kombinasiyalarının kalluslarda morfogenez prosesinə təsirinin öyrənilməsi;

➤ Genotiplərin *in vitro* kompetentliyinin qiymətləndirilməsi və epigenetik analizlərin seçilməsi;

➤ Buğdanın hüceyrə kulturasının morfogenez qabiliyyətinə müxtəlif qatılıqlı CdSO_4 və NaCl duzlarının təsirinin öyrənilməsi

və regenerant bitkilərin əldə edilməsi;

➤ Hüceyrə kulturasında, stres şəraitində alınmış regenerant bitki yarpaqlarında və intakt bitki nümunələrində IRAP marker metodu ilə müxtəlif retrotranspozonların aşkar edilməsi və Jaccard əmsalı ilə onların polimorfizm dəyərlərinin müqayisəli təhlili;

➤ UPGMA klaster analizi ilə filogenetik ağacın qurulması və nümunələr arasında genetik oxşarlıq əmsalının təyin edilməsi.

Tədqiqat metodları. Tədqiqatın nəzəri hissəsi müasir ədəbiyyat materiallarının geniş və hərtərəfli təhlili əsasında tərtib edilmişdir. Dissertasiya işində biotexnoloji və molekulyar tədqiqat metodlarından istifadə edilmişdir. Alınmış bütün nəticələrin statistik təhlili aparılmışdır.

Dissertasiyanın müdafiəyə təqdim olunan müddəaları:

➤ Bitki toxuma kulturasında genotip, eksplantın ölçüsü, fitohormonların qatılığı, qida mühitinin tərkibi kallusun induksiyasına, proliferasiyasına, morfogenezinə və bitki rekonstruksiyasına birbaşa təsir edir;

➤ Yetişməmiş buğda rüşeymlərinin becərilməsi zamanı selektiv sistemdə artan NaCl duzunun qatılığı ilə kallusun proliferasiya intensivliyi və biokütlənin toplanma dinamikası arasında mənfi korrelyasiya vardır;

➤ Tədqiqat olunmuş buğda genotiplərinin kallus, regenerant və intakt bitkilərdə düyü (Houba), arpa (Sukkula) və soya (Sirel) bitkilərinə xas retrotranspozonlar mövcuddur;

➤ *In vitro* şəraitində becərilən kallus toxumasında, regenerant və intakt bitkilərdə becərilmə müddətindən asılı olaraq retrotranspozonların hərəkətliliyi dəyişir və polimorfizm dəyərlərində statistik əhəmiyyətli fərqlər yaranır;

➤ İnkişaf müddətindən asılı olaraq müxtəlif buğda genotiplərində genetik oxşarlıq əmsalı fərqlidir.

Tədqiqatın elmi yeniliyi: Dissertasiya işi Azərbaycanda *in vitro* şəraitində stressə məruz qalmış müxtəlif yerli buğda sortlarının hüceyrə kulturası, morfogenezi və bitki rekonstruksiyasına kompetentliyinin retrotranspozonların hərəkətliliyi və polimorfizm səviyyəsindən asılılığının öyrənilməsinə həsr olunmuş ilk

tədqiqatdır.

In vitro şəraitində becərilən yerli buğda sortlarında genotip, eksplantın ölçüsü, fitohormonların müxtəlif qatılıqları və kombinasiyalarının kallusun induksiyasına, proliferasiya intensivliyinə və biokütlə artımına təsiri tədqiq edilmişdir.

In vitro şəraitində Bərəkətli-95, Qobustan, Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 buğda genotiplərinin kallusogeneza, morfogeneza və bitki rekonstruksiyasına kompetentliyi təsdiq edilmişdir.

NaCl və CdSO₄ duzlarının müxtəlif qatılıqlarının kallusun proliferasiya intensivliyinə və morfogeneza təsiri öyrənilmişdir.

NaCl duzunun 150 mM qatılığında Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 buğda sortlarının toxuma kulturalarından normal, həyatı funksiyalara və nəsilvermə qabiliyyətinə malik regenerant bitkilər əldə olunmuşdur.

Azərbaycanda ilk dəfə olaraq yerli buğda sortlarında IRAP marker metodundan istifadə edərək, düyü bitkisinə xas Houba, arpa bitkisinə xas Sukkula və soya bitkisinə xas Sire1 retrotranspozonları aşkar edilmişdir.

İlk dəfə IRAP marker metodu ilə NaCl və CdSO₄ duzlarının təsirinə məruz qalmış Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 genotiplərinin kalluslarında, intakt və regenerant bitkilərinin yarpaqlarında, arpa (Sukkula), düyü (Houba) və soya (Sire1) bitkilərinə xas retrotranspozonların hərəkət fəallığı öyrənilmişdir. Elektroforeqramda monomorf və polimorf zolaqlar əsasında Jaccard oxşarlıq əmsalı ilə nümunələrin polimorfizm dəyərləri hesablanmışdır.

İlk dəfə UPGMA klaster analizi ilə Houba, Sukkula və Sire1 praymerləri əsasında Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 buğda genotiplərinin kallus və bitki nümunələrinin filogenetik ağacı qurulmuşdur.

Tədqiqatın nəzəri və praktiki əhəmiyyəti. Təcrid edilmiş bitki hüceyrələrində morfogeneza proseslərinin fitohormonların kombinasiya, nisbət və qatılıqları ilə qarşılıqlı əlaqəli olması təyin edilmişdir.

İlk dəfə olaraq *in vitro* seleksiya zamanı buğda sortları torpaq və

laboratoriya şəraitində hüceyrə, regenerant və donor bitki səviyyəsində genetik stabil və polimorf sortlar kimi Houba, Sukkula və Sirel retrotranspozonlarının hərəkətliliyi əsasında qiymətləndirilmişdir.

Göstərilmişdir ki, buğda genomunun epigenetik yenidən proqramlaşdırılmasına qadir olması, həm hüceyrə, həm morfogeneza, həm də regenerant bitkilərin formalaşması zamanı ətraf mühitin dəyişdiyi şəraitə uyğunlaşmasına, həmçinin ontogeneza proqramlarında dəyişikliklərin yaranmasına səbəb olur.

Dissertasiya işində ilk dəfə olaraq fitohormonal tərkibi dəyişən süni qida mühiti şəraitinin və stres faktorlarının buğda hüceyrə kulturasının epigenomunda dəyişikliklərə səbəb olduğu, buğda sortlarının sabitlik və labillik xassələrinin, yəni bitkilərin növdaxili polivariantlılığının təkcə genetik polimorfizmdən deyil, həm də epigenetik hadisələrdən, o cümlədən ontogeneza zamanı baş verən dəyişikliklərin retrotranspozonların hərəkətliliyindən asılılığı göstərilmişdir.

NaCl duzunun 150 mM qatılığında fizioloji cəhətdən normal, nəsil vermə qabiliyyətinə malik regenerant bitkilərin formalaşması, tədqiq edilmiş buğda sortlarında epigenetik tənzimlənmənin adaptiv yollarından biri kimi təzahür edilmişdir.

Ağır metal olan kadmiumun kallus əmələgəlmə, proliferasiya, morfogeneza kimi əsas fizioloji proseslərə ciddi mənfi təsiri, hüceyrələrin toksiki mühitədə sağ qalması nəminə inkişaf istiqamətinin dəyişdirilməsi və bu qapalı şəraitə adaptasiya olması göstərilmişdir.

Bu dissertasiya işi Azərbaycanın müxtəlif buğda genotiplərinin müxtəlif toxumalarında polimorfizmləri tədqiq edən ilk tədqiqat işidir ki, burada retrotranspozonların somatik hüceyrələrdə hərəkət etdikləri göstərilmişdir.

Aşkar edilmişdir ki, bitkinin müxtəlif hissələrinə təsir edən mikromühitin fərqliliyi nəticəsində retrotranspozonların hərəkətliliyi də fərqli olmuşdur.

Dissertasiya işində ilk dəfə olaraq buğda genotiplərinin filogenetik ağacı qurulmuş və nümunələr arasında genetik oxşarlıq əmsali təyin edilmişdir.

IRAP (İnter-Retrotransposons Amplified Polymorphism) markerlərin istifadəsi ilə buğdanın genetik ehtiyat kolleksiyalarını

qiymətləndirmək və *in vitro* sort və növlərin genetik stabilliyini təsdiq etmək mümkünlüyü təsdiq edilmişdir.

Mikroçoxaldılma zamanı aşkarlanmış normadan kənara çıxmaların və bu cür polimorf sort və növləri müxtəlif məqsədyönlü davamlılıq seleksiya işlərinə ilkin material kimi daxil olunması tövsiyə edilmişdir.

Dissertasiya işinin nəticələri ali məktəblərin biologiya fakültələrində bitki fiziologiyası və biotexnologiya fənnlərinin tədrisinə daxil edilə bilər.

Nəşr, dissertasiyanın aprobasiyası və tətbiqi. Dissertasiyanın materialları əsasında yerli və xarici nəşrlərdə 8 məqalə, 16 tezis olmaqla 24 elmi əsər nəşr olunmuşdur.

Dissertasiya işinin əsas elmi nəticələri “Akademik Vahid Hacıyevin 90 illik yubileyinə həsr edilmiş elmi konfransında (Bakı, 2018), Akademik Cəlal Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş Gənc Tədqiqatçıların elmi-praktiki konfransında (Bakı, 2018), “Zəfər Günü və şəhidlərin xatirəsinə” 2-ci beynəlxalq Qarabağ –Tətbiqi Elmlər konqresində (Bakı, 2022), Biologiyada nailiyyətlər və çətinliklər mövzusunda 11-ci Beynəlxalq konfransında (Bakı, 2022), Müasir təbiət elmlərinin aktual problemləri” mövzusunda Beynəlxalq elmi konfransın materialları (Gəncə, 2023), “Elmin və düşüncənin qeyri-adi inkişafı üsulları” XXVIII Beynəlxalq Elmi-Praktik konfransında (Madrid, 2023), Biotik və Abiotik stres reaksiyaları, Yaddaş və Bitkilərdə Epigenomik Müxtəliflik (Tirana, 2024), “Bitkilərin İqlim Dəyişikliyinə Uyğunlaşmasının Epigenetik Mexanizmləri” IV EPI-CATCH konfransında (Novi Sad, 2024), Avrasiya Biomüxtəlifliyi üzrə VII Simpoziumunda (SEAB) (Ərzurum, 2024), “İnnovativ ekosistemlərin inkişafında universitetlərin rolu” Respublika Elmi-Praktiki konfransında (Gəncə 2024), “Bəşəriyyətin aktual problemləri və onların həlli yolları” XIV beynəlxalq elmi-praktik konfransında (Münih, 2024) həmçinin Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutunun elmi seminarlarında təqdim olunmuş və müzakirə edilmişdir.

Dissertasiya işinin yerinə yetirildiyi təşkilat. Dissertasiya işi Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar

Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutunun Bitki biotexnologiyası laboratoriyasında və Türkiyə Respublikasının İstanbul şəhərində yerləşən Yıldız Texniki Universiteti, Fən fakültəsi, Genetika bölməsinin Bitki Toxuma Kulturası laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

Dissertasiyanın strukturu və həcmi. Dissertasiya işinin ümumi həcmi Giriş, 5 fəsil, yekun, nəticələr, tövsiyələr, istifadə edilmiş ədəbiyyat siyahısı, ixtisarlara siyahısı və əlavələrdən təşkil olunmuşdur. Dissertasiyanın strukturunda giriş 12944 işarədən, birinci fəsil 63 780 işarədən, ikinci fəsil 11468 işarədən, üçüncü fəsil 38 002 işarədən, dördüncü fəsil 15 926 işarədən, beşinci fəsil 34459 işarədən, yekun, nəticələr 9658 işarədən, tövsiyələr 396 işarədən ibarətdir. Dissertasiyanın ümumi həcmi ədəbiyyat siyahısı istisna olunmaqla 186632 işarə təşkil edir.

FƏSİL I ƏDƏBİYYAT İCMALI

Dissertasiyanın 1.1-ci bölməsində buğda bitkisinin bioloji xüsusiyyətləri haqqında, 1.2-ci bölməsində kallus anlayışı və onun əmələgəlmə mexanizmləri, kallus kulturasının səmərəliliyinə təsir edən amillər, eksplantın tipi, fitohormonal tənzimlənmənin kallusun induksiyasına təsiri haqqında, 1.3-cü bölmədə isə kallus kulturasının biotexnologiyada və kənd təsərrüfatında tətbiqi haqqında geniş məlumatlar verilmişdir. Digər bölmələrdə isə NaCl duzu və ağır metal stres amillərinin morfogenez proseslərinə təsiri, həmçinin bitkilərdə epigenetik dəyişiklər və retrotranspozonların epigenetik proseslərdəki rolu ətraflı şəkildə təhlil edilmişdir.

FƏSİL II TƏDQIQATIN MATERIAL VƏ METODLARI

Tədqiqat işində Azərbaycan Respublikası Kənd Təsərrüfatı Nazirliyi Elmi-Tədqiqat Əkinçilik İnstitutunun Əzəmətli-95, Bərəkətli-95, Qobustan, Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 yerli buğda sortlarından istifadə edilmişdir.

Eksplant kimi süd fazasının sonu, mum fazasının əvvəlində buğda dənələrinin 1,3-1,8 mm ölçüdəki yetişməmiş rüşeymlərindən istifadə olunmuşdur.

Kallusun induksiyası üçün aseptik şəraitdə təcrid edilmiş eksplantlar tərkibinə 2,4-D əlavə edilmiş “*M-S qida mühitində*”⁷ əkilmişdilər.

Tədqiqatın növbəti mərhələsində auksin və sitokinin sinfinə aid fitohormonların kallusogeneza, proliferasiya və kallus kütləsinin toplanmasına təsiri öyrənilmişdir.

Bu məqsədə nail olmaq üçün qida mühitinin hormonal tərkibinə görə fərqlənən üç variantı hazırlanmışdır ki, bu da kallusun inkişafına və onun dinamikasına mühitin tərkibindən asılı olaraq təsirini qiymətləndirməyə imkan vermişdir. Fitohormonların müxtəlif qatılıq və kombinasiyalarının kalluslarda morfogeneza prosesinə təsirinin öyrənilməsi məqsədi ilə aşağıdakı variantlardan istifadə edilmişdir:

- I variant: M-S+3 mg/l 2,4-D
- II variant: M-S+2 mq/l 2,4-D + 1 mq/l kinetin
- III variant: M-S+1 mq/l İST + 0,5 mq/l kinetin
- IV variant: M-S+0,5 mq/l NST + 1 mq/l BAP

İki subkultivasiya müddətində kifayət qədər biokütlə əldə edildikdən sonra kallus kulturası 100 mM, 150 mM, 200 mM və 250 mM qatılıqlı NaCl duzu olan selektiv qida mühitlərinə keçirilmişdir. Kallus kulturası qaranlıq şəraitində saxlanılmışdır.

Ağır metalların kallusun proliferasiyasına təsirinin öyrənilməsi məqsədi ilə iki subkultivasiyadan sonra kifayət qədər toplanan kallus kütləsi CdSO₄ duzu (10 mq və 20 mq) əlavə edilmiş yeni qida mühitinə keçirilmişdir.

Regenerant bitkilərin kök sistəmlərini induksiya etmək üçün İST (indol sirkə turşusu) istifadə olunmuşdur. Kultivasiya 16/8 saat fotoperiodda, 2000-4000 lyuksda, 70 % rütubətdə, 24-26°C temperaturda süni iqlim şəraitində aparılmışdır. Regenerant bitkilər

⁷ Murashige T, Skoog F (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3):473-497.

torpaq mühitinə adaptasiya olunmuş və molekulyar analizlər üçün yarpaq nümunələri toplanmışdır.

Molekulyar analizlər retrotranspozonlara spesifik *Sukkula*, *Houba* və *Sire1* praymerləri ilə “*IRAP-PCR metodun*”⁸ istifadəsilə aparılmışdır. Tədqiqatlarda aşağıdakı ardıcılıqlara malik praymerlərdən istifadə olunmuşdur:

Sukkula “ GGAACGTCG GCATCGGGCTG ”

Houba-F “ CTTGAGTGGGCTAAGGCC ”

Houba-R “ GTTTCGACCAAGCAGCCGGTC ”

Sire1 “ CAGTTATGCAAGTGGGATCAGCA ”

Nümunələr arasındakı “*genetik oxşarlıq PAST proqramı vasitəsilə UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) klasterləşmə metodu*”⁹ ilə filogenetik olaraq qiymətləndirilmişdir.

Retrotranspozon aktivliyinə əsaslanan polimorfizm göstəriciləri Jaccard əmsalı ilə statistik olaraq hesablanmış və nəticələr üç bioloji təkrarda, intakt bitkilərlə müqayisəli şəkildə təhlil edilmişdir.

FƏSİL III

BUĞDA KALLUSUNUN ƏMƏLƏGƏLMƏSİNƏ

TƏSİR EDƏN AMİLLƏR

3.1. Buğda kallusunun əmələgəlməsinə eksplant ölçüsünün təsiri

Kallus kulturasının alınması üçün eksplant kimi süd fazasının sonu mum fazasının əvvəlində götürülən buğda dənlərinin yetişməmiş rüşeymlərinin müxtəlif ölçülərindən (0,6-0,8 mm, 1,3-1,8 mm və 2,2-2,5 mm) istifadə edilmişdir.

Nəticələr göstərmişdir ki, kiçik ölçülü rüşeymlər daha yüksək metabolik aktivliyə və plastiklik xüsusiyyətlərinə malik olsalar da, onlarda kallus əmələ gəlmə kompetentliyi zəif olmuşdur.

⁸ Kidwell K. K., Osborn T. C. Simple plant DNA isolation procedures. Plant Genomes: Methods for Genetic and Physical Mapping, 1, 1992.

⁹ Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica, 4, 9 p

Cədvəldən göründüyü kimi ən effektiv nəticələr orta ölçülü rüşeymlərdən alınmışdır (Cədvəl 1).

Cədvəl 1.

**Müxtəlif ölçülü eksplantlarda kallusun induksiyası
(inokulyasiya olunan rüşeymin sayı, %-lə)**

Sortlar	Eksplantın ölçüsü									
	I subkultivasiya					II subkultivasiya				
	0,6-0,8 mm	1,3-1,8 mm	2,2-2,5 mm	0,6-0,8 mm	1,3-1,8 mm	2,2-2,5 mm	0,6-0,8 mm	1,3-1,8 mm	2,2-2,5 mm	0,6-0,8 mm
Əzəmətli-95	46%	88%	60%	68%	89%	71%	69%	93%	63%	
Bərəkətli-95	58%	97%	55%	63%	99%	55%	63%	99%	63%	
Qobustan	42%	70%	45%	54%	87%	47%	54%	92%	51%	
Cümhuriyyət-100	23%	65%	40%	48%	78%	52%	48%	78%	57%	
Qırmızı buğda	49%	92%	50%	56%	95%	54%	56%	95%	54%	
Nurlu-99	49%	89%	45%	58%	89%	60%	58%	89%	60%	

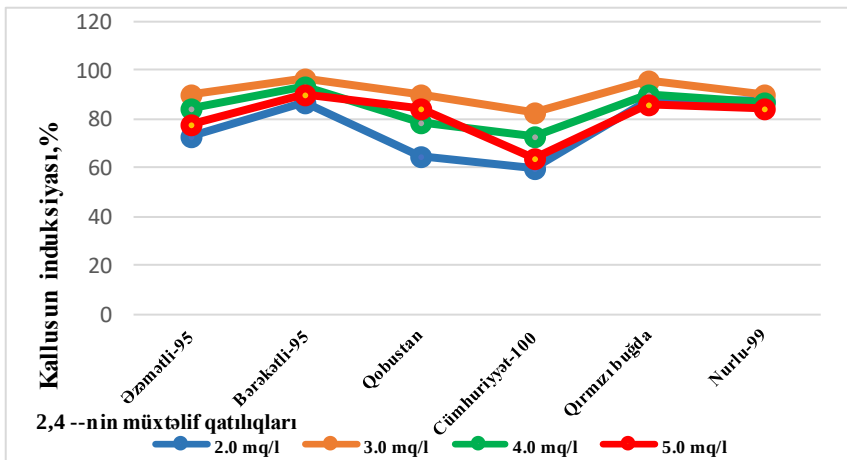
Orta ölçülü eksplantlardan istifadə edərək kallus kütləsinin əldə edilməsinin müvəffəqiyyəti bu rüşeymlərin fizioloji və biokimyəvi xüsusiyyətləri ilə bağlıdır. Bu mərhələdə rüşeymin hüceyrələrində totipotentliyin realizə olunması və fitohormonların, xüsusən də 2,4-D kimi auksinlərin təsirinə cavab reaksiyası aktiv vəziyyətdədir. Məhz bu xüsusiyyət hüceyrələrə diferensiasiyaya girmədən aktiv şəkildə bölünməyə imkan verir ki, bu da kallus toxumasının formalaşmasını və kütləsinin artmasını təmin edən şərtlərdən biridir.

Qida mühitinə keçirilmiş böyük ölçülü eksplantlarda digər ölçülərdə olan eksplantlarla müqayisədə birbaşa cücərmə hallarına daha çox rast gəlinmişdir. Həmçinin yetişməmiş rüşeymlərin cücərmə sürəti onların ölçüsü artdıqca mütənasib şəkildə artmışdır.

Böyük ölçülü rüşeymlərdə isə diferensasiyaya meyillik güclü olduğundan kallus əmələgəlmə prosesi olduqca zəif olmuşdur.

3.2. Buğda eksplantlarında kallusun əmələgəlməsinə fitohormonların təsiri

Tədqiqatın növbəti mərhələsində 2,4-D fitohormonunun 2mq/l, 3mq/l, 4 mq/l və 5 mq/l qatılıqlarının buğda eksplantlarında kallusun induksiyasına təsiri öyrənilmişdir (Şəkil 1).



Şəkil 1. 2,4-D-nin müxtəlif qatılıqlarının kallusun induksiyasına təsiri

Ən optimal qatılıq 3 mq/l olmuşdur. Bu qatılıqda homogen strukturlu və canlı hüceyrələrə malik kallus kütləsi əldə olunmuşdur. 2 mq/l qatılıqda kallusun formalaşması zəif getmiş, 4 mq/l və 5 mq/l qatılıqlarda isə kallusun morfolojiyasında mənfi dəyişikliklər baş vermişdir.

2,4-D-dən əlavə digər fitohormon və onların müxtəlif kombinasiyalarının kallusogenez prosesinə təsiri öyrənilmişdir (Cədvəl 2).

Ən yüksək kallus biokütləsi və proliferasiya intensivliyi 3 mq/l 2,4-D tərkibli (I variant) qida mühitində müşahidə olunmuşdur. Sitokininlər - kinetin və BAP bəzi hallarda proliferasiya prosesini zəiflətməmiş, lakin morfogen qabiliyyətin yüksəlməsinə töhfə vermişdir.

İST və NST tərkibli mühitlərdə kallusogenez prosesi daha zəif getmiş, lakin III və IV variantlarda müəyyən genotiplərdə morfogen kallusların əmələ gəlməsi qeydə alınmışdır.

Cədvəl 2

Müxtəlif fitohormon kombinasiyalarının kallus biokütləsinin yaş çəkisinə təsiri (q)

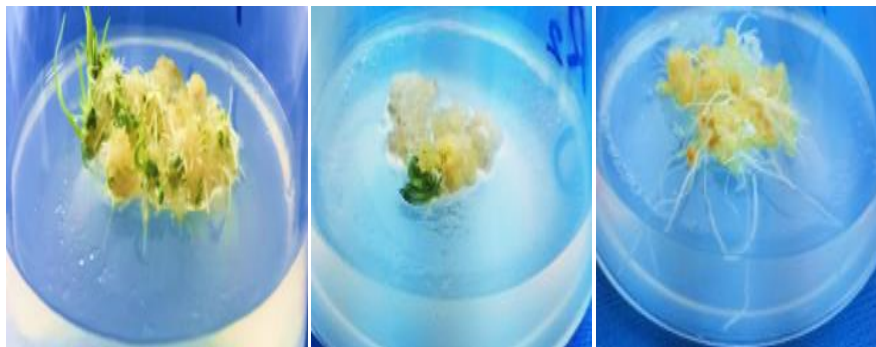
Genotip	2,4 D (3 mq L ⁻¹)		2,4 D (2 mq L ⁻¹) + Kinetin (1mq L ⁻¹)		İST (1 mq L ⁻¹) + Kinetin (0,5 mq L ⁻¹)		NST (0,5 mq L ⁻¹) + BAP (1 mq L ⁻¹)	
	Subkultivasiya							
	II	III	II	III	II	III	II	III
Əzəmətli-95	4.80 ± 0,03	7.20 ± 0,03	3,81 ± 0,02	5,72 ± 0,03	2,80 ± 0,03	3,53 ± 0,04	3,12 ± 0,02	4,93 ± 0,03
Bərəkətli-95	5.61 ± 0,01	9.43 ± 0,01	5,00 ± 0,03	7,80 ± 0,03	3,33 ± 0,02	5,03 ± 0,02	3,83 ± 0,03	6,14 ± 0,01
Qobustan	4.13 ± 0,03	7.32 ± 0,02	3,42 ± 0,02	5,63 ± 0,03	2,94 ± 0,04	4,04 ± 0,03	3,71 ± 0,01	5.63 ± 0,02
Cümhuriyyət-100	3.03 ± 0,03	5.52 ± 0,01	2,70 ± 0,04	4,53 ± 0,04	2,01 ± 0,03	3,03 ± 0,04	2,80 ± 0,03	3.44 ± 0,02
Qırmızı buğda	6.02 ± 0,03	8.90 ± 0,04	5,84 ± 0,01	7,84 ± 0,02	4,23 ± 0,03	5,44 ± 0,02	5,61 ± 0,02	7,14 ± 0,01
Nurlu-99	5.92 ± 0,03	7.31 ± 0,03	4.21 ± 0,02	5.32 ± 0,04	3,23 ± 0,02	4.13 ± 0,04	3,94 ± 0,03	4,93 ± 0,01

Bərəkətli-95 və Qırmızı buğda genotipləri sınaqdan keçirilən bütün qida mühiti variantlarında kallusun induksiyası, proliferasiya intensivliyi və biokütləsinin toplanma dinamikasına görə digər genotiplərdən fərqlənmişdir. Xüsusilə 2,4-D (3 mg/L) sınaq variantının III subkultivasiya mərhələsində ən yüksək nəticələr əldə edilmişdir - 9.43 q).

3.3. Buğda kallusunun əmələgəlməsinə genotipin təsiri

Tədqiq edilmiş sortlardan ən yüksək kallus induksiya tezliyi Bərəkətli-95 və Qırmızı buğda genotiplərinə xas olmuşdur. 2,4-D fitohormonunun 3 mq/l qatılığı biokütlənin artımına ən yaxşı

təsir etmişdir. Bəzi genotiplərdə kallus proliferasiyası yüksək olsa da, morfogenезin zəif getdiyi müşahidə olunmuşdur (məsələn, Əzəmətli-95). Morfogen kalluslarda meristematik sahələr formalaşmışdır (Şəkil 2).



Şəkil 2. Nurlu-99 genotipinin kallus kulturasında morfogenез hadisələri: hemmorizogenез, hemmagenez və rizogenез

Qırmızı buğda və Nurlu-99 genotipləri yüksək morfogen potensial göstərmişdir. Cümhuriyyət-100 sortunda proses gec başlasa da 10 gün sonra 0,5-0,8 sm ölçüdə olan və aydın seçilən embrioidlər əmələ gəlmiş, formalaşmış regenerantlar isə sağlam inkişaf etmişdir.

Yuxarıda qeyd edildiyi kimi, Əzəmətli-95 genotipinə məxsus kallus kulturası intensiv proliferasiya qabiliyyətinə malik olsa da, morfogenetik potensialı son dərəcə zəif olmuşdur. Proliferasiya və morfogenезin bu cür dissosiasiyası hüceyrə səviyyəsində differensiasiya proqramlarının reallaşmasında genotipə xas məhdudiyyətlərin mövcudluğunu göstərir. Bunun əksinə olaraq, Qobustan sortu zəif kallus induksiya qabiliyyəti nümayiş etdirməsinə baxmayaraq, uzunmüddətli *in vitro* kultivasiya zamanı morfogenetik potensialını qoruyub saxlaya bilmişdir. Bu isə hüceyrə bölünməsi aktivliyi ilə birbaşa əlaqəli olmayan differensiallaşma yollarının stabilləşməsini təmin edən mexanizmlərin mövcudluğuna işarə edə bilər.

Aparılmış müşahidələr sübut edir ki, müxtəlif buğda genotiplərində morfogenезin genetik və fizioloji-biokimyəvi

tənzimlənməsi fərqli yollarla həyata keçirilir və bu, həm n v  genlərinin, həm də epigenetik faktorların müxtəlif səviyyədə iştirakını ehtiva edir. T dqiqlar nəticəsində əldə olunan regenerant bitkilər sübut edir ki, kallus əmələgəlməsi məhdud olsa belə, müvafiq genotipik fond v  kultivasiya  raitinin optimallaşdırılması  raitində morfogenetik proqramın b rpa ı mümkündür.

Bec rilm nin növbəti mərhələsi kifayət qədər güclü köklərə malik regenerantların s ni torpaq substratına k   r lm sidir. Regenerant bitkilərin adaptasiyası otaq temperaturunda 2-3 həftə ərzində həyata ke irilm  dir. Köklərin s ni torpaq mühitində möhkəmlənməsi üçün torpağa 0,5 mq/l ÜST məhlulu əlavə edilm  dir. S ni substratda adaptasiya olunan regenerant bitkilər sonrakı inkişafı üçün təbii əkin sahəsinə ke irilm  dir. Bu zaman onların ölçüsü 12-15 sm arasında olmuşdur. 3 ay müddətində regenerant bitkilərdə əhəmiyyətli dərəcədə artım müşahidə edilm  dir. T dqiqlatın son mərhələsində torpaqda möhkəmlənmə v  k kverm  prosesi uğurla həyata keçmişdir (  kil 3).



Şəkil 3. Regenerant bitkilərin əkin sahəsinə köçürülməsi

FƏSİL IV

ABIOTİK STRES AMİLLƏRİNİN BUĞDA KALLUSUNUN ƏMƏLƏGƏLMƏSİNƏ TƏSİRİ

4.1 Duz stresinin buğda kallusunun inkişafına təsiri

Kallus kulturasında stres şəraitinin yaradılması üçün qida mühitinə 100 mM, 150 mM, 200 mM və 250 mM NaCl duzu əlavə edilmişdir.

II Subkultivasiyanın sonunda hər bir genotip nümunəsindən 2 q kallus kütləsi götürülərək yeni selektiv qida mühitinə keçirilmiş və III subkultivasiyanın sonunda biokütlə artımı qiymətləndirilmişdir (Cədvəl 3).

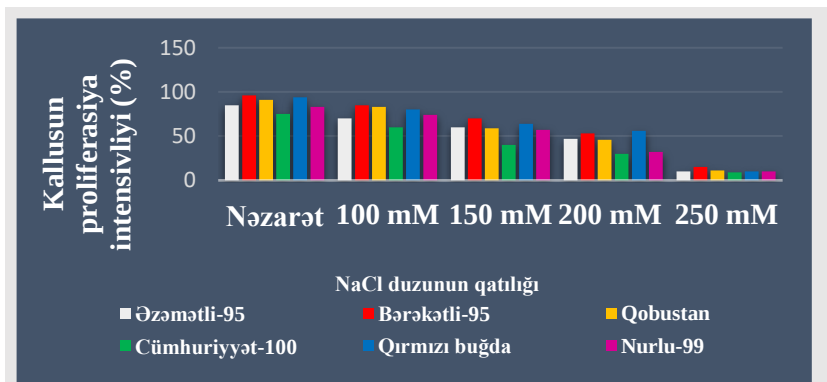
Cədvəl 3.

III Subkultivasiyanın sonunda kallus biokütləsinin artımı (q)

Genotip	Nəzarət	100 mM NaCl	150 mM NaCl	200 mM NaCl	250 mM NaCl
Əzəmətli-95	4.80±0,03	3.82±0,03	3.33±0,02	2.64±0,04	1.12±0,03
Bərəkətli-95	5.41±0,01	4.51±0,02	4.01±0,01	3.02±0,02	1.43±0,04
Qobustan	5.01±0,02	4.20±0,04	3.23±0,03	2.53±0,03	1.21±0,04
Cümhuriyyət-100	3.91±0,01	3.23±0,03	2.54±0,04	2.24±0,03	1.01±0,01
Qırmızı buğda	5.33±0,04	4.24±0,01	3.51±0,03	3.11±0,02	1.13±0,01
Nurlu-99	4.52±0,03	4.02±0,03	3.40±0,02	2.41±0,04	1.15±0,02

Cədvəldən göründüyü kimi NaCl duzunun bütün qatılıqlarında ən yaxşı nəticəni Bərəkətli-95, Qırmızı buğda və Qobustan genotipləri göstərmişdir.

Tədqiqat zamanı NaCl duzunun 150 mM və 200 mM qatılıqlarında kallus kütləsinin artımı 100 mM qatılıq ilə müqayisədə az olmuşdur (Şəkil 4).



Şəkil 4. III subkultivasiyanın sonunda kallus kütləsinin artımı. %-lə.

NaCl duzunun 100 mM qatılığında kallus biokütləsinin artımında ən yüksək nəticəni Qırmızı buğda və Bərəkətli-95 genotipləri, ən zəif nəticəni isə Cümhuriyyət-100 genotipi göstərmişdir.

NaCl duzunun 150 mM qatılığında Bərəkətli-95 və Qırmızı buğda bərk buğda genotiplərinin stressorun təsirinə müsbət cavabları qeydə alınmış, kallus biokütləsinin artımı müşahidə edilmişdir. Bu göstəriciyə görə ən zəif nəticə Cümhuriyyət-100 genotipində qeyd olunmuşdur.

200 mM qatılıqda buğda genotiplərində kallusun artımı zəif getmiş və nəticədə çox zəif morfogen sahələr formalaşmışdır.

Selektiv agentin 250 mM qatılıqlı subletal dozası ilə aparılan subkultivasiya zamanı kallusun becərilməsi bütün genotiplərdə nekrozla nəticələnmişdir.

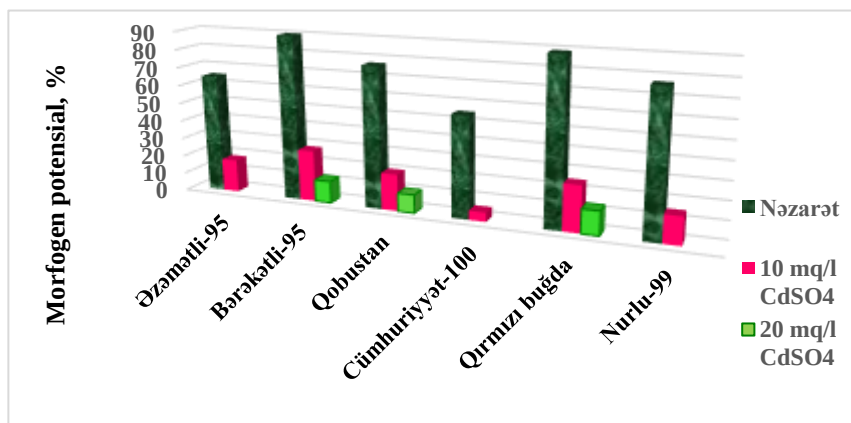
Yalnız 150 mM NaCl qatılığında Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 buğda genotiplərində kalluslarda morfogen sahələrin əmələ gəlməsi, onların regenerasiya qabiliyyətini qoruduğunu və seleksiya proqramlarında potensial donor materialı kimi istifadə oluna bilər.

4.2. Ağır metal stresinin buğda kallusunun inkişafına təsiri

Kadmiumun (Cd^{2+}), buğda kallus kulturasının inkişafına təsiri tədqiqatda sistemli şəkildə öyrənilmişdir. $CdSO_4$ duzunun 10 mq/l

və 20 mq/l qatılıqları ilə aparılan eksperimentlər göstərmişdir ki, eksplantların birbaşa kadmium ehtiva edən mühitə yerləşdirilməsi nəticəsində kallus əmələ gəlməmişdir. İki stressiz subkultivasiyadan sonra kallusların CdSO₄ ehtiva edən qida mühitinə köçürülməsi zamanı proliferasiya müşahidə olunmuşdur. 10 mq/l qatılıqda bəzi genotiplərdə, o cümlədən Bərəkətli-95 və Qırmızı buğda, amorf və sulu kallusların formalaşmasına baxmayaraq, hüceyrə ölümü müşahidə edilməmişdir. 20 mq/l qatılıqda isə kallus toxumasının strukturu daha kompakt və xırdalanmış olmuşdur.

Selektiv agentin 10 mq/l və 20 mq/l qatılıqlarda ən yaxşı nəticələr Bərəkətli-95, Qırmızı buğda və Qobustan, aralıq nəticə Nurlu -99 və ən zəif proliferasiya Cümhuriyyət-100 genotiplərində müşahidə edilmişdir (Şəkil 5).



Şəkil 5. Genotiptən asılı olaraq CdSO₄ duzunun kallusun morfogenetik potensialına təsiri.

1-ci variant üzrə Nurlu-99, Bərəkətli-95 və Qırmızı buğda genotiplərindən əldə edilən kallus kulturası morfogenезin induksiyası və bitki regenerasiyası üçün müvafiq qida mühitinə keçirilmişdir. Yalnız Bərəkətli-95 genotipinin kallus toxumasında morfogenez zonalar qeydə alınmış, işıq rejimində üstünlük təşkil edən yaşıl pigmentli zonalar və embrionabənzər törəmələr müşahidə edilmişdir. Uzunmüddətli becərilmə aparılsa da, bitkilər əldə edilməmişdir.

FƏSİL V

***IN VIVO* VƏ *IN VITRO* ŞƏRAİTİNDƏ BUĞDA BİTKİSİNDƏ EPİGENETİK DƏYİŞİKLİKLƏRİN ÖYRƏNİLMƏSİ**

5.1. *In vivo* və *in vitro* şəraitində NaCl duz stresinin Houba, Sukkula və Sirel retrotranspozonlarının hərəkətliliyinə təsiri

150 mM və 200 mM NaCl duz stresinin təsirindən xüsusilə kallus nümunələrində yüksək səviyyədə Houba retrotranspozonlarının aktivliyi müşahidə olunmuşdur (86-100%).

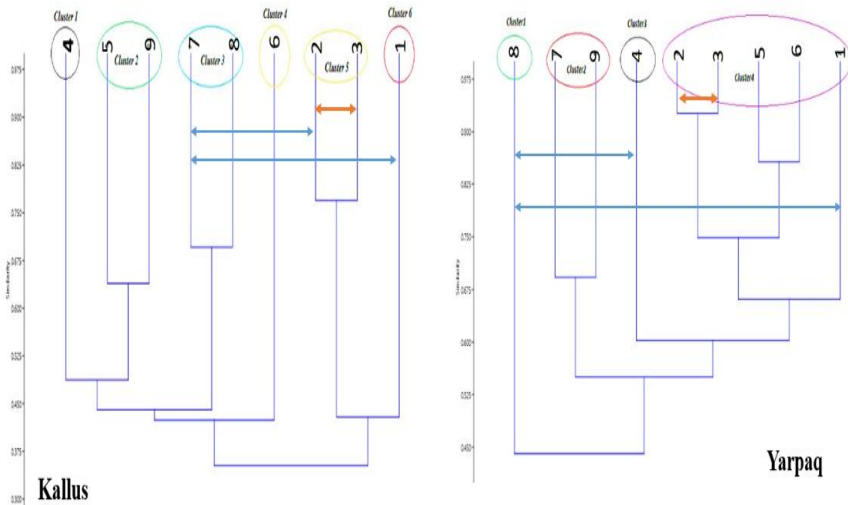
Cümhuriyyət-100 genotipi kallus mərhələsində yüksək polimorfizm göstərsə də, ana bitkinin yarpaq nümunələrində polimorfizm səviyyəsi aşağı olmuşdur (33-50%).

Nurlu-99 və Qırmızı buğda genotiplərində kallus və yarpaq nümunələrində Sukkula retrotranspozonunda yüksək aktivlik səviyyəsi müşahidə olunmuşdur. Cümhuriyyət-100 genotipində isə polimorfizm əsasən 15-ci gündə (0-67%) daha çox kallusda müşahidə olunmuş, 30-cu gündə isə ümumiyyətlə polimorfizm qeydə alınmamışdır (0%).

Sirel retrotranspozonu da Qırmızı buğda və Nurlu-99 genotiplərinin kallus və yarpaq nümunələrində yüksək aktivliyə malik olmuşdur. Cümhuriyyət-100 genotipində isə kallusda polimorfizm daha məhdud olmuş, lakin yarpaq nümunələrində genetik müxtəliflik daha geniş diapazonda qeydə alınmışdır (83-100%).

In vitro şəraitində 150 mM və 200 mM NaCl stresinə məruz qalan kallus və yarpaq nümunələri Jaccard oxşarlıq əmsalına əsasən fərqli genetik klasterlərdə qruplaşdırılmışdır (Şəkil 6).

Ən yüksək polimorfizm və oxşarlıq fərqləri kallus nümunələri arasında müşahidə olunmuşdur. Beləliklə, retrotranspozon aktivliyinin duz stresinə qarşı genetik cavabın formalaşmasında mühüm rol oynadığı göstərilmişdir.



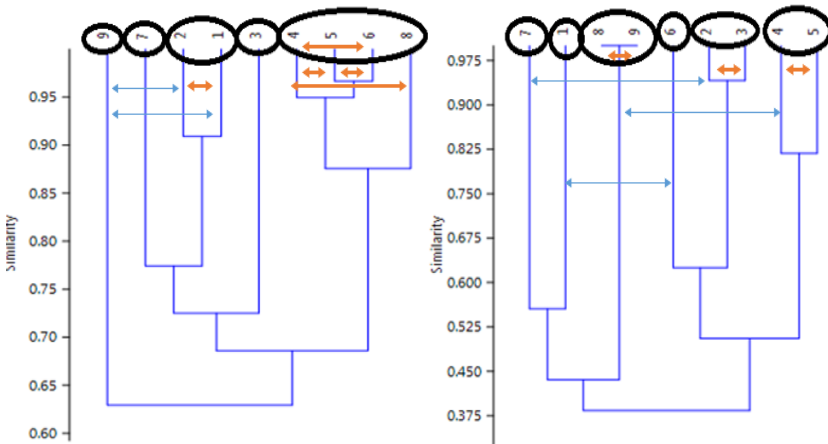
Şəkil 6. UPGMA klaster ağacı analizi əsasında *Houba*, *Sukkula* və *Sire1* praymerləri ilə yaradılan *in vitro* kallus və yarpaq nümunələri arasında əlaqəni göstərən dendroqram.
Cümhuriyyət-100 (1-nəzarət, 2-150mM NaCl, 3- 200mM NaCl);
Qırmızı buğda (4- nəzarət, 5-150mM NaCl, 6- 200mM NaCl);
Nurlu-99 (7- nəzarət, 8-150mM NaCl, 9- 200mM NaCl)

5.2. *İn vivo* və *in vitro* şəraitində CdSO_4 duz stresinin *Houba*, *Sukkula* və *Sire1* retrotranspozonlarının hərəkətliliyinə təsiri

CdSO_4 stresinin təsiri altında *Houba* retrotranspozonlarının aktivliyi əsasən kallus nümunələrində müşahidə olunmuş, intakt yarpaqlarda isə polimorfizm qeydə alınmamışdır.

Ağır metal stresinə qarşı *Sukkula* retrotranspozonunun aktivliyi genotipə, toxuma növünə və stres müddətinə görə fərqlənmişdir. Cümhuriyyət-100 genotipinin kallus və yarpaq nümunələrində yüksək aktivlik göstərmiş, Nurlu-99-da isə xüsusi ilə 30-cu gündə *Sukkula* retrotranspozonunun hərəkətliliyi əhəmiyyətli dərəcədə artmışdır. Qırmızı buğdada isə *Sukkula*

retrotranspozonunun aktivliyi əsasən sonrakı mərhələlərdə və kadmiumun yüksək qatılığında artmışdır.



Şəkil 7. UPGMA klaster ağacı analizi əsasında kallus (solda) və yarpaq (sağda) nümunələrində retrotranspozonlar əsasında yaradılan dendroqram. Cümhuriyyət-100 (1-nəzarət, 2- 10 mq/l CdSO₄, 3-20 mq/l CdSO₄), Qırmızı buğda (4-nəzarət, 5- 10 mq/l CdSO₄, 6-20 mq/l CdSO₄), Nurlu-99 (7-nəzarət, 8- 10 mq/l CdSO₄, 9-20 mq/l CdSO₄).

Sire1 retrotranspozonu üzrə polimorfizm yalnız yarpaq nümunələrində müşahidə olunmuş, kallus nümunələrində isə heç bir aktivlik qeydə alınmamışdır. Ən yüksək aktivlik göstəriciləri Cümhuriyyət-100 və Nurlu-99 genotiplərində 30-cu gündə müşahidə olunmuşdur.

Filogenetik analizlər zamanı eyni buğda genotiplərinə aid nümunələr ən yüksək genetik oxşarlıq əmsalına malik olaraq eyni və ya yaxın klasterlərdə qruplaşmışdır (Şəkil 7).

Ən yüksək oxşarlıq Nurlu-99 və Cümhuriyyət-100 buğda genotiplərinin kallus nümunələri, eləcə də Qırmızı buğdanın yarpaq nümunələri arasında müşahidə olunmuşdur. Ən aşağı oxşarlıq əmsalı isə fərqli genotiplər arasında qeydə alınaraq onların genetik uzaqlığını təsdiqləmişdir.

5.3. Regenerant bitkilərdə retrotranspozonların hərəkətliliyi

Jaccard oxşarlıq əmsalı əsasında aparılan analizlərdə retrotranspozonların aktivliyi və genetik müxtəlifliyi zamanla dəyişmişdir.

15-ci günündə Houba retrotranspozonlarının ən yüksək aktivliyi Qırmızı buğda və Nurlu-99 buğda kalluslarında müşahidə edilmiş, lakin Cümhuriyyət-100 kallusunda polimorfizm qeydə alınmamışdır. Regenerant bitkilərdə də təcrübənin 30-cu günündə heç bir aktivlik qeydə alınmamışdır.

15-ci gündə Sukkula retrotranspozonlarının aktivliyi ən yüksək Qırmızı buğda genotipində (0-67%) müşahidə edilmiş, Nurlu-99-da 0-56% aralığında olmuş, Cümhuriyyət-100-də isə 0-20% aralığında polimorfizm dəyəri qeyd olunmuşdur. 30-cu gündə Nurlu-99-da ən yüksək polimorfizm göstəriciləri (0-70%) müşahidə edilmiş, Cümhuriyyət-100 və Qırmızı buğdada isə daha aşağı səviyyələr qeydə alınmışdır.

Sire1 retrotranspozonlarının 15-ci gününün nəticələrinə görə, Qırmızı buğda və Nurlu-99 genotiplərində ən yüksək aktivlik (0-50%) göstərmiş, Cümhuriyyət-100-də isə hərəkətlilik qeydə alınmamışdır.

30-cu gündə isə Nurlu-99 sortunda Sire1 retrotranspozonları ən yüksək aktivlik (0-73%) göstərmiş, Cümhuriyyət-100-də isə ən aşağı nəticə (0-13%) qeydə alınmışdır.

Nurlu-99 genotipinin kallus nümunələrində isə Sire1 retrotranspozonu daha yüksək hərəkətlilik (0-83%) nümayiş etdirmişdir. Regenerantlarda polimorfizm göstəriciləri ən yüksək Nurlu-99-da (0-58%), ən aşağı isə Cümhuriyyət-100-də (0-9%) qeydə alınmışdır.

Şəkildən görüldüyü kimi, buğda genotiplərinin nəzarət, kallus və regenerant bitki nümunələri Jaccard oxşarlıq əmsalı əsasında 6 əsas klasterdə qruplaşdırılmışdır (Şəkil 8). 1, 4, 5 və 6-cı klasterlərdə tək-tək yerləşən nümunələr, hər birinin genetik baxımdan digər nümunələrdən fərqli olduğunu göstərmişdir.

Bundan əlavə, süni qida mühitində fitohormon balansının morfogenezə təsiri və stres amillərinin epigenetik tənzimləmədə oynadığı rolu əhatəli şəkildə araşdırılmışdır. Qobustan sortunun kallus kulturasında müşahidə olunan genetik və fizioloji xüsusiyyətləri bu genotipin yüksək morfogenez potensialına malik olduğunu və regenerant bitkilərin əldə olunmasında donor kimi istifadəsinə imkan verir. Tədqiqat nəticələri, *in vitro* seleksiya və mikroçoxaldılma proseslərində genetik sabilliyin etibarlı şəkildə qiymətləndirilməsi üçün güclü platforma yaradır. Eyni zamanda, retrotranspozonların genetik markerlər kimi tətbiqi seleksiyaya daxil ediləcək nümunələrin operativ və səmərəli identifikasiyasını təmin edir.

Bu elmi işin nəticələri təkcə kənd təsərrüfatı seleksiyası üçün deyil, həm də ali məktəblərin biotexnologiya və bitki fiziologiyası kimi fənlərinin tədrisində zəngin və aktual mənbə kimi istifadə edilə bilər.

NƏTİCƏLƏR

1. Kallus əmələgəlmə proseslərinin müqayisəli təhlili göstərmişdir ki, eksplant kimi götürülmüş rüşeymin optimal ölçüsü 1,3-1,8 mm olmuşdur. Bu halda hüceyrələr yüksək metabolik aktivlik, plastiklik, aktiv bölünmə qabiliyyətinə malik olur və ən effektiv morfogen kallus formalaşmasını təmin edir. Kiçik rüşeymlər regenerasiya potensialına müəyyən qədər malik olsalar da, fizioloji cəhətdən inkişaflarında məhdudurlar. Böyük rüşeymlər isə nisbi avtonomluq səviyyəsinə çataraq, nə fitohormonal, nə də mühitin digər fizioloji amillərindən asılılığı olmadan *in vitro* şəraitində kallusun əmələ gəlməsinə baxmayaraq birbaşa cücərib hər cəhətdən normal bitkiyə başlanğıc verə bilər [1, 4, 7, 13, 23].

2. Bərəkətli-95 və Əzəmətli-95 genotipləri yüksək tezlikli kallus induksiyası nümayiş etdirmişdilər, lakin morfogenez və regenerasiya qabiliyyətinə görə sortlar əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənirdilər. Bu da fenotipik əlamətləri idarə edən genetik və fizioloji mexanizmlərin mövcudluğundan xəbər verir. Ehtimal

olunur ki, *in vitro* kulturada kompetent hüceyrələrin yaranması və regenerasiya qabiliyyətində müşahidə olunan fərqlər hüceyrələrin proliferasiyasını və diferensiasiyasını tənzimləyən əsas genlərin aktiv ekspressiyasına təsir göstərən genetik determinasiyası ilə əlaqədardır [1, 4, 5, 14, 19, 21, 22, 24].

3. Qobustan genotipinin aşağı tezliklə kallus əmələgətirməsi və uzunmüddətli subkultivasiyalarda (6 ay) yüksək morfogenetik potensialını qoruyub saxlaması onun genetik və fizioloji cəhətdən *in vitro* kultivasiya şəraitinə dayanıqlı olmasını göstərir. “Genotip” amili *in vitro* şəraitdə morfogon kallusun inkişafı mərhələsinə maksimal təkan verməklə, prosesi axıra qədər nəzarət altında saxlayır, bu da hüceyrə kulturalarının və regenerant bitkilərin formalaşmasına əhəmiyyətli dərəcədə təsir göstərir. Qobustan kallus kulturasının genetik və fizioloji parametrlərinin unikallığı bu sortun hüceyrə seleksiyası proqramlarında regenerant bitkilərin kütləvi istehsalında, eləcə də yüksək morfogeneza əlamətinin donoru kimi istifadə oluna bilər [2, 3, 4, 19].

4. Yetişməmiş buğda rüşeymlərinin becərilməsi zamanı selektiv sistemdə artan NaCl qatılığının proliferasiya intensivliyi və kallus biokütləsinin toplanma dinamikası arasında mənfi korrelyasiya müəyyən edilmişdir. Həm nəzarət, həm də selektiv şəraitdə morfogeneza və regenerasiya prosesləri arasında birbaşa əlaqənin olmadığı sübut edilmişdir. Modelləşdirilmiş şoranlıq şəraitində NaCl duzunun 150 mM qatılığında bitki rekonstruksiyasına qadir yalnız Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 sortlarının kallus kulturaları olmuşdur. Bu da, kallus kütlələrində totipotentliyini qoruyub saxlayan kompetent hüceyrələrin mövcudluğu ilə izah oluna bilər [4, 12, 18, 20].

5. Stres faktoru kimi CdSO₄ istifadəsi zamanı buğda kallus toxumasının inkişafının ümumi qanunauyğunluqları müəyyən edilmişdir. Morfogenezin intensivliyi ilə selektiv gərginlik arasında əlaqənin qeyri-xətti xarakteri göstərilmişdir. CdSO₄ duzunun 10 mq/l qatılığında morfogon kallusun ümumi kütlədəki payı 5-28%, 20 mq/l qatılıqda isə 0-13% arasında olmuşdur. Müəyyən edilmişdir ki, 20mq/l qatılıqlı selektiv mühitdə Cümhuriyyət-100, Nurlu-99 və Əzəmətli-95 genotiplərinin kallus toxuması morfogenetik

qabiliyyətini tamamilə itirmişdir [10, 12, 16].

6. Azərbaycanda ilk dəfə olaraq Cümhuriyyət-100, Qırmızı buğda və Nurlu-99 yerli buğda sortlarında, *IRAP* marker metodu ilə düyü bitkisinə xas *Houba*, arpa bitkisinə xas *Sukkula* və soya bitkisinə xas *Sire1* retrotranspozonları aşkar edilmişdir. Bu tapıntılar, yerli buğda sortlarının genetik müxtəlifliyinin və müxtəlif bitki növləri ilə qarşılıqlı təsirlərinin öyrənməsində mühüm rol oynaya bilər. Qeyd edilmiş retrotranspozonların müvafiq bitki növlərində aşkar edilməsi, bu növlərin genetik tərkibində müxtəlif keçid hadisələrinin (HT- horizontal transfer) baş verdiyini və müxtəlif bitki növlərinin genetik məlumatlarının birləşdiyini göstərir. Bu hadisəni mobil elementlərin buğdanın əhlilləşdirilməsi zamanı bitkinin təkamülündə genom ardıcılığına daxil ola biləcəyi fikri ilə izah etmək olar [6, 8, 9, 11, 17, 20].

7. İlk dəfə olaraq *IRAP* marker metodundan istifadə etməklə buğda bitkisinə duz stresinin təsiri altında kallus və yarpaqlarda arpa (*Sukkula*), düyü (*Houba*) və soya (*Sire1*) retrotranspozonlarının hərəkət fəallığı öyrənilmişdir. Retrotranspozonların fəallaşması bitkinin abiotik streslərə qarşı adaptasiya səviyyəsini göstərən epigenetik dəyişikliklərə səbəb olmuşdur. *In vivo* ilə müqayisədə *in vitro* şərait retrotranspozonların fəaliyyətini gücləndirmişdir ki, bu da bitkilərdə genotipik və fenotipik müxtəlifliyin yaranmasında öz əksini tapır [8, 9, 12, 15, 20].

8. Filogenetik analiz nəticəsində müəyyən edilmişdir ki, retrotranspozonlar *in vitro* şəraitdə buğda kallus kulturasında daha yüksək aktivlik nümayiş etdirmişdir. Bu, həm spesifik *in vitro* şəraitdə, həm də selektiv qida mühitinin xüsusiyyətlərindən qaynaqlanan kompleks stresin kalluslarda retrotranspozonların fəaliyyətinə əhəmiyyətli təsiri ilə izah edilə bilər [9, 15, 20].

PRAKTİKİ TÖVSIYYƏLƏR

1. Qobustan kallus kulturasının genetik və fizioloji parametrlərinin unikallığı bu sortun hüceyrə seleksiyası proqramlarında regenerant bitkilərin kütləvi istehsalında, eləcə də yüksək morfogeneza əlamətinin donoru kimi istifadə olunə bilər.

2. Dissertasiya işinin nəticələri əsasında seleksiyaya daxil edilən nümunələrin səmərəli və sürətli identifikasiyası üçün retrotranspozonların genetik markerlər kimi istifadəsi tövsiyə edilir.

DİSSERTASIYANIN MÖVZUSUNA AİD DƏRC EDİLƏN ƏSƏRLƏRİN SİYAHISI

1. İsmayılova G.İ., Qaragözov T.H. Epigenetik dəyişikliklərin öyrənilməsi məqsədilə müxtəlif buğda genotiplərində kallus əmələgəlmənin induksiyası // Akademik Vahid Hacıyevin 90 illik yubileyinə həsr edilmiş elmi konfransın materialları. Bakı, – 2018, – s. 215-217.
2. İsmayılova G.İ., Qaragözov T.H. Buğdanın hüceyrə kulturasında morfogenezin induksiyası // Akademik Cəlal Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr edilmiş gənc tədqiqatçıların elmi-praktik konfransı. Bakı, – 2018, – s. 55-57.
3. Ismayilova, G.I., Callus formation degree and morphogenetic ability of the isolated wheat culture as a criterium of the genotype selection for study *in vitro* epigenetic changes // Conference of Young Scientists and Students, “Innovations in Biology and Agriculture to Solve Global Challenges”. Baku, –2018, –p. 72.
4. Ismayilova, G.I., Garagozov, T.H. Creation of a cell model for studying epigenetic changes under stress // Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy State Pedagogical University named after A.S. Makarenko, Ukraine, Polesky State University, Belarus, St. Cloud State University, Minnesota, United States, II International Conference on Remote Participation. Ukraine, –2018, – p. 93-94.
5. Garagezov T., Mammedova M., Ismayilova G. Model systems of gradient agaroponics and prospects of their application // Karabakh II International Congress of Applied Sciences. Azerbaijan National Academy of Sciences. Baku, – 2021, – p. 170.
6. Ismayilova G. Analysis of retrotransposon movements of

- wheat (*Triticum aestivum* L.) by using IRAP molecular marker method // 11th International Conference. Achievements & Challenges in biology. Baku, – 2022, – p. 208.
7. Aliyeva, A.Kh., Ismayilova, G.İ., Mamedova, M.H. Effect of heat stress on germination and growth of various wheat genotypes // Transactions of the Institute of Molecular Biology & Biotechnologies, ANAS, – 2022, v. 6, No 1, – p. 22-25.
 8. Ismayilova G.İ. Study of the soybean specific retrotransposon (*sire1*) in wheat (*triticum aestivum* l.) genotypes grown *in vivo* and *in vitro* // Transactions of the Institute of Molecular Biology & Biotechnologies, ANAS, – 2022, v. 6, No 2, – p. 38-42.
 9. Ismayilova G.İ., Mammadova M.M. Determination of retrotransposons in somaclonal variants // Ümumilli Lider Heydər Əliyevin anadan olmasının 100 illiyinə həsr olunan “Müasir təbiət elmlərinin aktual problemləri” mövzusunda Beynəlxalq elmi konfransın materialları. Baku, –2023, – p. 182-185.
 10. Ismayilova, G. Determination of *Sukkula* and *Houba* retrotransposons in heavy metal stressed wheat genotypes grown *in vivo* and *in vitro* / G.Ismayilova, M.Mammadova, S.Marakli [et al.] // AR ETN Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun elmi əsərləri. 2023, v.12, – p. 161-170.
 11. Ismayilova G. Effects of cadmium on *SIRE1* retrotransposon polymorphism in wheat genome / G. Ismayilova, M. Mammadova, T. Karagozov, S.Marakli [et al.] // Transactions of the Institute of Molecular Biology & Biotechnologies, AR MSE, –2023, v. 7, No 1, – p. 82-87.
 12. Ismayilova G., Mammadova M. Mobility of retrotransposons in wheat genotypes grown under cadmium and NaCl stress *in vivo* and *in vitro* // Ümumilli Lider Heydər Əliyevin anadan olmasının 100 illik yubileyinə həsr edilmiş “Heydər Əliyev və Azərbaycan təbiəti” mövzusunda beynəlxalq konfrans. Bakı, –2023, – s. 190.
 13. Mammadova M. Dynamics of biomass accumulation in the wheat callus under the influence of exogenous phenolic

- compounds / M. Mammadova Kh. Safarova, G. Ismayilova, A. Sadigova [et al.] // Transactions of the Institute of Molecular Biology & Biotechnologies, AR MSE, – 2023, v. 7, – p. 54-61.
14. Mammadova M.H., Ismayilova G.I., Sadiqova A.A. Response of callus cultures of different wheat induced osmotic drought stress varieties to polyethylene glycol (PEG) // ƏETİ-nin Elmi Əsərlər Məcmuəsi.–2024. 6 (35), No 1,–p. 85-90.
 15. Ismayilova G., Mammadova M., Marakli S. Identification of retrotransposons and horizontal gene transfer in callus and regenerants of wheat plant (*Triticum aestivum* L) *in vitro* // 4th EPI-CATCH Conference. Epigenetic Mechanisms of Crop Adaptation to Climate Change. (4-6 June 2024). Novi Sad, Serbia, –2024, – p. 56.
 16. Ismayilova G.I., Mammadova M. H. Marakli S., Karagozov T. H. Determination of retrotransposons in different wheat cultivars subjected to heavy metal stress // Biotic and Abiotic stress responses, Memory & Epigenomic Diversity in Crops International Workshop. Academy of Sciences of Albania, Tirana, – 2024, – p. 131.
 17. Ismayilova G., Mammadova M., Marakli S. Retrotransposon-movements in three wheat genotypes by horizontal gene transfer // 7th Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB). Erzurum Technical University, –2024, – p. 38.
 18. Ismayilova G., Mammadova M., Marakli S. Effects of various abiotic stress factors on the activity of retrotransposons. // 7th Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB). Erzurum Technical University, –2024, – p. 39.
 19. Ismayilova G.I., Mammadova M.H. The path from callus to regenerant // Mechanisms of plant regeneration from callus tissue of immature wheat embryos *in vitro*. Əkinçilik ET İnstitutunun Elmi əsərləri məcmuəsi. Baku, –2024, – p. 13-21.
 20. Ismayilova G.I. Investigating Retrotransposon Dynamics in Wheat Genotypes Under Salinity Stress: A Comparative Study of *In Vitro* and *In Vivo* Cultivation / G.I. Ismayilova, M.H. Mammadova, T.H. Qaragezov, S. Marakli, [et al.] // Polish

- Journal of Environmental Studies. –2024, – p. 1-14.
21. Safarova Kh., Ismayilova G., Sadigova A., Nagiyeva H. Combined use of phenylalanine as a precursor and ferulic acid in wheat callus culture // *Innovativ ekosistemlərin inkişafında universitetlərin rolu* Respublika Elmi-Praktiki konfransı. Gəncə, –2024, – s. 95-97.
 22. Jafarova V., Mammadova M., Ismayilova G., Hasanzade E. Study of proteins in morphogenic and non-morphogenic wheat callus // *Innovativ ekosistemlərin inkişafında universitetlərin rolu* Respublika Elmi-Praktiki konfransı. Gəncə, –2024, – s. 121-123.
 23. Ismayilova G.I. Safarova Kh.F. Mammadova M.H. Responses of wheat genotypes to different concentrations of 2,4-D during *in vitro* cultivation of immature embryos // *Current Problems of Mankind and Ways to Solve Them. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference*. Munich. Germany, –2024, – p. 14-18.
 24. Safarova KH.F., İsmayilova G.I., Mammadova M.H. Effect of exogenous phenolic compounds and genotype-dependent callus induction // *Current Problems of Mankind and Ways to Solve Them. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference*. Munich. Germany, –2024, – p. 19-24.



Dissertasiyanın müdafiəsi 10 sentyabr 2025-ci il tarixində saat 11-00 da AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən BFD 1.07/1 Dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: Az1004, Bakı ş., A.Abbasızadə 115.

Dissertasiya ilə AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq mümkündür.

Dissertasiya və avtoreferatın elektron versiyaları AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun rəsmi internet saytında (<https://azmbi.az/index.php/az/>) yerləşdirilmişdir.

Avtoreferat 04 avqust 2025-ci il tarixində zəruri ünvanlara göndərilmişdir.

Çapa imzalanıb:10.07.2025

Kağızın formatı: A5

Həcm: 37564

Tiraj: 100