

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI

Əlyazması hüququnda

ŞİRVANŞAHI ABORİGEN ÜZÜM SORTUNUN BİOTEXNOLOJİ ÇOXALDILMA METODUNUN İŞLƏNİB HAZIRLANMASI

İxtisas: 2422.01 – Biotexnologiya (o cümlədən
bionanotexnologiyalar)

Elm sahəsi: Biologiya

İddiaçı: **Aygün Ağaverdi qızı Sadiqova**

Fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim edilmiş dissertasiyanın

AVTOREFERATI

Bakı – 2026

Dissertasiya işi Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya İnstitutunun Biotexnologiya və biomühəndislik laboratoriyasında və Türkiyə Respublikasının İstanbul şəhərindəki İstanbul Yeni Yüzyıl Universiteti Fen Edebiyat Fakültəsi Molekulyar Biologiya və Genetika Bölümündə yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbərlər: biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Tofiq Hüsnu oğlu Qaragözov

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Mahirə Heybət qızı Məmmədova

Rəsmi opponətlər: AMEA-nın müxbir üzvü, biologiya elmləri
doktoru, professor
Maqsud Rüstəm oğlu Qurbanov

biologiya elmlər doktoru, professor
Əhəd Əli oğlu Nəbiyev

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Aygün Əlimərdan qızı İsrayilova

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya İnstitutu nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.07 Dissertasiya şurası.

Dissertasiya şurasının
sədri:

AMEA-nın müxbir üzvü, biologiya elmləri
doktoru, professor
Pənəh Zülfiqar oğlu Muradov

Dissertasiya şurasının
elmi kəfili:

biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Vəfa Yaşar qızı Həsənova

Elmi seminarın sədri:

biologiya elmləri doktoru, dosent
Vəfa Xəlil qızı Qasıмова

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı. Üzüm (*Vitis vinifera* L.) dünyada ən qədim mədəni bitkilərdən biri olmaqla, kənd təsərrüfatının, mədəniyyətin və iqtisadiyyatın inkişafında mühüm rol oynayır. Azərbaycanda aparılmış arxeoloji tədqiqatlar göstərmişdir ki, üzümçülük və şərabçılıq bu ərazilərdə çox qədim bir tarixə malikdir. “*Akademik N.İ.Vavilovun tədqiqatlarına əsasən, Azərbaycan üzüm kulturasının meydana çıxmasının ilkin mərkəzlərindən biri hesab olunur.*”¹

“*Azərbaycanda yerli üzüm sortlarının böyük əksəriyyəti yabanı üzümədən (Vitis vinifera L. subsp. sylvestris Gmel.) təbii seçmə nəticəsində əmələ gəlmişdir.*”² Son zamanlarda yabanı üzüm bitkisinin biomüxtəlifliyinin öyrənilməsi barəsində müəyyən sayda tədqiqatlar aparılmış və nəticəsində 2000-dən çox yabanı üzüm bitkisi müəyyən edilmişdir. Onların yayılma ərazisi və fitosenetik xüsusiyyətləri göstərilmişdi. Bütün dünyada olduğu kimi, Azərbaycanda da mənfi amillərin təsirindən bir çox qiymətli yerli, seleksiya və intorduksiya olunmuş üzüm sortları artıq itirilmiş, bir qismi isə məhv olmaq təhlükəsi ilə üz-üzə qalmışdır. Bu baxımdan üzüm genofondunun qorunması, kolleksiyaya daxil edilməsi və gələcək nəsillərə çatdırılması böyük elmi əhəmiyyət daşıyır.

Xüsusi maraq doğuran, Azərbaycanın nadir, aborigen texniki üzüm sortlarından olan Şirvanşahı sortudur. Tarixi olaraq əsasən Kürdəmir rayonunda becərilmiş bu sort yüksək keyfiyyətli şərablar və konyak distillatlarının istehsalı üçün əsas xammal bazası rolunu oynamışdır. Lakin üzüm əkinlərinin sort tərkibinin dəyişdirilməsi nəticəsində bu sort istehsal bağlarından demək olar ki, tamamilə çıxmış, yalnız ayrı-ayrı yaşlı kol nümunələri şəklində qorunub saxlanmışdır.

“*Bu səbəbdən biotexnologiya üsulları, xüsusilə mikroklonal çoxaldılma, nadir genotiplərin qorunması və kütləvi bərpası üçün effektiv vasitə hesab olunur.*”³ Bu metod üzümün genetik ehtiyatlarını

¹ Вавилов Н.И. Центры происхождения культурных растений // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1926. – Т. 16, № 2. – С. 1–248.

² Musayev M.K. Results of the study of genetic resources of grapes in Azerbaijan // *International Journal of Plant Breeding*. – 2015.

³ Bouquet A., Torregrosa L. Micropropagation of the grapevine (*Vitis* spp.) //

toplanaraq seleksiya və yaxşılaşdırma proqramlarına cəlb edilməsinə, həmçinin daha məhsuldar, ətraf mühitin biotik və abiotik stres amillərinə qarşı davamlı, yüksək keyfiyyətli və texnoloji yararlığa malik yeni sortların yaradılmasına imkan verir. Aborijen üzüm sortlarının qorunması və genişmiqyaslı becərilməsi yalnız səmərəli biotexnoloji metodların tətbiqi ilə məhdudlaşmamalıdır. Müasir zamanda, həm elmi, həm də kommersiya baxımından hər bir üzüm növünün genetik mənşəyi, yabanı formalarla yaxınlıq dərəcəsi və texniki sortlarla qohumluq əlaqələri müəyyən edilməlidir.

Tədqiqatın obyekti və predmeti. Tədqiqatın obyektini Azərbaycan Respublikasının Kürdəmir rayonundan toplanmış Şirvanşahı aborijen texniki üzüm sortu (*Vitis vinifera* L. Şirvanşahı), Kür çayı boyunca yerləşən ərazilərdən toplanmış yabanı üzüm formaları (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris*) və həmin ərazilərə yaxın zonalarda becərilən yerli üzüm genotipləri təşkil etmişdir. Tədqiqatda ümumilikdə 21 üzüm nümunəsi istifadə edilmişdir.

Tədqiqatın predmetini Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* mikroklonal çoxaldılma prosesinin biotexnoloji parametrləri - qida mühitinin komponent tərkibi, işıqlandırma rejimi, kökləndirmə sistemi və *ex vitro* adaptasiya şəraiti, eləcə də tədqiq olunan üzüm nümunələrinin molekulyar-genetik müxtəlifliyi, filogenetik əlaqələri və RAPD, ISSR, SSR markerləri əsasında müəyyənləşdirilən genotipik xüsusiyyətləri təşkil etmişdir.

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri. Bu tədqiqatın məqsədi populyasiyaları kəskin azalmış nadir aborijen texniki Şirvanşahı üzüm sortunun mikroklonal çoxaldılması əsasında kütləvi bərpaşını təmin edən elmi-metodiki protokolun işlənilib hazırlanması, həmçinin Şirvanşahı sortu, ona yaxın yerli üzüm nümunələri və yabanı genotiplər arasındakı genetik müxtəlifliyin və filogenetik əlaqələrin RAPD, ISSR və SSR molekulyar markerləri əsasında qiymətləndirilməsidir.

Bu məqsədlə aşağıdakı vəzifələr qarşıya qoyulmuşdur:

- Şirvanşahı üzüm sortunun mikroklonal çoxaldılması üçün donor bitki materialının hazırlanması, sterilizasiya rejiminin seçilməsi və aseptik kulturaya daxil edilməsi metodikanın işlənilib hazırlanması.

- MS qida mühitinin əsas komponentlərinin - azot birləşmələri, fosfor səviyyəsi və saxaroza qatılığının - Şirvanşahı mikroklonlarının *in vitro* morfogenezi və vegetativ inkişafına təsirinin qiymətləndirilməsi.
- LED işıqlandırmanın intensivliyi və spektral tərkibinin Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* morfogenezinə təsirinin müəyyənləşdirilməsi və optimal işıq rejiminin seçilməsi.
- Üçkomponentli qradient qida mühiti kökləndirmə kompleksi tətbiqi əsasında *in vitro* kök əmələgəlməsinin induksiyası və kök sisteminin tələb olan istiqamətdə inkişafının təmin edilməsi.
- Kökləndirilmiş mikrobithkilərin *in vitro* şəraitə uyğunlaşdırılması üçün optimal substrat variantlarının müəyyənləşdirilməsi və mərhələli adaptasiya sxeminin işlənilib hazırlanması.
- Şirvanşahı sortu, yerli üzüm nümunələri və yabanı *Vitis vinifera subsp. sylvestris* formaları arasındakı genetik müxtəlifliyin RAPD, ISSR və SSR molekulyar markerləri əsasında qiymətləndirilməsi.
- Müxtəlif markerlərin aktivliyinin tədqiqi vasitəsilə dendroqramların qurulması, PCA və PCoA nəticələri əsasında tədqiq olunan nümunələrin filogenetik əlaqələrinin və genetik qruplaşma xüsusiyyətlərinin müəyyənləşdirilməsi.

Tədqiqat metodları. Tədqiqatın nəzəri bazası müasir elmi ədəbiyyatın dərin və hərtərəfli icmalına əsaslanaraq formalaşdırılmışdır. Dissertasiya çərçivəsində aparılan eksperimental işlərdə biotexnologiya və molekulyar bioloji üsullardan geniş istifadə olunmuşdur. Əldə edilən bütün nəticələr müvafiq statistik üsullarla işlənərək təhlil edilmişdir.

Dissertasiyanın müdafiəyə təqdim olunan müddəaları:

- Şirvanşahı aborigen üzüm sortunun *in vitro* mikroklonal çoxaldılması sistemi işlənilib hazırlanmışdır ki, bu sistem həyat qabiliyyətli bitkilərin əldə edilməsini və onların *in vitro* şəraitə uğurlu uyğunlaşmasını təmin edir;
- Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* morfogenezi və inkişafının tənzimlənməsi fotobiotexnoloji amillərlə, o cümlədən LED işıqlandırmanın spektral tərkibi və intensivliyi ilə, həmçinin qida mühitinin trofik komponentləri ilə şərtlənir;
- Üçkomponentli qradient qida mühiti kökləndirmə kompleksi hazırlanmışdır ki, bu kompleks Şirvanşahı üzüm sortu üçün *in*

vitro adaptasiyaya hazır funksional kök sisteminin formalaşmasını təmin edir;

- RAPD, ISSR və SSR-marker analizlərinə əsaslanan molekulyar-genetik tədqiqat Şirvanşahı sortunun yerli mədəni və yabanı üzüm genotipləri arasında filogenetik əlaqələrin mövcud olduğunu aşkar edir;

Tədqiqatın elmi yeniliyi: Dissertasiya işi Şirvanşahı aborigen üzüm sortunun qorunması, öyrənilməsi və kütləvi bərpasında müasir biotexnoloji və molekulyar-genetik metodların tətbiqi ilə kompleks yanaşmanın işlənib hazırlanmasına həsr olunmuş ilk tədqiqatdır.

- İlk dəfə olaraq Şirvanşahı aborigen üzüm sortu üçün donor materialın hazırlanmasından başlayaraq *in vitro* introduksiya, mikrokonal çoxaldılma, kökləndirmə və *in vitro* adaptasiya mərhələlərini əhatə edən kompleks biotexnoloji çoxaldılma sxemi işlənib hazırlanmış və aprobeasiyadan keçirilmişdir.
- Kommersial çoxaldılma protokolunun yaradılması məqsədilə Şirvanşahı sortunun *in vitro* morfogenezdəki optimal kultivasiya parametrləri müəyyən edilmişdir: 30–40 q/l saxaroza qatılığı, NH_4NO_3 və KNO_3 -ün balanslaşdırılmış nisbəti, eləcə də KH_2PO_4 səviyyəsinin tənzimlənməsi mikroklonların vegetativ inkişafına kompleks təsir göstərmişdir.
- LED işıqlandırmanın spektral tərkibi və intensivliyinin *in vitro* inkişaf göstəricilərinə təsiri sistemli şəkildə qiymətləndirilmiş: 70% qırmızı + 30% mavi spektr və təxminən $46 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ işıqlanma şəraiti morfogenezdə üçün optimal rejim kimi müəyyən edilmişdir.
- İlk dəfə olaraq qida mühitinin üçkomponentli qradientli kökləndirmə kompleksi tətbiq edilmiş, azaldılmış azot fonunda İST və İYT kombinasiyası ilə zənginləşdirilmiş B variantı mühitinin köklənmə, yan kök əmələgəlməsi və kök inkişafı baxımından daha effektiv olduğu sübut edilmişdir.
- İlk dəfə olaraq Şirvanşahı sortunun yerli-yabanı genotiplərlə genetik müxtəlifliyi və filogenetik əlaqələri RAPD, ISSR və SSR markerləri əsasında kompleks şəkildə qiymətləndirilmiş; molekulyar və biotexnoloji yanaşmaların inteqrasiyası yeni metodoloji yanaşma kimi təqdim edilmişdir.

VVSH5 və VS3 kimi genotiplərin timsalında yerli və yabanı üzüm genofondunda yüksək polimorfizm və struktur müxtəlifliyin mövcudluğu göstərilmişdir.

- Əldə olunmuş nəticələr Şirvanşahı və digər yerli sortların seleksiya proqramlarına və kütləvi bərpa işlərinə daxil edilməsi və genofondun istifadəsinin effektivliyini artırılmasına elmi əsas vermişdir.
- İlk dəfə olaraq Şirvanşahı sortunun təbii yayılma arealında və ona yaxın regionlarda olan populyasiyalarında genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsi aparılmışdır.
- Dissertasiya işinin nəticələri, praktik seleksiya və üzümçülükdə tətbiq oluna biləcək elmi əsaslandırılmış metodlar təqdim edir.

Tədqiqatın nəzəri və praktiki əhəmiyyəti. İlk dəfə olaraq aborigen texniki üzüm sortlarından biri olan Şirvanşahının *in vitro* kulturasında morfogeneza, mikroklonal çoxalma, köklənmə və *ex vitro* adaptasiya proseslərinin kompleks integrativ elmi yanaşması işlənib hazırlanmışdır. Qida mühitinin əsas komponentlərinin – saxaroza, azot və fosfor, eləcə də LED işıqlandırmanın spektral tərkibi və intensivliyinin morfogenetik reaksiyalara təsiri sistemli şəkildə təhlil edilmiş, optimal inkişaf modeli müəyyən olunmuşdur.

Vitis vinifera və *V. Vinifera* subsp. *sylvestris* populyasiyalarının RAPD, ISSR və SSR markerləri əsasında genetik differensiasiası müəyyən edilmişdir. Multimarker yanaşmanın genetik polimorfizmin yüksək dəqiqliklə qiymətləndirilməsini təmin etdiyi göstərilmiş, yabanı populyasiyalarda daha yüksək genetik müxtəliflik aşkar olunmuşdur ki, bu da bitkilərin mədəniləşdirilməsi zamanı genetik bazanın daralmasını təsdiqləyir.

İlk dəfə olaraq Şirvanşahı sortunun avtoxtonluğu molekulyar səviyyədə əsaslandırılmış, onun Kür çayı hövzəsinin yabanı formaları ilə yüksək genetik oxşarlığı müəyyən edilmişdir. Şirvanşahı sortunun kütləvi bərpası isə "Kürdəmir" desert şərabı kimi unikal brendin yenidən canlandırılması üçün strateji əhəmiyyət daşıyır.

Nəşr, dissertasiyanın aprobasiyası və tətbiqi. Dissertasiyanın materialları əsasında yerli və xarici nəşrlərdə 6 məqalə, 13 tezis olmaqla 19 elmi əsər nəşr olunmuşdur.

Dissertasiya işinin əsas müddəaları müxtəlif illərdə respublika və

beynəlxalq elmi tədbirlərdə məruzə edilmişdir: Botanika İnstitutunun 80 illik yubileyinə həsr olunmuş beynəlxalq konfransda (Bakı, 2016), "Müasir təbiət elmlərinin aktual problemləri" mövzusunda beynəlxalq elmi-praktiki konfransda (Gəncə, 2017), akademik Cəlal Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş elmi-praktiki konfransda (Bakı, 2018), I Respublika Tələbə Elmi Konfransında (Bakı, 2019), II Beynəlxalq Tətbiqi Elmlər Konqresində (Bakı, 2021), XI Beynəlxalq Konfransda "Achievements and Challenges in Biology" (Bakı, 2022), doktorantların XXVI Respublika Elmi Konfransında (Bakı, 2023), Avrasiya Biomüxtəlifliyi üzrə Simpoziumda - SEAB (Ərzurum, 2024), XI Beynəlxalq Elmi-Praktik Konfransda (Antverpen–Brüssel, 2025) və "Temperature and Light Responses in Plants" workshopunda (Aqadir, 2025).

Dissertasiya işinin yerinə yetirildiyi təşkilat. Dissertasiya işi Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya İnstitutunun Biotexnologiya və biomühəndislik laboratoriyasında və Türkiyə Respublikasının İstanbul şəhərindəki İstanbul Yeni Yüzyıl Universiteti, Fən Ədəbiyyat Fakültəsi, Molekulyar Biologiya və Genetika Bölümündə yerinə yetirilmişdir.

Dissertasiyanın strukturu və həcmi. Dissertasiya işinin ümumi həcmi 4 fəsil, yekun, nəticələr, tövsiyələr istifadə edilmiş ədəbiyyat siyahısı, ixtisarlara siyahısından ibarətdir. Dissertasiyanın strukturunda giriş 15637 işarədən, birinci fəsil 62931 işarədən, ikinci fəsil 25883 işarədən, üçüncü fəsil 71792 işarədən, dördüncü fəsil 21714 işarədən, yekun və nəticələr 8015 işarədən və istifadə edilmiş 286 sayda ədəbiyyat siyahısı 51365 işarədən ibarətdir. Dissertasiya 167 səhifə kompüter yazısından ibarət olmaqla, ümumi həcmi 264 212 işarə təşkil edir.

FƏSİL I. ƏDƏBİYYAT İCMALI

Bu bölmədə bitkilərin mikroklonal çoxaldılması konsepsiyası, mikroklonal çoxaldılmanın metodları və mərhələləri, üzümün becərmə obyektini kimi biologiyası, taksonomiyası və üzüm bitkilərində mikroklonal çoxaldılmanın səmərəliliyinə təsir edən amillərin geniş ədəbiyyat təhlili aparılmışdır. Eyni zamanda üzümçülükdə molekulyar

markerlər və filogenetik tədqiqatlar mövzusu, molekulyar markerlərin rolu, müasir filogenetik yanaşmalar və metodologiyalar, yerli və yabanı üzüm populyasiyalarının genetik əlaqələri, eləcə də molekulyar filogenetik tədqiqatların elmi və praktik əhəmiyyəti ədəbiyyat materialları əsasında nəzərdən keçirilmişdir.

II FƏSİL. TƏDQIQATIN OBYEKTİ VƏ METODLARI

Tədqiqatın obyekti kimi Azərbaycan Respublikasının Kürdəmir rayonunun Çöhranlı kəndindən toplanan Şirvanşahı üzüm sortu (*Vitis vinifera* L.) seçilmişdir. O, yüksək keyfiyyətli kagor tipli desert şərablarının istehsalı üçün dəyərli xammal mənbəyi hesab olunur. Tədqiqatın bioloji materialı Azərbaycan Respublikası ETN Molekulyar Biologiya İnstitutunun Biotexnologiya və biomühəndislik laboratoriyasında *in vivo* və *in vitro* kolleksiyalar şəklində saxlanılmışdır. Azərbaycanın müxtəlif bölgələrindən toplanan 21 üzüm nümunəsi filogenetik analizlər üçün istifadə edilmişdir; bunlardan 16-sı *V. vinifera* L. subsp. *vinifera* alt növünə, 5-i isə *V. vinifera* subsp. *sylvestris* alt növünə aiddir.

Mikroklonal çoxaldılma üçün ilkin bitki materialının hazırlanması. İlkin eksplantlar kimi 1-2 qoltuqaltı buğumdan ibarət zoğdan istifadə edilmişdir. *In vitro* becərilməsi üçün eksplantlar sterilizasiya edilmiş və 20-22°C temperaturda süni iqlimdə 1-2 həftə distillə edilmiş suda saxlanılmış, sonra 24 saat ərzində indolil-yag turşusunda (İYT) stimullaşdırılaraq böyümə mühitinə köçürülmüşdür. Köklər 0,5–1 sm uzunluğuna çatdıqda torf, perlit, torf-perlit qarışığı (1:1), üçqatlı torf–perlit–torf, ağac yonqarı və ağac yonqarı–torf substratlarında əkilmişdir.

Kultivasiya şərtləri. Sterilizasiyadan sonra eksplantlar *in vitro* becərilməsi üçün 24-26 °C temperaturda, 70-80% nisbi rütubətdə, 16/8 saatlıq fotoperioda və 1300-8000 lüks müxtəlif işıq intensivliklərində yetişdirilmişdir.

Qida mühitinin optimallaşdırılması üzrə eksperimental sxemlər. Qida mühitinin çoxaldılmaya təsirini öyrənmək üçün ilkin olaraq KH_2PO_4 konsentrasiyasının *in vitro* kök əmələ gəlməsinə təsiri

öyrənilmişdir; üç variant müqayisə edilmişdir, yəni standart MS (nəzarət), $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4 və $\frac{2}{3}$ KH_2PO_4 , hər variant 25 eksplantla 3 bioloji təkrarda aparılmışdır. İkinci istiqamətdə KNO_3 və NH_4NO_3 qatılıqlarının ayrı-ayrılıqda və kombinasiyada dəyişdirilmiş doqquz fərqli qida mühiti variantı sınaqdan keçirilmişdir. Üçüncü istiqamətdə isə karbon mənbəyi kimi saxarozanın müxtəlif qatılıqlarının (0; 7.5; 10; 15; 20; 30; 40 q/L) mikrokonal inkişaf göstəricilərinə təsiri öyrənilmiş, hər variant üçün 60 eksplant istifadə edilmişdir.

İşıq rejiminin optimallaşdırılması. Tədqiqatda LED işıq mənbələrinin dörd intensivlik səviyyəsindən (18.5; 37.0; 46.25 və 92.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) və üç spektral variantdan - qırmızı (622–780 nm), mavi (455–492 nm) və qırmızı-mavi birləşdirilmiş (660+450 nm, 3:1 nisbətində) işıq rejimlərindən istifadə edilmişdir.

Zoğların uzunluğu, yarpaq sayı, biokütlə böyüməsi və ümumi morfoloji vəziyyəti 1 ay müddətində həftəlik olaraq qiymətləndirilmişdir.

Kökləndirmə mərhələsi. Kökləndirmə mərhələsi üçün üçkomponentli qradiyentli qida mühitinin iki variantı - A variantı (1 mq/L IST / 2 mq/L IST; $\frac{2}{3}$ N MS) və B variantı (0.5 mq/L IST / 2 mq/L IST + 1 mq/L İYT; $\frac{2}{3}$ N MS) hazırlanmış və bütöv mikrobitkilər və birbuğumlu ekplant kimi istifadə olunmuşdur.

Uğurla köklənmiş mikrobitkilər torf:perlit:torpaq (1:1:1) substratına köçürülmüş, şəffaf örtüklər altında süni iqlim şəraitinə uyğunlaşdırılmış və sonra Molekulyar Biologiya İnstitutunun həyatində əkilmişdir.

Filogenetik analizlər. 21 üzüm nümunəsindən “*SDS əsaslı protokol ilə yüksək keyfiyyətli genom DNT izolyasiya edilmişdir* ($A_{260}/A_{280} = 1.7\text{--}2.0$; $\geq 500 \text{ ng}/\mu\text{L}$).⁴ Genetik polimorfizimin qiymətləndirilməsi üçün RAPD, ISSR və SSR marker sistemlərindən istifadə edilmişdir.

UPGMA dendroqramı MVSP 3.1 proqramında qurulmuşdur.⁵

⁴ Niu C., Kebede H., Auld D.L., Woodward J.E., Burow G., Wright R.J. A safe inexpensive method to isolate high quality plant and fungal DNA in an open laboratory environment // *African Journal of Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7, No. 16. – P. 2818–2822

⁵ Kovach W.L. MVSP – A Multivariate Statistical Package for Windows, version

Əsas Komponent Analizi (PCA) həmin proqramda aparılmış, SSR filogenetikası üçün isə R mühitinin “ape, phangorn”⁶ və “factoextra”⁷ paketlərindən istifadə edilmişdir. Hər primer üçün ayırdetmə qabiliyyəti- RP^8 və polimorfizm informasiya tərkibi- PIC^9 göstəriciləri müvafiq standart düsturlarla hesablanmışdır.

Statistik təhlil. Eksperimental nəticələrin statistik işlənməsi *GraphPad Prism*¹⁰ proqramı vasitəsilə yerinə yetirilmişdir.

Variantların müqayisəsi üçün “birfaktorlu və ikifaktorlu dispersiya təhlili (“one-way və two-way ANOVA) tətbiq edilmiş, əhəmiyyətlik həddi $p < 0,05$ qəbul edilmişdir.”¹¹ Nəticələr orta qiymət və standart kənarlaşma ($M \pm SD$) şəklində ifadə edilmiş, qrafik materiallar histogram formasında tərtib olunmuşdur. Bütün analizlər ən azı 3 bioloji təkrarda aparılmışdır.

FƏSİL III.

TƏDQIQATIN NƏTİCƏLƏRİ VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ.

3. Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* çoxaldılması, morfogenezi və inkişaf göstəricilərinin optimallaşdırılması

3.1. Mikroklonal çoxaldılma üçün donor bitki materialının hazırlanması

Sterilizasiya və kök salma mərhələləri sağlam əkinlər əldə etməyə imkan vermişdir. Sonuncu buğumun aşağı hissəsinə mexaniki

3.1. – Pentraeth, Wales: Kovach Computing Services, 1999

⁶ Paradis E., Claude J., Strimmer K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language // Bioinformatics. – 2004. – Vol. 20, No. 2. – P. 289–290

⁷ assambara A., Mundt F. factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.7. – 2020.

⁸ Prevost A., Wilkinson M.J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars // Theoretical and Applied Genetics. – 1999. – Vol. 98. – P. 107–112.

⁹ Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // American Journal of Human Genetics. – 1980. – Vol. 32, No. 3. – P. 314–331.

¹⁰ GraphPad Software. GraphPad Prism version 9.5.1 for Windows. – San Diego, California, USA, 2023

¹¹ Zar J.H. Biostatistical Analysis. – 5th ed. – Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2010. – 944 p

zədələnmə tətbiq edildikdən sonra nümunələr 24 saat ərzində IYT məhlulunda inkubasiya edilərək, sonra distillə edilmiş suda saxlanılmış və böyümə qablarına yerləşdirilmişdir. Birinci həftədə yarpaq tumurcuqları, ikinci həftədə yarpaqlar, üçüncü həftənin sonunda ilkin köklər müşahidə edilmiş və dördüncü həftədə kök uzunluğu 1,0-1,5 sm-ə çatdıqda bitkilər substratlara köçürülmüşdür. Altı substrat variantının müqayisəli qiymətləndirilməsi göstərmişdir ki, torf:perlit (1:1) və torf-perlit-torf (2:1) nisbətli substratı ən yüksək adaptasiya və vegetativ inkişaf göstəriciləri ilə xarakterizə olunur. Beləliklə, torf və perlitin kombinasiyası Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* adaptasiyası üçün optimal substrat kimi müəyyən edilmişdir (Şəkil 1).

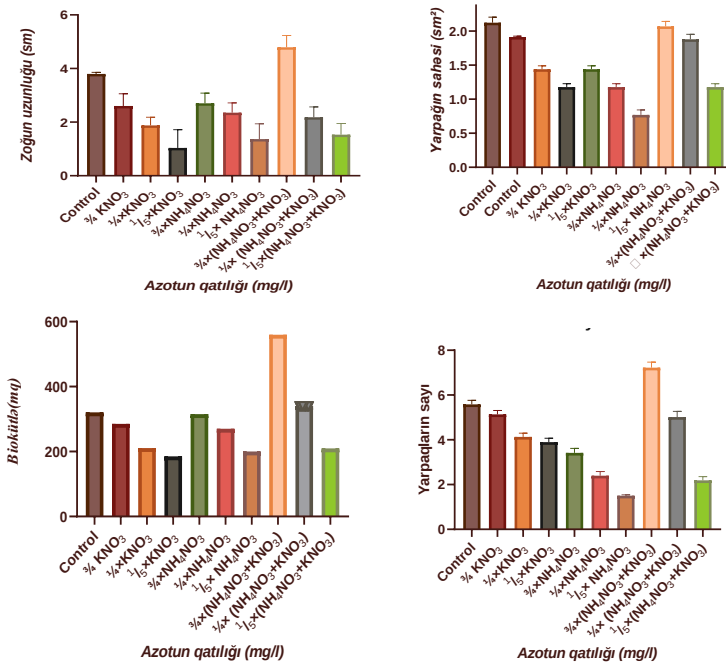


Şəkil 1. Müxtəlif substratlara köçürülmüş *in vivo* üzüm bitkilərinin adaptasiya mərhələsi

3.2. Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* becərilməsində azot birləşmələrinin tənzimlənməsi

KNO_3 və NH_4NO_3 qatılıqlarının MS qida mühitində ayrılıqda və kombinasiyada azaldılmasının Şirvanşahı sortunun *in vitro* inkişafına təsiri öyrənilmişdir. KNO_3 qatılığının azalması bütün morfometrik göstəricilərdə azalmaya səbəb olmuşdur və $\frac{1}{5}$ variantında zoğ uzunluğu 2,45 sm-ə, yarpaq sahəsi isə 1,20 sm²-ə qədər azalmışdır ki, bu da nitrat azotunun vegetativ inkişafda mühüm rolunu təsdiqləmişdir. $\frac{3}{4}$ NH_4NO_3 qatılığında zoğun uzunluğu (3,90 sm) nəzarət variantını (3,85 sm) aşmışdır, lakin aşağı qatılıqlarda mühitin ion balansının pozulması morfogenezi əhəmiyyətli dərəcədə

yavaşlatmışdır və $\frac{1}{5}$ variantında zoğ uzunluğu 1,20 sm-ə qədər azalmışdır (Şəkil 2). Ən yüksək zoğ uzunluğu (5.20 sm), yarpaq sayı (7.20) və biokütlə (560.0 mq) hər iki azot formasının eyni vaxtda $\frac{3}{4}$ -ə azaldıldığı kombinasiya variantında qeydə alınıb. Bir faktorlu ANOVA-nın nəticələri ($P < 0.0001$) müşahidə olunan fərqlərin yüksək statistik əhəmiyyətini təsdiqləyib. Beləliklə, $\frac{3}{4}$ NH_4NO_3 + $\frac{3}{4}$ KNO_3 kombinasiyası Şirvanşahı sortunun mikroklonal çoxaldılması üçün optimal azot rejimi kimi müəyyən edilmişdir.

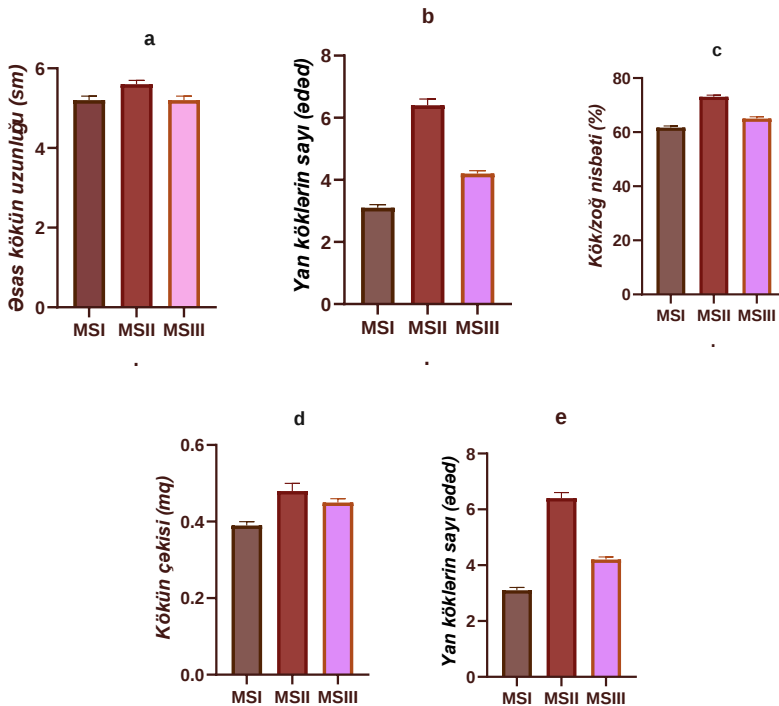


Şəkil 2. NH_4NO_3 və KNO_3 -un müxtəlif qatılıqlarının Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* şəraitdə zoğ uzunluğu, yarpaq sahəsi, biokütlə və yarpaq sayı göstəricilərinə təsiri

3.3. MS qida mühitində fosfor səviyyəsinin modifikasiyasının üzüm mikroklonlarının morfogenezinə təsiri

MS mühitində KH_2PO_4 konsentrasiyasının üç variantının (MS I - standart; MS II - $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4 ; MS III - $\frac{2}{3}$ KH_2PO_4) Şirvanşahı üzüm mikroklonlarının kök inkişafına təsiri öyrənilmişdir. MS II

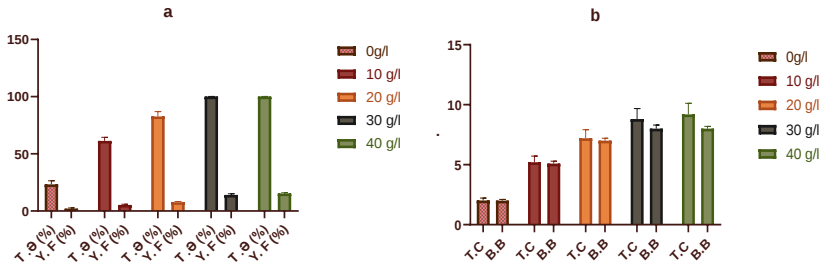
variantında ən yüksək yan kök sayı (6.40 ± 0.20), kök çəkisi (0.48 q) və kök/zoğ nisbəti (73.10%) qeydə alınmışdır; fosfor azalması şəraitində resursların kök inkişafına yönəldilməsi adaptiv morfogenetik strategiya kimi qiymətləndirilmişdir. MS I-də zoğun uzunluğu (6.80 sm) üstünlük təşkil etmişdir (Şəkil 3). İkifaktorlu dispersiya analizi nəticələri ($P < 0.0001$) bütün amillərin yüksək əhəmiyyətini təsdiqləmişdir. Beləliklə, fosfor səviyyəsinin optimallaşdırılması mikroklonal çoxaldılma protokolunun təkmilləşdirilməsində mühüm vasitə kimi müəyyən edilmişdir.



Şəkil 3. MS qida mühitində KH_2PO_4 qatılığının azaldılmasının *in vitro* köklənmə göstəricilərinə təsiri: a - əsas kökün uzunluğu; b - yan köklərin sayı; c - kök/zoğ nisbəti; d - kökün çəkisi; e - yan köklərin sayı

3.4. Qida mühitində saxaroza qatılığından asılı olaraq Şirvanşahı üzüm sortunun mikroklonlarının inkişafı

Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* mikroklonal çoxaldılmasına müxtəlif konsentrasiyalı saxarozanın (0–40 q/L) təsirinin öyrənilməsi göstərdi ki, saxarozasız mühitdə morfogenetik proseslər demək olar ki, müşahidə edilməyib, 30–40 q/L konsentrasiya diapazonunda isə tumurcuq əmələ gəlməsi 100%-ə, orta tumurcuq sayı 8,8–9,2-yə qədər çatmışdır (Şəkil 4). Bu nəticələr göstərir ki, saxaroza təkcə enerji substratı kimi deyil, həm də hüceyrə bölünməsi və differensiasiya proseslərinin tənzimlənməsində iştirak edən mühüm metabolik komponent kimi çıxış edir. Birləşən dispersiya analizinin nəticələri ($P < 0,0001$; $R^2 \approx 0,79$) müşahidə olunan fərqlərin yüksək statistik etibarlılığını və saxaroza faktorunun inkişaf göstəricilərinə güclü təsirini təsdiqləyib. Beləliklə, 30–40 q/L saxaroza Şirvanşahı sortunun mikroklonal çoxaldılması üçün optimal karbon rejimi kimi müəyyən edilib.

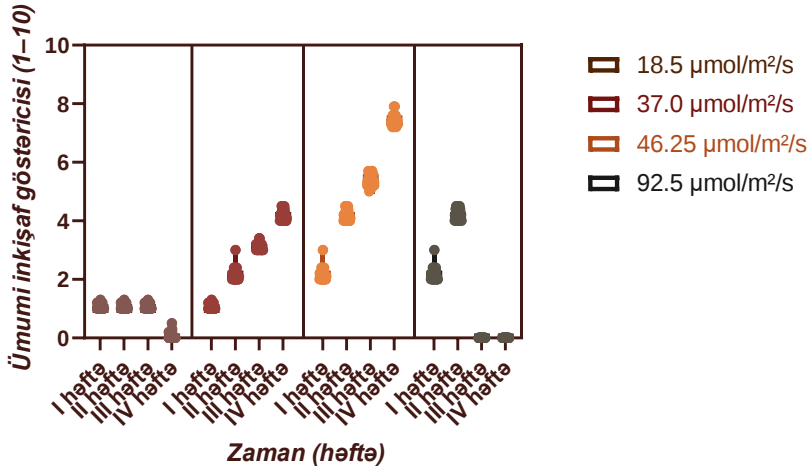


Şəkil 4. Saxaroza qatılığının eksplantların *in vitro* inkişaf dinamikasına təsiri: a - tumurcuq əmələgəlmə və yoluxma göstəriciləri, b - tumurcuq sayı və böyümə balı.

3.5. Işıq intensivliyi və spektral tərkibinin Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* morfogenezinə təsiri

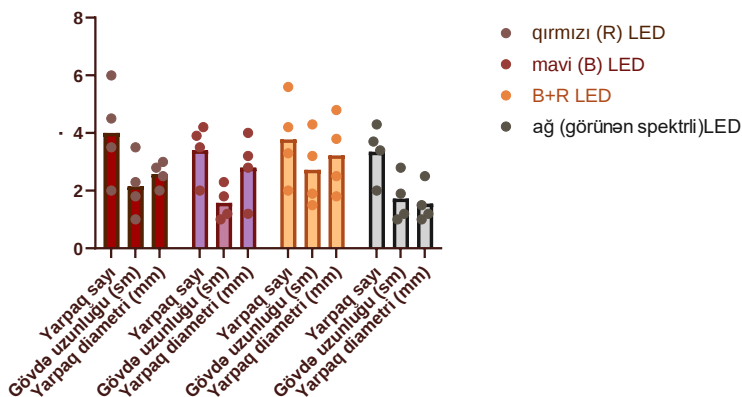
Tədqiqatda müxtəlif LED işıq intensivliklərinin (18.5; 37.0; 46.25 və 92.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) və spektral rejimlərin (qırmızı, mavi, B+R kombinasiyası, ağ) Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* morfogenezinə təsiri hərtərəfli şəkildə öyrənilmişdir. 18.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ intensivliyində bitkilər enerji çatışmazlığı səbəbindən zəif inkişaf etmiş və 92.5

$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ intensivliyində bütün bitkilər fotooksidləşdirici stress nəticəsində üçüncü həftəyə qədər ölmüşdür. Optimal inkişaf $46.25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ intensivliyində qeydə alınmışdır ki, bu zaman gövdə uzunluğunun artımı, yarpaq sayı və biokütlə göstəriciləri maksimuma çatmışdır (Şəkil 5). İkifaktorlu dispersiya analizinin nəticələri ($P < 0.0001$) göstərmişdir ki, ümumi variasiyanın 51,75%-ni məhz işıq intensivliyi amili izah edir.



Şəkil 5. Fərqli işıq intensivliyində Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* inkişaf dinamikası

Spektral tərkibin təsiri ilə bağlı tədqiqatlar göstərdi ki, ən yüksək morfoloji göstəricilər - yarpaq sayı 5.6, gövdə uzunluğu 4.3 sm, yarpaq diametri 4.8 mm - dördüncü həftənin sonunda 70% qırmızı + 30% mavi LED kombinasiyasında qeydə alınıb (Şəkil 6). İkifaktorlu dispersiya analizinin nəticələri spektral faktorun statistik əhəmiyyətini təsdiqlədi ($P = 0.0008$; ümumi variasiyanın 28.06%-i). Beləliklə, 70% R + 30% B spektral nisbəti və $\sim 46.25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ intensivliyi Şirvanşahı sortunun *in vitro* mikroklonal çoxaldılması üçün optimal işıq rejimi kimi müəyyən edilmişdir.

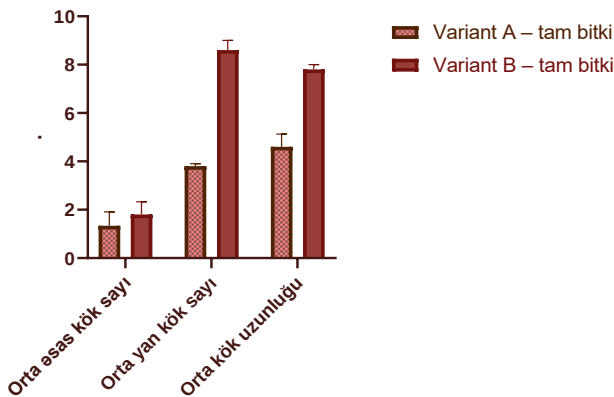


Şəkil 6. Fərqli led işıq spektrlərinin Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* morfoloji göstəricilərinin inkişafına təsiri

3.6. Kökləndirmə və *in vitro* adaptasiya.

Kökləmə mərhələsi mikrokonal çoxalmanın ən vacib mərhələlərindən biridir və birbaşa eksplantların *in vitro* adaptasiya potensialını müəyyən edir. Oduncaqlı bitkilərdə, xüsusən də *Vitis* cinsinə aid növlərdə *in vitro* kökləmə yüksək genotip asılılığı, toxumaların aşağı morfogenetik qabiliyyəti və hormonal disbalans kimi məhdudiyyətlərlə xarakterizə olunur. Qeyd olunan problemlərin həlli üçün aparılan tədqiqat çərçivəsində ilk dəfə olaraq hormonal və mineral komponentlərinin məkan və zaman differensial təsirinə əsaslanan üç komponentli qradiyentli qida mühiti kompleksi hazırlanmışdır. Sistemin aşağı təbəqəsində hormonsuz mineral baza, orta təbəqədə aşağı dozalı IST və yuxarı təbəqədə isə- $\frac{2}{3}$ N+ $\frac{1}{2}$ P MS qida mühiti + IST və IYT birləşməsindən ibarət yüksək auksin fonu tətbiq edilmişdir. Tədqiqatda sistemin iki modifikasiyası Variant A və Variant B tam mikrokonal və birbuğumlu eksplantlar üzərində müqayisəli qiymətləndirilmişdir. Maksimal köklənmə göstəriciləri tam mikrokonalın Variant B mühitinə subkultivasiya olunması zamanı əldə edilmişdir: köklənmə tezliyi $74,0 \pm 5,0\%$, yan kök sayı $8,6 \pm 0,3$ ədəd/eksplant, kök uzunluğu $7,8 \pm 0,2$ sm. A variantında bu göstəricilər müvafiq olaraq $55,33 \pm 3,51\%$, $3,8 \pm 0,3$ ədəd/eksplant və $4,6 \pm 0,4$ sm təşkil etmişdir (Şəkil 7). Birbuğumlu eksplantlarda köklənmə tezliyi hər

iki variantda əhəmiyyətli dərəcədə aşağı olmuşdur (A variantı - $27.0 \pm 4.0\%$; B variantı - $32.7 \pm 2.1\%$), bu da ekplant növünün köklənmə effektivliyinə həlledici təsir göstərdiyini sübut etmişdir (Şəkil 8).

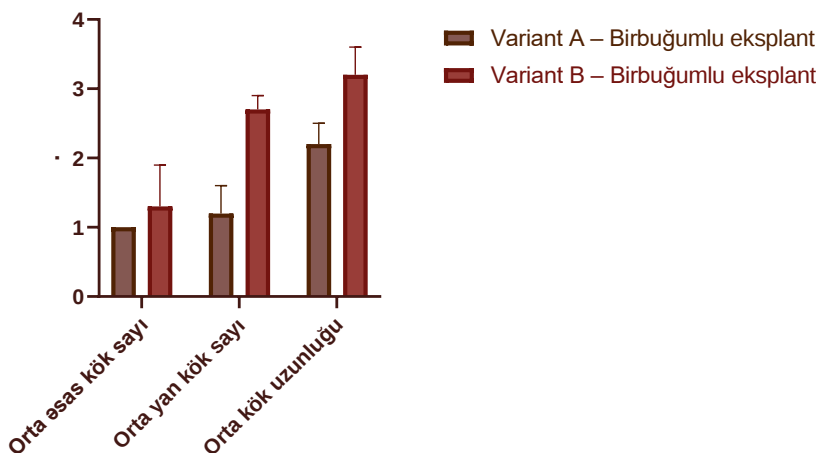


Şəkil 7. Tam bitki eksplantlarında kök sisteminin morfoloji göstəricilərinə A və B qida mühitinin təsiri

Variant B-nin üstünlüyü İST və İYT-nin sinergetik təsiri ilə əsaslandırılır: “İYT β -oksidləşmə yolu ilə bioloji aktiv İST-yə çevrilərək köklənmə zonasında auksin signalının lokallaşmış güclənməsini təmin edir.”¹²¹³, ekzogen İST isə sürətli hormonal cavab yaradaraq induksiya prosesini stimullaşdırır. İkfaktorlu dispersiya analizi (two-way ANOVA) qida mühitinin variantının və morfogenetik parametrlərin həm tam mikroklonlarda ($p < 0.0001$), həm də tək buğumlu eksplantlarda ($p = 0.0002$) kök sisteminin inkişafına statistik cəhətdən əhəmiyyətli təsir göstərdiyini təsdiqlədi. Beləliklə, üç komponentli qradient kompleksi kök əmələ gəlməsinin idarə olunan mərhələli modelini formalaşdıraraq, ənənəvi homogen auksin mühitlərindən əsaslı şəkildə fərqli olan effektiv kökləmə protokolu kimi özünü doğrultdu.

¹² Damodaran S., Strader L.C. Indole 3-Butyric Acid Metabolism and Transport in *Arabidopsis thaliana* // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 851

¹³ Frick E.M., Strader L.C. Roles for IBA-derived auxin in plant development // *Journal of Experimental Botany*. – 2018. – Vol. 69, No. 2. – P. 169–177.



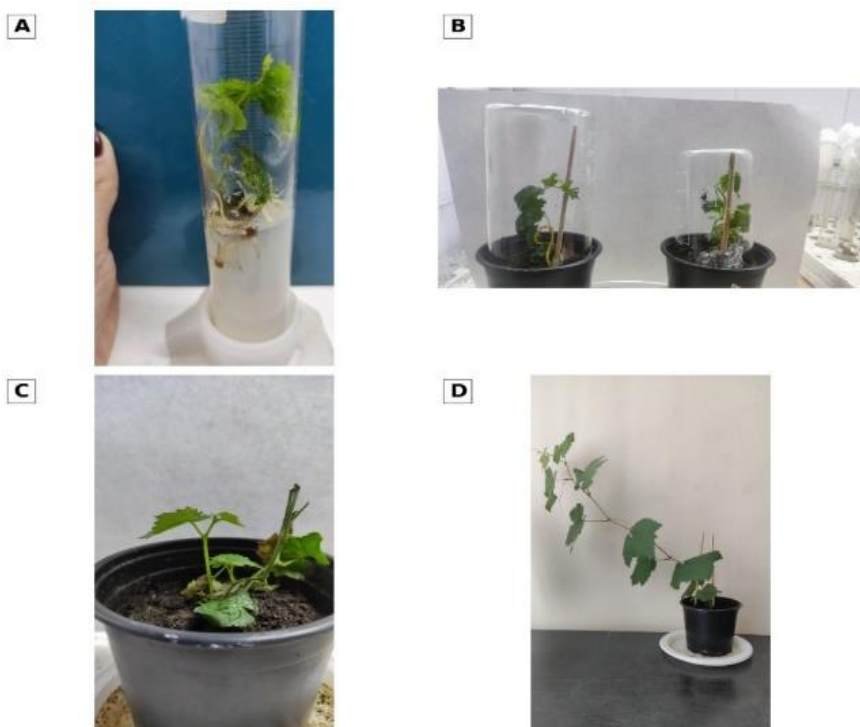
Şəkil 8. Birbuğumlu eksplantlarında kök sisteminin morfoloji göstəricilərinə A və B qida mühitinin təsiri

3.7. Mikrobithkilərin adaptasiyası və *ex vitro* şəraitə köçürülməsi

*“In vitro şəraitdə kökləndirilmiş mikrobithkilərinin in vivo mühitə uyğunlaşdırılması mikroklonal çoxaldılmanın son və eyni zamanda kritik mərhələsi olmaqla bitkilərin süni, aseptik və sabit qida təminatlı mühitdən dəyişkən xarici şəraitə keçidini əhatə edir.”*¹⁴ Tədqiqatımızda kökləndirmə mərhələsi başa çatdıqdan sonra mikrobithkilər kök sistemində yapışmış aqardan təmizləndikdən sonra əvvəlcədən avtoklavda sterilizə olunmuş yüksək adaptasiya qabiliyyətinə malik perlit-torf (1:1:1) substratına köçürülmüşdür. *Ex vitro* uyğunlaşdırmanın ilkin mərhələsində bitkilər mini-istixana effekti şəraiti yaratmaq üçün şüşə örtük altında 9 gün saxlanılmışdır. Növbəti addımda örtük mərhələli şəkildə götürülərək bitkilər tədricən açıq atmosfer şəraitinə uyğunlaşdırılmışdır. *In vitro* şəraitdə formalaşmış mikrobithkilərdə yarpaq ağzıqlarının qeyri-stabil fəaliyyəti, yəni transpirasiya nəzarətinin tam formalaşmaması səbəbindən ilkin adaptasiya dövründə

¹⁴ Pospíšilová J., Tichá I., Kadlecěk P., Haisel D., Plzáková Š. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions // *Biologia Plantarum*. – 1999. – Vol. 42, No. 4. – P. 481–497.

yüksək rütubət və balanslaşdırılmış substratın təmin edilməsi həlledici əhəmiyyət daşıyırdır. Adaptasiya prosesində *in vitro* mərhələdə formalaşmış yerüstü hissənin qismən nekrozlaşması izlənilmişdir. Növbəti mərhələdə bazal meristematik zonadan yeni zoğların inkişafı müşahidə edilmişdir (Şəkil 9). Bitkilərin uzunluğu 50-60 sm-ə çatdıqdan sonra bitkilər açıq torpaq şəraitinə uğurla köçürülmüşdür. Beləliklə, steril substrata köçürülmə, qapalı mikroiqlimdə saxlanma, tədricən açıq rejimə keçid və torpaq şəraitinə keçirilmə kimi tətbiq olunan mərhələli qradiyent sxemi Şirvanşahı sortunun mikrobittkilərinin *ex vitro* adaptasiyası üçün elmi cəhətdən əsaslandırılmış və praktiki olaraq səmərəli protokol kimi müəyyən edilmişdir.



Şəkil 9. Şirvanşahı sortunun mikrobittkilərində müşahidə olunan ardıcıl adaptasiya mərhələləri

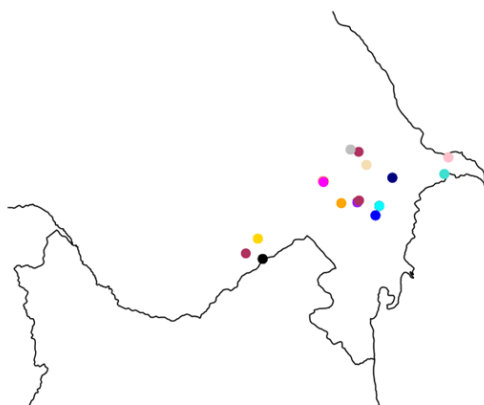


Şəkil 10. Təbii böyümə mühitinə keçirilmiş və vegetativ inkişafını davam etdirən Şirvanşahı üzüm sortu

FƏSİL IV. RAPD, ISSR və SSR molekulyar markerləri əsasında şirvanşahı sortu, yerli və yabanı üzüm nümunələri arasındakı genetik oxşarlığın təhlili

4.1. RAPD markerləri əsasında Şirvanşahı sortu, yerli və yabanı üzüm nümunələri arasında genetik oxşarlığın təhlili

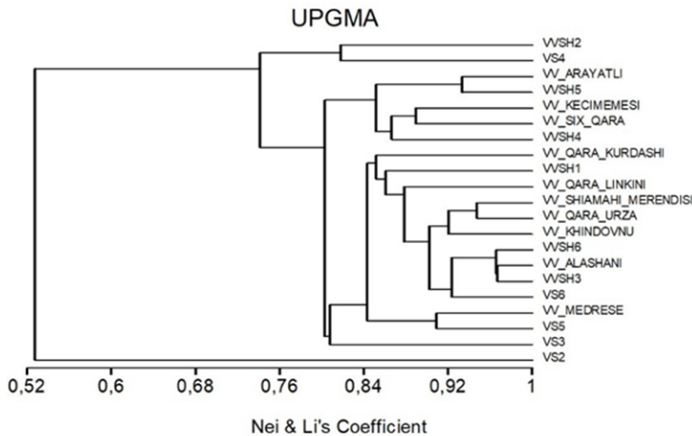
16 RAPD primeri ilə tədqiq olunan 21 üzüm nümunəsinin genetik müxtəlifliyi qiymətləndirilmişdir.



Şəkil 11. Şirvanşahı sortu, yerli və yabanı üzüm nümunələrinin coğrafi mənşəyinin sxematik təqdimatı

Ümumi 182 band aşkar edilmiş, bunların 85,7%-i polimorf olmuşdur. RAPD markerləri üzrə hesablanmış ayırdetmə qabiliyyəti (RP) və PIC göstəricilərinin orta qiymətləri (müvafiq olaraq 3,34 və 0,43) primerlərin genotiplərarası polimorfizmin aşkarlanmasında orta-yüksək informativliyə malik olduğunu göstərmişdir.

RAPD məlumatları əsasında qurulmuş UPGMA dendroqramında nümunələr iki əsas klaster ətrafında qruplaşmış, yabani və mədəni formalar arasında müəyyən genetik fərqlənmə meyləli müşahidə edilsə də, bəzi nümunələrin yüksək oxşarlıq göstərməsi bu qrupların tam izolə olunmadığını təsdiqləmişdir. Ən yüksək genetik oxşarlıq VS6 və VVSH3 (0,954), ən aşağı isə VS2 və VV_Qara_Urza (0,458) nümunələri arasında qeydə alınmış, ümumi orta oxşarlıq isə 71,25% təşkil etmişdir. *Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* təmsilçiləri olan 1–5 nömrəli nümunələr ayrıca klaster (oxşarlıq intervalı 0,512–0,852) formalaşmışdır.



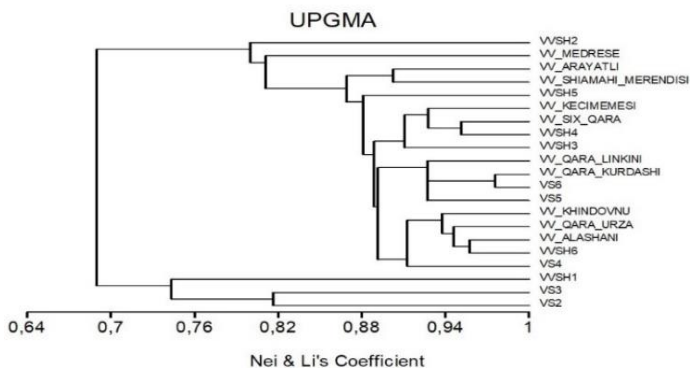
Şəkil 12. Üzüm nümunələrinin MVSP proqram təminatı əsasında qurulmuş RAPD dendroqramı

4.2. Üzüm nümunələrinin ISSR markerləri ilə genotipləşdirilməsi və genetik oxşarlıq səviyyəsinin təhlili

12 ISSR primeri ilə alınan nəticələr RAPD tədqiqatlarının nəticələri ilə üst-üstə düşmüş, lakin daha yüksək polimorfizm indeksi ($PIC \geq 0,37$) müəyyən edilmişdir. ISSR markerləri mədəni genotiplər

daxilindəki differensiasıyanı daha dəqiq əks etdirmişdir.

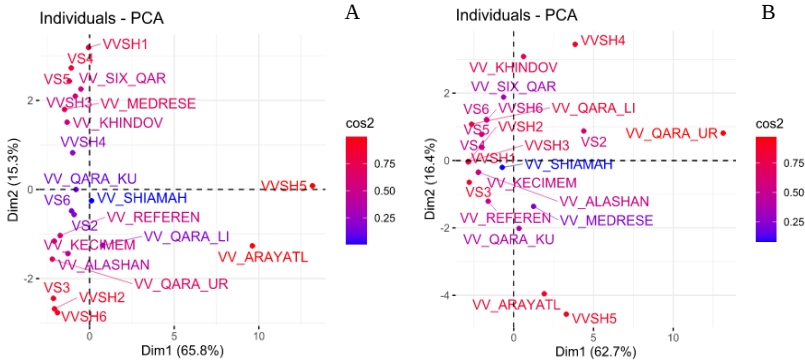
Şirvanşahı sortunun daxili polimorfizm göstəricisinin 52,5%-ə qədər çatması sort daxilindəki genetik müxtəlifliyin yüksəkliyini göstərmişdir. UPGMA üsulu və Nei–Li oxşarlıq əmsalı əsasında qurulmuş ISSR dendroqramı nümunələrin iki əsas qrup ətrafında cəmləşdiyini, yabanı və mədəni formaların müəyyən qədər fərqli budaqlanma göstərsə də, bəzi nümunələr arasında yüksək oxşarlığa görə tam ayrılmış qruplar təşkil etmədiyini üzə çıxarmışdır (Şəkil 13).



Şəkil 13. Üzüm nümunələrinin MVSP proqram təminatı vasitəsilə əldə edilmiş UPGMA dendroqramı.

Ən yüksək genetik oxşarlıq VV_Qara_Kurdashi və VS6 (97,6%), ən aşağı isə VVSH2 və VS2 (52,5%) arasında qeydə alınmış, ümumi orta oxşarlıq 75,05% təşkil etmiş, VV_Qara_Kurdashi–VS6 cütünün yaxınlığı isə orta qoğrafi-ekoloji şərait və yabanı-mədəni formalar arasında tarixi-genetik əlaqələrin mövcudluğunu ehtimal etdirmişdir. ISSR markerləri əsasında aparılmış PCA analizi dendroqram nəticələrini ümumilikdə təsdiqləmiş, nümunələrin əksəriyyəti ümumi genetik yaxınlıq sahəsində yerləşsə də, bəzilərinin əsas qrupdan ayrılması marker-spesifik genetik fərqliliyin mövcudluğunu göstərmişdir. Dendroqram və PCA nəticələrinin uzlaşması ISSR markerlərinin üzüm nümunələri arasında genetik oxşarlıq və fərqliliklərin müəyyənləşdirilməsində etibarlı bir vasitə olduğunu təsdiq edir.

budaqlanma nümayiş etdirmişdir (Şəkil 15). Bu nəticə yabanı və mədəni üzüm formaları arasında genetik əlaqələrin mövcud ola biləcəyini göstərir.



Şəkil 15. R proqramlaşdırma mühitinin (*ape*, *phangorn* paketləri) əsasında qurulmuş, VVIp31 (A) və VVIn73 (B) markerlərinə aid nümunələrin ML dendroqramları.

SSR markerləri üzrə genetik məsafə matrisləri əsasında (PCA) aparılmışdır. VVIp31 markeri üzrə ilk iki koordinat oxunun izah etdiyi variasiya payı müvafiq olaraq 65,8% və 15,3%, VVIn73 markeri üzrə isə uyğun olaraq 62,7% və 16,4% olmuşdur. Bu nəticələr hər iki marker üzrə ilk iki koordinatın ümumi genetik variasiyanın əsas hissəsini izah etdiyini göstərir. PCoA nəticələri dendroqram məlumatlarını ümumilikdə dəstəkləmiş; qrafiklərdə *Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* və *Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera* nümunələri arasında müəyyən diferensiasiya müşahidə edilsə də, qruplar arasında tam ayrılma qeydə alınmamışdır, bu da yabanı və mədəni üzüm formalarının genetik baxımdan əlaqəli olduğunu göstərir. Xüsusilə VVSH5 nümunəsinin hər iki PCA qrafikində digər nümunələrdən aydın fərqlənməsi diqqəti cəlb etmişdir; bu, onun marker-spesifik allel variasiyasına malik olması ilə izah oluna bilər. Beləliklə, SSR analizində iki lokusdan istifadə yabanı və mədəni bitkilər arasında genotipik fərqlənmə və marker-spesifik yaxınlıq münasibətlərinin qiymətləndirilməsini təmin etmişdir.

4.4. RAPD, ISSR və SSR markerləri əsasında üzüm nümunələrinin molekulyar-genetik müxtəlifliyinin və filogenetik münasibətlərinin müqayisəli təhlili

Üzüm genotiplərinin RAPD, ISSR və SSR markerləri əsasında aparılmış molekulyar-genetik təhlili tədqiq olunan nümunələr arasında, RAPD üzrə ümumi genetik oxşarlığın 71,25%, ISSR üzrə isə 75,05% təşkil etdiyini göstərmişdir. Hər iki dominant marker sistemi üzrə qurulmuş dendroqram və PCA nəticələri yabanı və mədəni üzüm formaları arasında müəyyən qruplaşma meylini üzə çıxarmış, lakin bəzi nümunələr arasında yüksək oxşarlığın (o cümlədən VV_Qara_Kurdashi və VS6 arasında 97,6%) müşahidə olunması bu iki qrupun tam izolə olunmuş genetik vahidlər kimi ayrılmadığını təsdiqləmişdir. SSR markerləri (VVIp31 və VVIn73) əsasında aparılmış ML topologiyası və PCoA analizi də oxşar nəticələr vermiş, VVIp31 lokusunun daha geniş variasiya diapazonu və yüksək diferensiasiya qabiliyyəti nümayiş etdirdiyi müəyyən edilmişdir. Şirvanşahı sortuna aid VVSH1–VVSH6 nümunələri üzrə əldə olunan yüksək genetik yaxınlıq bu sortun müxtəlif coğrafi ərazilərdə becərilməsinə baxmayaraq əsas genetik strukturunu qoruyub saxladığını göstərmişdir. VVSH5 və VS3 nümunələrinin hər iki SSR marker üzrə digər genotiplərdən fərqlənməsi onların marker-spesifik lokal genetik variasiyaya malik olduğunu ortaya qoymuşdur. Yabanı üzüm populyasiyalarında müşahidə olunan geniş genetik variasiya təbii populyasiyalarda gedən təkamül prosesləri və ekocoğrafi izolyasiya ilə izah olunarkən, mədəni sortlarda uzunmüddətli seçmə və vegetativ çoxaldılma nəticəsində daha homogen genetik struktur formalaşdığı qeyd edilmişdir. Nəticə etibarilə, RAPD, ISSR və SSR marker sistemlərinin kompleks tətbiqi bir-birini tamamlayaraq Şirvanşahı sortunun və digər yerli üzüm genofondunun molekulyar xarakterizasiyası, genetik ehtiyatların qorunması və gələcək seleksiya proqramları üçün elmi-praktiki əsas yaratmışdır.

NƏTİCƏLƏR

1. İlk dəfə olaraq müəyyən edilmişdir ki, *Vitis vinifera* L. Şirvanşahı mikroklonlarının *in vitro* inkişafı yalnız azotun ümumi miqdarı ilə deyil, həm də nitrat və ammonium formalarının nisbəti ilə müəyyən olunur. Göstərilmişdir ki, optimal morfoloji inkişaf hər iki formanın ($\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{KNO}_3$) eyni vaxtda balanslaşdırılmış şəkildə azaldılması şəraitində baş verir, bu da hüceyrə bölünməsinə və fotosintetik səthin formalaşmasını təmin edir. Bu şəraitdə maksimal morfometrik göstəricilər (zoğ uzunluğu - 5,20 sm; yarpaq sayı - 7,2; $F(9,240)=170.1$; $P<0.0001$; $R^2=0.8645-0.9819$) əldə edilmişdir. Təklif olunan azot rejimi mikroklonal çoxalma proseslərində morfogenezin effektiv tənzimlənməsi üçün elmi və praktik əsaslı model kimi qiymətləndirilə bilər. [1,6,8,9,13]
2. İlk dəfə olaraq fosfor səviyyəsinin *in vitro* şəraitində alınmış *Vitis vinifera* L. Şirvanşahı mikroklonlarının kök sisteminin arxitektikasının formalaşmasında əsas rol oynaması aşkar edilmişdir. Fosfor çatışmazlığı əsas kökün uzanmasını zəiflədib, yan köklərin inkişafını stimullaşdırırdı, bu da kök sisteminin adaptiv yenidən təşkili və fosforun assimilyasiya effektivliyinin artması ilə nəticələnirdi. Statistik analizlər bu təsirin yüksək əhəmiyyətli olduğunu göstərmişdir ($P < 0.0001$), ümumi dəyişkənliyin 61.54% faizi əsas amilin, 32.76%-i isə qarşılıqlı təsirin payına düşür. [5,7,8,9]
3. LED işıq intensivliyinin Şirvanşahı üzüm sortunun *in vitro* morfogenezinə fundamental və limitləndirici amil olduğu təsdiq edilmişdir. Maksimum inkişaf göstəriciləri $46 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ intensivliyində əldə edilir, $18.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ -də morfogenetik aktivlik və inkişaf göstəriciləri zəifləyir, $92.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ səviyyəsində işıqlanma intensivliyi eksplantların destruksiyası və ölümünə səbəb olur. Aşkar edilib ki, inteqral inkişaf göstəriciləri əsasən işıq intensivliyi ilə müəyyən edilir, zaman amili və amillər arasındakı qarşılıqlı təsirlər isə statistik cəhətdən əhəmiyyətsizdir. [2,17,18]
4. İlk dəfə olaraq, fotobiotexnoloji yanaşmadan istifadə etməklə,

Şirvanşahı üzüm sortunun vegetativ inkişafında və morfogenezinə işıq spektral tərkibinin ekofizioloji amil kimi təsiri aşkar edilmişdir. Morfogenetik proseslərin optimal göstəriciləri orta intensivlikdə ($\sim 46 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 70% qırmızı + 30% mavi LED işıq istifadəsi ilə alınmışdır, becərmə müddətinin və spektrlə qarşılıqlı təsirin rolu statistik cəhətdən əhəmiyyətli deyildi.[2,12,17]

5. İlk dəfə Şirvanşahı üzüm sortunda tətbiq edilən üçkomponentli qradient qida mühiti kompleks qida və hormonal komponentlərin məkan və zaman üzrə diferensial paylanması hesabına köklənmə prosesinin mərhələli şəkildə tənzimlənməsini təmin edən yeni elmi əsaslandırılmış yanaşma kimi təqdim edilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, tam mikroklon eksplantlarda azaldılmış azot fonunda İST və İYT kombinasiyası ilə zənginləşdirilmiş variant B qida mühiti köklənmə tezliyi ($74,0 \pm 5,0\%$), yan kök əmələgəlmə göstəricisi ($8,6 \pm 0,3$ ədəd/eksplant) və kök uzunluğu ($7,8 \pm 0,2$ sm) baxımından ən yüksək nəticələri təmin etmiş və digər eksperimental variantlarla müqayisədə statistik baxımdan əhəmiyyətli fərqlərlə səciyyələnməmişdir ($p < 0,05$).[7,14,15,19]
6. Müəyyən olunmuşdur ki, üçkomponentli qradient kompleks ayrı-ayrı komponentlərin təsirinə deyil, onların sinergetik və mərhələli təsirinə əsaslanaraq köklənmə prosesinin idarəolunan modelini formalaşdırır və ənənəvi *in vitro* kökləndirmə yanaşmalarından prinsipial şəkildə fərqlənir. İki faktorlu dispersiya analizi (two-way ANOVA) təhlili qida mühiti faktoru, eksplant tipi və morfogenetik göstəricilər arasında qarşılıqlı təsirin statistik baxımdan əhəmiyyətli olduğunu təsdiq etmişdir ($p < 0,05-0,0001$), bu isə təklif olunan sistemin effektivliyinin çoxfaktorlu mexanizmlərə əsaslandığını göstərir. [3,14,15]
7. RAPD, ISSR və SSR marker sistemlərinin ardıcıl tətbiqi Azərbaycanda yayılmış 21 üzüm nümunəsinin (16 *V. vinifera* L. subsp. *vinifera*, 5 *V. vinifera* L. subsp. *sylvestris*) genetik müxtəlifliyini kəmiyyətcə səciyyələndirmişdir. Orta genetik oxşarlıq RAPD markerləri üzrə 71,25%, ISSR markerləri üzrə isə 75,05% təşkil etmişdir. Klaster, PCA və PCoA analizləri hər iki

takson arasında müəyyən genotipik fərqlənmə meylini üzə çıxarmış, lakin ayrı-ayrı yabanı-mədəni cütlərin (VS6–VVSH3 arasında 0,954; VV_Qara_Kurdashi–VS6 arasında 97,6%) yüksək oxşarlıq nümayiş etdirməsi bu iki taksonun genetik cəhətdən tam izolə olunmuş, qapalı vahidlər təşkil etmədiyini göstərmişdir. Bu tapıntı, mədəniləşdirmə proseslərinin təkamül bioloji qanunauyğunluqlarına uyğun olaraq, yerli mədəni üzüm sortlarının formalaşmasında regional yabanı populyasiyaların əcdad genofond mənbəyi kimi iştirak etməsini göstərir.[4,16]

8. İlk dəfə olaraq aborigen Şirvanşahı üzüm sortu onun becərilmə arealına yaxın ərazilərdə yayılmış yerli və yabanı üzüm nümunələri ilə molekulyar səviyyədə müqayisəli şəkildə tədqiq edilmişdir. Sortun yabanı formalarla (*V. vinifera* subsp. *sylvestris*) güclü genetik qohumluq əlaqələrinə (orta oxşarlıq 91,1%) malik olduğu aşkar olunmuşdur, bununla da Şirvanşahı sortunun mənşəyinin yerli yabanı üzüm formaları ilə bağlı olması ehtimalı molekulyar səviyyədə təsdiqlənmişdir. Dissertasiya işinin nəticələri sortu gələcək seleksiya proqramları üçün qiymətli genetik resurs kimi xarakterizə etmişdir. [4,10, 16]

TƏDQIQATLARDA ƏLDƏ EDİLƏN NƏTİCƏLƏRİN YEKUN TƏHLİLİ

Dissertasiya işi Şirvanşahı aborigen üzüm sortunun biotexnoloji çoxaldılması, genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsi və molekulyar-genetik xarakteristikasının vahid elmi yanaşma çərçivəsində öyrənilməsinə həsr olunmuşdur. Tədqiqatın əsasını istehsal bağlarından demək olar ki, çıxmış, lakin yüksək seleksiya və genetik potensialını qoruyub saxlayan Şirvanşahı sortunun mühafizəsi və kütləvi bərpası zərurəti təşkil etmişdir. İşin məqsədi yalnız mikroklonal çoxaldılma protokolonun hazırlanması ilə məhdudlaşmamış, həm də sortun yerli və yabanı üzüm genotipləri ilə filogenetik əlaqələrinin müəyyənəşdirilməsini əhatə etmişdir. 30–40 q/l saxaroza qatılığı, NH_4NO_3 və KNO_3 -un balanslaşdırılmış nisbəti, həmçinin KH_2PO_4 səviyyəsinin tənzimlənməsi Şirvanşahı mikroklonlarında daha stabil inkişaf və yüksək regenerasiya potensialı

formalaşması, MS qida mühitinin Şirvanşahı sortu üçün statik sistem deyil, funksional şəkildə modifikasiya oluna bilən kultivasiya bazası kimi qiymətləndirilməsini əsaslandırır. Işıq rejimi üzrə aparılan təcrübələr göstərmişdir ki, 70% qırmızı və 30% mavi LED işığı, orta intensivlikdə ($\sim 46 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) morfogenetik balansın, yarpaq aparatının kompaktlığını və zoğ inkişafı sabitliyini təmin etmişdir. Kökləndirmə mərhələsində azaldılmış azot fonunda İST və İYT kombinasiyasına əsaslanan üçkomponentli qradient kompleksi kök sisteminin uğurlu formalaşması baxımından daha səmərəli nəticələr vermişdir. *Ex vitro* adaptasiya mərhələsi mikrobiklərin stressə davamlılığını və sonrakı vegetativ inkişaf sabitliyini artırmışdır. RAPD, ISSR və SSR marker sistemlərinin kompleks tətbiqi isə Şirvanşahı sortunun molekulyar xarakteristikası üçün effektiv və elmi cəhətdən sübut olunmuş bir yanaşma olmuşdur. Beləliklə, aparılmış tədqiqatlar Şirvanşahı sortunun genetik cəhətdən qiymətli aborigen üzüm genotipi kimi qorunması, sağlam əkin materialı şəklində çoxaldılması və gələcək seleksiya, genofond mühafizəsi və üzümçülük proqramlarında istifadəsi üçün elmi-praktiki əsas yaratmışdır.

PRAKTİKİ TÖVSIYYƏLƏR

1. Hazırlanmış mikroklonal çoxaldılma protokolunun Azərbaycan Respublikasının elmi-tədqiqat müəssisələrində və ixtisaslaşmış tingçilik təsərrüfatlarında aborigen üzüm sortlarının qorunması, sürətlə çoxaldılması və səmərəli istifadəsi üçün effektiv biotexnoloji vasitə kimi tətbiqi tövsiyə olunur.

2. Üzümün aborigen və yabanı genotiplərinin molekulyar-genetik pasportlaşdırılması məqsədilə RAPD, ISSR və SSR markerləri əsasında hazırlanmış identifikasiya sisteminin elmi-tədqiqat müəssisələrində və genetik resurs kolleksiyalarında tətbiqi tövsiyə olunur.

DISSERTASIYANIN MÖVZUSUNA AİD DƏRC EDİLƏN ƏSƏRLƏRİN SİYAHISI

1. Sadigova A.A., Sadigova E.E., Musazadə E.O. The importance of plant biotechnology in the restoration of grape genefund // AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutunun Elmi Əsərləri, – 2017, v. 1, – s. 179-183.
2. Sadigova A.A., Garagozov T.H., Suleymanova A.V. Influence of spectral composition and light intensity on morphogenesis of grape plants during *in vitro* micropropagation // Transactions of the Institute of Molecular Biology and Biotechnologies, ANAS, – 2021, v. 5, – p. 104-108.
3. Sadigova A.A. The development of microclones of Shirvan Shahi grape variety depending on sucrose concentrations in the nutrient medium // Transactions of the Institute of Molecular Biology and Biotechnologies, ANAS, – 2022, v. 5, No 1, – p. 31-34.
4. Sadigova A.A., Yörük E., Mammadova M., Garagözov T. Evaluation of DNA polymorphism between cultivated and wild grape varieties of Azerbaijan, in the case of the Shirvan-Shahi grape variety // Transactions of the Institute of Molecular Biology and Biotechnologies, ANAS, – 2023, v. 7, No 1, – p. 76-81.
5. Sadigova A.A., Mammadova M. Root plasticity of the Shirvan-Shahi grapevine under phosphorus deficiency: A perspective from microclonal propagation // Journal of Life Sciences & Biomedicine, – 2025, v. 7(80), No 1, – p. 30-36.
6. Sadigova A.A., Mammadova M.H., Garagozov T.H., Huseynova I.M. Strategic Adjustment of Nitrogen Compounds in the *In Vitro* Cultivation of Shirvan Shahi (*Vitis vinifera* L.) // Advances in Biology & Earth Sciences, – December, 2025, v. 10, No 3, – p. 397-408. – <https://doi.org/10.62476/abes.103397>
7. Sadigova A.A., Sadigova E.E. Effect of cytokinin concentrations on induction of morphogenesis *in vitro* in grapes Shirvan-Shahi during micropropagation // Abstract book of International Conference dedicated to the 80th Anniversary of the Institute of

- Botany, ANAS. Baku, – 2-4 October, 2016, – p. 147.
8. Sadıqova A.A., Sadıqova E.E., Musazadə E.O. Şirvan-Şahı üzüm sortunda *in vitro* induksiya olunmuş morfogenezi // "Müasir təbiət elmlərinin aktual problemləri" mövzusunda Beynəlxalq elmi-praktik konfransın materialları. Gəncə, – 4-5 may, 2017, – s. 164-166.
 9. Sadıqova A.A. Optimization of the nutritional medium during microclonal propagation of the Shirvan-Shah grape variety // Conference of Young Scientists and Students "Innovations in Biology and Agriculture to Solve Global Challenges" dedicated to the 90th Anniversary of Academician Jalal A. Aliyev. Baku, – 2018, – p. 74.
 10. Sadıqova A.A. Şirvan-Şahı üzüm sortu nümunəsindən istifadə etməklə, yaxın qohum formalar olan *Vitis vinifera* və *Vitis sylvestris*-də təbii auksinlərin *in vivo* müqayisəli kompetensiyası // Ümummilli lider Heydər Əliyevin anadan olmasının 96-cı ildönümünə həsr olunmuş "Kimya və Kimya Mühəndisliyində Perspektivlər" mövzusunda I Respublika Tələbə Elmi Konfransı. Bakı, – 2019, – s. 110.
 11. Sadıqova A.A. Features of cultivation of the Shirvan-Shahi grape variety during micropropagation // II International Congress of Applied Sciences, ANAS, "In memory of Victory day and martyrs". Bakı, – 2021, – p. 174.
 12. Sadıqova A.A. Effect of light spectrum quality on grapevine (*Vitis vinifera* L.) development *in vitro* // 11th International Conference "Achievements and Challenges in Biology". Bakı, – 2022, – p. 213.
 13. Sadıqova A.A., Garagozov T. Short-term storage *in vitro* of microclones of Shirvan Shahi grapes in a nutrient medium // "Heydər Əliyev və Azərbaycan təbiəti" mövzusunda beynəlxalq konfransın materialları. – 2023, – s. 189.
 14. Sadıqova A.A. Biotechnological Approaches to Microclonal Propagation of Valuable Local Grape Varieties // Doktorantların və Gənc Tədqiqatçıların XXVI Respublika Elmi Konfransının materialları (Təbiət və Texniki Elmlər). – 2023, v. 1, – p. 51-55.
 15. Sadıqova A.A., Mammadova M. Modern Biotechnological

Approaches to the Process of Root Formation During Microclonal Propagation of Grapes // "Heydər Əliyev və Müasir Biologiya Elminin İnkişafı: Nailiyyətlər və Çağırışlar". – 2023, – s. 78.

16. Sadigova A.A., Yörük E., Mammadova M. Determination of DNA polymorphism among cultivated and wild grape genotypes of Azerbaijan with RAPD markers // 6th Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB). – 2024, – p. 69.
17. Sadiqova A.A. Comprehensive Analysis of Light Spectrum Quality and Intensity Effects on the *In Vivo* and *In Vitro* Growth Dynamics of the Shirvan-Shahi Grapevine (*Vitis vinifera* L.) // XI International Scientific and Practical Conference "Prospects for the Development of High-Quality Training of Future Specialists". Antwerp-Brussels, – 17-19 March, 2025, – p. 20-23.
18. Sadigova A.A., Mammadova M. Effect of Different Light Intensities on the Morphogenesis of Grapevine Plants During *In Vitro* Micropropagation // "Temperature and Light Responses in Plants" Workshop. Agadir, Morocco, – 28-29 April, 2025, – p. 33.
19. Sadigova A.A., İsmayılova G.İ., Mammadova M.H. Macronutrient-Regulated Growth Dynamics in the Micropropagation of Shirvan-Shahi Grapevine // "Enerji, qida, ətraf mühit və iqlim təhlükəsizliyi sahəsində çağırışlar" konfransının materialları. – 15-17 oktyabr, 2025, – s. 189.

Dissertasiyanın müdafiəsi 11 sentyabr 2026-cı il tarixində saat 14-00 Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya İnstitutu nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.07 Dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcək.

Ünvan: AZ1073, Bakı ş., İzzət Nəbiyev küçəsi, 11.

Dissertasiya ilə Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq mümkündür.

Avtoreferatın elektron versiyası Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Molekulyar Biologiya İnstitutunun rəsmi internet saytında (<https://imbb.az/az>) yerləşdirilmişdir.

Avtoreferat 8 avqust 2026-cı il tarixində zəruri ünvanlara göndərilmişdir.

Çapa imzalanıb: 07.08.2026

Kağız formatı: A5

Həcm: 40240

Tiraj: 100