

## Arpanın Yetiştəmiş Rüşeymlərindən İnduksiya Edilmiş Kallus və Morfogenez Proseslərinin Bəzi Xüsusiyyətləri

S.Ş. Əsədova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutu, Mətbuat prospekti, 2A, Bakı AZ 1073, Azərbaycan

<sup>2</sup>Azərbaycan Kənd Təsərrüfatı Nazirliyi Əkinçilik Elmi-Tədqiqat İnstitutu, Pirşağı qəsəbəsi, 2 saylı sovxoz, Bakı AZ1098, Azərbaycan; E-mail: biotexnoloqaz@mail.ru

**Arpanın yerli seleksiya sortlarının süd və mum fazalarında təcrid edilmiş yetiştəmiş rüşeymləri *in vitro* şəraitində eyni hormonal tərkibli qida mühitində kultivasiya edilmişdir. Eksplantlarda induksiya edilmiş kallus- və morfogenez proseslərinin xüsusiyyətləri öyrənilmişdir.**

**Açar sözlər:** Arpa bitkisi, *in vitro*, yetiştəmiş rüşeym, kallus, morfogenez

### GİRİŞ

Məlumdur ki, torpaq tipi və iqlimi fərqli olan zonalarda taxıl bitkilərindən alınan məhsulun həcmi eyni olmur. Bu hal bir sıra səbəblərdən bağlıdır ki, bunlardan bitkilərin genetik determinə olunmuş mübadilə proseslərinin xüsusiyyəti, becərilmə zonalılarına uyğunlaşma dərəcəsi, aqrrotexniki tədbirlərə cavabı və s. qeyd etmək olar. Azərbaycan torpaq-iqlim şəraitinin müxtəlifliyi ilə seçilən dövlətdir və Respublika üzrə arpanın orta məhsuldarlığı 20,0-25,8 s/ha təşkil edir (ARSK-nın məlumatları, 2014). Müxtəlif torpaq-iqlim zonalarında arpanın məhsuldarlığına dair aparılmış monitorinq göstərdi ki, heyvandarlığın və qida sənayesinin tələbatlarını ödəmək üçün yüksək məhsuldar sortların yaradılması seleksiyonların qarşısında duran vacib məsələlərdən biridir (Mamedov və dr., 2010). Dünyanın bir çox elm mərkəzlərində bu məqsədə nail olmaq üçün seleksiyanın həm ənənəvi, həm də molekulyar-genetik və biotexnoloji üsullarından istifadə edilir. Biotexnologiya üsulları vasitəsilə bitkidə gədən bir çox biokimyəvi və fizioloji proseslər ilin fəsilindən asılı olmadan öyrənilə bilər. Tədqiqin məvəffəqiyyətlə aparılması üçün əsas şərt regenerant bitkilərin stabil alınmasıdır (Mano et al., 1994; Ковалева, 2000; Dahleen, Bregitzer, 2002).

Qeyd etmək lazımdır ki, taxıl bitkilərinin içində *in vitro* regenerasiyanın alınması nöqtəyi-nəzərdən arpa ən çətin obyekt hesab olunur və bunun səbəbləri hələ də bəlli deyil. (Картель, Манешина, 1977; Исаева и др., 1980; Hanzel et al., 1985; Ковалева, 2000). Məlumdur ki, regenerasiya proseslərinə həm genotip, həm eksplant tipi, həm də süni qida mühitinin tərkibi təsir göstərir (Powell, Dunwell, 1987; Dahleen, Bregitzer, 2002; Əsədova, 2015; Бишимбаева и др., 2013).

Taxıl və arpa bitkiləri ilə aparılmış bir sıra tədqiqatlar kallusəmələgəlmə (Картель, Мане-

шина, 1977; Исаева и др. 1980; Əsədova, 2015) və regenerasiya proseslərinin (Кушнаренко 1990; Лутова и др., 1994) genotiptən asılı olmasını təsdiq edirlər. Hətta regenerasiya tipinin də nə eksplantından, nə də qida mühitinin tərkibindən asılı olmadığı göstərilir (Чернов, Пендинен, 2011). Bundan başqa, qeyd edilir ki, regenerasiyanın effektivliyi eksplantın ölçüsündən asılı olsa belə, onun keyfiyyət göstəricisi genotiptən asılıdır (Ковалева, 2000; Чернов, Пендинен, 2011).

Lakin son illərdə aparılmış bir sıra tədqiqatlar becərilmə mühitinin üstünlüyünü göstərmişdir. Belə ki, ədəbiyyat mənbələrində genotipin təsirini aradan qaldıran texnologiyaların işlənilib hazırlanması haqqında informasiya verilmişdir (Бишимбаева и др., 2013). Genotiplərin arasında olan morfogenetik reaksiyalarının fərqi qida mühitinin fitohormonal tərkibinin dəyişməsi yolu ilə aradan qaldırılmışdır. Bu yanaşmanın istifadəsi zamanı eyni morfogenetik reaksiyanı göstərən və regenerasiya qabiliyyətini uzun müddət saxlayan embriogen toxumaların alınması mümkünlüyü göstərilmişdir.

*In vitro* texnologiyasında istifadə edilən eksplant tiplərinin effektivliyi haqqında da olan informasiya bir gədər ziddiyyətli xarakter daşıyır. Əvvəlki illərdə taxıl bitkilərindən *in vitro* şəraitində regenerasiyanın alınması üçün yalnız yetiştəmiş rüşeym və tozcuq kulturasından istifadə edilirdi (Foroughi Wehr, 1982; Breiman et al., 1985; Goldstein, Kronstadt, 1986; Ziauddin et al., 1990). Son zamanlar isə taxıl bitkilərinin, o cümlədən, arpanın müxtəlif orqanlarının toxumalarından embriogen kalluslar alınır (Дунаева и др., 2000; Dahleen, Bregitzer 2002; Ковалева, 2000; Чернов, Пендинен, 2011). Müəlliflər qeyd edirlər ki, ilkin kallusların alınması məqsədilə istifadə edilən eksplantların regenerasiya effektivliyi eksplantın inkişaf mərhələsindən (optimal və ya qeyri-optimal) (Ковалева, 2000; Чернов, Пендинен, 2011) asılı-

dır və təcrübədən təcrübəyə dəyişə bilər (Лугова и др., 1994; Чернов, Пендинен, 2011). Göstərilmişdir ki, regenerasiyanın kamiyyət göstəricisi eksplant tipindən asılı deyil və bəzi eksplantlardan alınmış kallus kütlələrinin morfogenetik potensialı çox aşağı olur (Картель, Манешина, 1977; Исаева и др. 1980). Arpa genotiplərinin aşağı regenerasiya potensialı ilə xarakterizə olmasının səbəbi isə kallus toxumalarının çətin əmələgəlməsi və zəif proliferasiya etməsi ilə izah edilir (Кушнаренко, 1990; Лугова и др., 1994; Ковалева, 2000).

Yuxarıda deyilənləri nəzərə alaraq biz arpa sortlarının yetişməmiş rüşeymlərini süd və mum inkişaf mərhələlərində *in vitro* kulturaya daxil etməklə bu eksplantların kallus- və morfogenez xüsusiyyətlərinin öyrənilməsinə məqsəduyğun bilmişik.

## MATERIAL VƏ METODLAR

Tədqiqat obyektini kimi, Azərbaycanın Naxçıvandanı, Baxarlı, Sadlıq, Qarabaq 22, Qarabaq 7, Dəyənətli, Qarabaq 33, Qudrətli 48, Zəmi sortlarından istifadə edilmişdir.

Eksplant kimi *in vitro* kulturaya nümunələrin süd (1-ci variant) və mum (2-ci variant) inkişaf fazasında izolə olunmuş yetişməmiş rüşeymləri daxil edilmişdir.

Eksplantlar 5 dəqiqə ərzində 70 % etanol, 18 dəqiqə ərzində 5% natrium hipoxloritlə ardıcıl sterilizasiya ediləndən sonra, üç dəfə steril su ilə yuyulmuşdular (hər yuyulmada 1dəqiqə). Kallusların induksiyası üçün rüşeymlər 2 mq/l 2,4-dixlorfenoksisirkə turşusuəlavə edilmiş Qamborq (B<sub>5</sub>) qida mühitində becərilmişdilər. Kultivasiya qaranlıqda, 26°C temperatur şəraitində aparılmışdır.

Morfogenezin induksiyasını əldə etmək üçün kalluslar 1 mq/l kinetin əlavə edilmiş Qamborq (B<sub>5</sub>) qida mühitinə əkilmişdilər. Becərilmə 26°C temperatur və işıqlanma şəraitində aparılmışdır.

## NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Tədqiq etdiyimiz arpa genotiplərinin *in vitro* metodu vasitəsilə öyrənilməsi üçün regenerasiyanın stabil alınması şəraiti müəyyən olunmalıdır. Bu məqsədlə biz müxtəlif eksplantların kallus əmələgətirmə və regenerasiya effektivliyini öyrənmək üçün *in vitro* kulturaya arpanın toxum (Asədova, Garibov, 2016), yetişmiş rüşeym, etiolizə edilmiş cücərti (Əsədova, 2015; Əsədova, 2016) və hazırki işdə süd və mum inkişaf fazasında təcrid edilmiş yetişməmiş rüşeymlərini daxil etmişik.

Müşahidələr göstərdi ki, sortdan asılı olmayaraq mum mərhələsində inokulyasiya edilmiş rüşeymlərin kallus əmələgətirmə qabiliyyəti süd

mərhələsinə nisbətən daha effektiv idi. Tədqiqatın 2-ci variantında öyrənilən hər bir sortun eksplantları 5-7 gündən sonra proliferasiya edən kallus kütlələrini əmələ gətirirdilər. 1-ci variantda isə kallus toxumalarını Naxçıvandanı, Baxarlı, Sadlıq, Qarabaq 7, Dəyənətli, və Zəmi sortlarının eksplantlarından almaq mümkün oldu. 30 gün ərzində aparılmış bəcərilmə müddətində Qarabaq 22, Qarabaq 33, Qudrətli 48 sortlarının süd mərhələsində inokulyasiya edilmiş rüşeymlərində kallus əmələgəlməmişdir, yalnız bölünməyə ayrı-ayrı kallus hüceyrələri müşahidə edilirdi. Əvvəlki illərdə eksplant kimi yetişmiş rüşeym və toxumlardan istifadə etdiyimiz zaman həm Qarabaq 33, həm də Qudrətli 48 sortlarından kalluskulturası alınmışdır. Hətta Qudrətli 48 sortu kallusogenez prosesinin intensivliyi ilə seçilirdi (Əsədova, 2015.). Qarabaq 22 sortu ilkin eksperimentlərdə olduğu kimi hazırki təcrübədə də kallus əmələgətirmə nöqtəyi-nəzərindən qeyri-perspektiv sort olmuşdur. Bu sortun *in vitro* kulturada çoxaldılmasının çətinliyini bəzi bitkilərdə olduğu kimi, genotipin xüsusiyyəti ilə izah etmək olar (Картель, Манешина, 1977; Лугова и др., 1994).

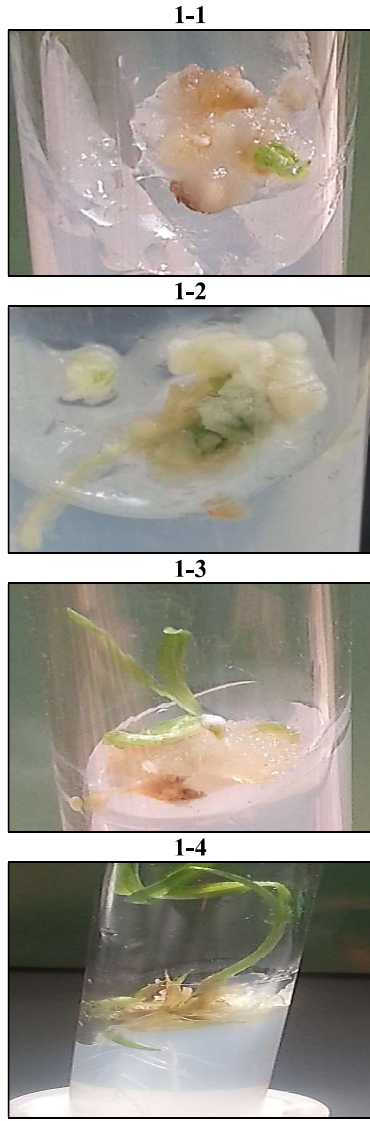
Qarabaq 33 və Qudrətli 48 sortlarının süd mərhələsində izolə edilmiş eksplantlarından kallus toxumalarının alınmaması faktı isə bəcərilmə mühitinin rüşeymlərin dedifferensiasiyası üçün qeyri-optimal olduğunu göstərir. Qida mühitinin hormonal tərkibinin bitkilərdə kallus əmələgəlmə prosesinə bilvasitə təsiri haqqında ədəbiyyatda kifayət qədər məlumat var (Исаева и др., 1980; Hanzel et al., 1985; Лугова и др., 1994; Mano et al., 1994; Dahleen, Bregitzer, 2002). Hətta kallus induksiyası zamanı istifadə edilən 2,4-D-nin normal regenerant bitkilərin alınmasında öynadığı rolu haqqında informasiya mövcuddur (Powell, Dunwell, 1987; Asədova, 2002; Бишимбаева и др., 2013).

Bizim tədqiqatda aldığımız morfogenez qabiliyyətli kallus kütlələrinin strukturu ilk əvvəl bərk olub, morfogenezin induksiyası zamanı isə tədricən yumşalırdı, bəzi kalluslarda isə hüceyrələrin zəif sulanması müşahidə edilirdi (Şəkil 1-1).

Morfogenezin induksiyası zamanı embriogenez, rizogenez, gemmogenез və gemmorizogenez (Şəkil. 1) halları qeydə alınmışdır.

Regenerant bitkilərtəcrübənin yalnız 2-ci variantında alınmışdır. Tədqiq edilən sortlardan ən yaxşı nəticələr Dəyənətli sortunun hüceyrə toxumasında qeydə alınmışdır.

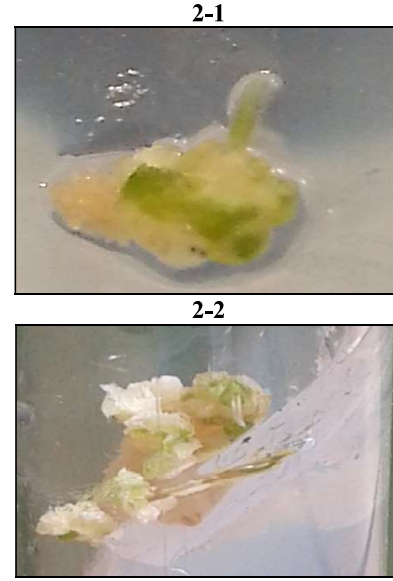
Təcrübənin 1-ci variantında fiksə edilmiş vaxtda kallusların üzərində meristem ocaqlarının əmələgəlməsinə baxmayaraq, regenerant bitkilərini almaq mümkün olmadı. Kalluslarda kök və gövdənin əmələgəlməsinin yalnız başlanğıc mərhələləri müşahidə edilirdi ki, orqanların böyümə sürətinin çox zəif olması səbəbindən, onlar inkişafdan qalırdılar və morfogenez prosesi başa çatmamışdı (Şəkil 2).



**Şəkil 1.** Kallus toxumalarında embriogenez (1-1), rizogenez (1-2), qemmogenez (1-3) və qemmorizogenez (1-4)

Ehtimal var ki, istifadə etdiyimiz becərilmə şəraiti, xüsusilə də mühitin fitohormonal tərkibi süd fazasında inokulyasiya edilmiş rüşeymlər üçün qeyri-optimal olmuşdur, buna görə də təsvir etdiyimiz variantda biz morfogenezin normal gedişinə nail ola bilmədik. Lakin əldə etdiyimiz ədəbiyyat məlumatlarına görə dənli bitkilərin *in vitro* kulturasında regenerasiya proseslərinin induksiyasının bilavasitə rüşeymin inkişaf fazası ilə sıx bağlı olduğu göstərilmişdir (Кушнаренко, 1990; Дунаева и др., 2000; Ковалева, 2000; Круглова, Касатонова, 2009). Вахмайрақ ki, qida mühitinə 2,4-D-nin əlavə edilməsi əsas şərtlərdən biri sayılır (Hanzel et al., 1985; Powell, Dunwell, 1987; Dahleen, Bretzger, 2002; Бишимбаева и др., 2013), bu hormon analogunun eyni qatılıqlarında müxtəlif inkişaf

fazasında olan rüşeymlərdən fərqli morfofizioloji reaksiyaların müşahidəsi. Nəzarət variantlarında eksplantların həssaslığının 2,4-D-ə asılı olmaması isə müəllifləri belə fikrə gətirib ki, *in vitro* şəraitində rüşeymlərin hüceyrələrindən morfogen kallusların formalaşması üçün əsas və vacib şərt – inokulyasiya zamanı eksplant hüceyrələrinin sitoloji statusunun, yəni meristemlik qabiliyyətinin olmasıdır (Ковалева, 2000; Круглова, Касатонова, 2009).



**Şəkil 2.** Süd inkişaf fazasında inokulyasiya edilmiş rüşeymlərin kallus toxumalarında meristematik ocaqların (2-1) və kökün əmələ gəlməsinin başlanğıc mərhələsi (2-2)

Ümumiyyətlə, müəlliflərin əksəriyyəti yetişməmiş rüşeymlərin hüceyrələrini *in vitro* morfogenezdə nəyinki kompetent, hətta bütün morfogen imkanları olan və bu prosesi müxtəlif yollarla həyata keçirən meristematik hüceyrələrin sələfi sayırlar (Дунаева и др., 2000; Круглова Касатонова, 2009). Bəzi müəlliflər bu totipotent bitki hüceyrələrini sütun hüceyrələrin analoqu kimi qiymətləndirirlər (Гапоненко и др., 1985; Круглова, Касатонова, 2009).

Bizim tədqiqatda aldığımız nəticələrin əsasında deyə bilərik ki, tədqiqatda istifadə etdiyimiz arpa bitkilərindən 2016 ildə təcrid olunmuş və mum fazasında inokulyasiya edilən yetişməmiş rüşeymləri morfogenezdə cəhətdən becərilmə şəraitinə daha yaxşı kompetentlik göstərmişdilər.

## ƏDƏBİYYAT

- Əsədova S.Ş.** (2015) Arpanın yerli seleksiya sort və sortnümünələrinin *in vitro* kulturaya daxil edilməsi. *AMEA Botanika institutunun elmi əsərləri*, XXXV: 173-178.
- Əsədova S.Ş.** (2016) Arpanın kallus toxumasının induksiyasına ammonium nitratın təsiri. *AMEA Xəbərləri, biol. və tibb elmləri*, 71(№1): 25-29.
- Акперов З.И., Мамедов А.Т.** (2007) Информационная система по генетическим ресурсам растений Азербайджана [Электронный ресурс]. *Современные проблемы науки и образования*, 6: 9-13 ([http://www.science-education.ru/download/2007/06/2007\\_06\\_01.pdf](http://www.science-education.ru/download/2007/06/2007_06_01.pdf)).
- Асадова С.Ш.** (2002) Оптимизация питательных сред для микроразмножения люцерны. *AMEA-nın Xəbərləri, biol. elmləri seriyası*, №1-6: 365-372.
- Асадова С.Ш., Гарибов З.А.** (2016) Введение в культуру *in vitro* некоторых сортообразцов ячменя, интродуцированных из Международного центра ICARDA. *Факторы экспериментальной эволюции организмов*. Киев, 19: 64-67.
- Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Карабаев М.К., Рахимбаев И.Р.** (2013) Преодоление генотипической зависимости регенерации растений *in vitro* у зерновых злаков. *Материалы X Международной конференции «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология»*. Казань: с. 101.
- Гапоненко А.К., Мунтян Г.А., Маликова Н.И., Созинов А.А.** (1985) Регенерация растений пшеницы. *Цитология и генетика*, 19(№5): 335-342.
- Данные Государственного комитета по статистике Азербайджанской Республики** (2014) <http://www.stat.gov.az/source/agriculture>
- Дунаева С.Е., Ковалева О.Н., Голубева Е.А., Москалева Г.И., Козырева О.Г.** 2000. Способность незрелых зародышей к образованию растений-регенерантов в культуре *in vitro* у ранне- и позднеспелых сортов ячменя. 2. Морфологическая дифференциация зародышей как показатель компетентности их клеток к регенерации растений. *Физиология растений*, 47: 58-64.
- Исаева Г.А., Шумный В.К., Першина Л.А.** (1980) Изучение особенностей каллусогенеза у разных видов ячменя. *Изв. Сибирского отд. АН СССР, сер. биологические науки*, 1(5): 70-74.
- Картель Н.А Манешина Т.В.** (1977) Каллусообразование у разных по генотипу растений ячменя. *Цитология и генетика*, 11(№6): 486-490.
- Ковалева О.Н.** (2000) Цитологические аспекты регенерации сортов ячменя. *Автореф. дис. на соискан. учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.05 «Ботаника»*. Санкт-Петербург: 19 с.
- Круглова Н.Н.** (2008) Периодизация развития зародыша пшеницы для биотехнологических исследований. *Аграрная Россия*, №3: 20-22.
- Круглова Н.Н., Касатонова А.А.** (2009) *Физиология и биохимия культурных растений*, 41(№2): 124-131.
- Кушнарченко С.В.** (1990) Морфогенез и регенерация в культуре тканей пшеницы. *Автореф. канд. дисс.* Душанбе: 22 с.
- Лутова Л.А., Бондаренко Л.В., Вузовкина И.С. и др.** (1994) Влияние генотипа растения на регенерационные процессы. *Генетика*, 30(№8): 106-1074.
- Мамедов З.А., Алиев Э.Б., Талаи Д.М., Мусаев А.Д.** (2010) Роль и перспективы международного сотрудничества в развитии селекции ячменя в Азербайджане. *Сборник научных трудов АзНИИЗ*, 12: 89-91.
- Чернов В.Е., Пендинен Г.И.** (2011) Сравнительная оценка каллусогенеза и регенерации у различных видов ячменя. *Сельскохозяйственная биология*, №1: 44-53.
- Breiman A.** (1985) Plant regeneration from *Hordeum spontaneum* and *Hordeum bulbosum* immature embryo derived calli. *Plant Cell Rep.*, 2: 70-73.
- Dahleen L.S., Bregitzer P.** (2002) An improved media system for high regeneration rates from barley immature embryo derived callus cultures of commercial cultivars. *Crop Sci.*, 42: 934-938.
- Foroughi W.B., Friedt W., Wenzel G.** (1982) On the genetic improvement of androgenic haploid formation in *Hordeum vulgare* L. *Theor. Appl. Genet.*, 62: 233-239.
- Goldstein C.S., Kronstadt W.E.** (1986) Tissue culture and plant regeneration from immature embryo explants of barley *Hordeum vulgare* L. *Theor. Appl. Genet.*, 71: 631-636.
- Hanzel J.J., Miller L.P., Brinkman M.A. et al.** (1985) Genotype and media effects on callus formation and regeneration in barley. *Crop Sci.*, 25(1): 27-31.
- Mano Y., Rikishi K., Yasuda S.** (1994) Генетические исследования роста каллуса и регенерация растений из незрелых зародышей ячменя. *Bull. Res. Inst. Bioresour. Okayama Univ.*, 2(1): 43-53.
- Powell W., Dunwell J.M.** (1987) *In vitro* genetics of barley (*Hordeum vulgare* L.): Response of immature embryos to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Heredity*, 8: 75-80.
- Ziauddin A., Simon E., Kasha K.J.** (1990) Improved plant regeneration from shed microspore culture in barley (*Hordeum vulgare* L.) cv. Igri. *Plant Cell Reports*, 90: 69-72.

**Некоторые Особенности Процессов Каллусо- и Морфогенеза,  
Индукцированных из Незрелых Зародышей Ячменя**

**С.Ш. Асадова<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт молекулярной биологии и биотехнологий НАН Азербайджана*

<sup>2</sup>*Научно-исследовательский институт земледелия МСХ Азербайджана*

Незрелые зародыши сортов ячменя местной селекции на стадии молочной и восковой зрелости культивировались *in vitro* на питательных средах с одинаковым фитогормональным составом. Изучались особенности процессов каллусо- и морфогенеза, индуцированных из эксплантов разной стадии зрелости.

**Ключевые слова:** Ячмень, *in vitro*, незрелый зародыш, каллус, морфогенез

**Some Peculiarities of Calluso-and Morphogenesis Indused from  
Immature Embryos of Barley**

**S.Sh. Asadova<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Molecular Biology and Biotechnologies, Azerbaijan National Academy of Sciences*

<sup>2</sup>*Research Institute of Crop Husbandry, Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan*

Immature embryos of barley varieties of domestic breeding were cultured *in vitro* on nutrient media with the same phytohormonal composition at the stages of milk and wax ripeness. The peculiarities of the process of callus- and morphogenesis induced from explants at various stages of maturity were investigated.

**Keywords:** Barley, *in vitro*, immature embryos, callus, morphogenesis