

см, ал кішкентай 1,2 см-ге тең. Бастапқы материалды сақтау үшін *in vitro* өсімдіктер коллекциясы құрылды.

**Кілт сөздер:** картоп, селекция, будандар, микротүйнектер, минутүйнектер, гибридті клондар, *in vitro*.

**Zh.K. Abilda<sup>1</sup>, Z.B. Sapakhova<sup>1,4</sup>, A.I. Sidorik<sup>2</sup>, N.U. Raissova<sup>1</sup>, D.L. Daurov<sup>1,4</sup>,  
Khandakar Rafiq Islam<sup>3</sup>, K.Zh. Zhambakin<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan, zhambakin@gmail.com\**

<sup>2</sup>*Olzha Agro LLP, Kostanai, Kazakhstan,*

<sup>3</sup>*The Ohio State University South Centers, Piketon, OH, USA*

<sup>4</sup>*Tanir Research Laboratory*

## PRODUCTION OF INTERVARIETAL HYBRIDS AS SOURCE MATERIAL FOR POTATO BREEDING

### Abstract

Potato is one of the strategically important agricultural crops in Kazakhstan. At the same time, the main areas of potato cultivation are occupied by foreign varieties, due to the long growing season of local varieties. This article is devoted to the creation of initial breeding material of potato. The results on hybridization of varieties of domestic and foreign selection are given. The main attention is paid to the creation of varieties with shallow laying of potato eyes and yellow color, without enzyme blackening and early maturity. At the end of plant hybridization, 7 out of 4 combinations were successful (57%). Four hybrids were obtained, three of which proved to be fertile and viable. The percentage of germination of plants in soil was 33.3%, 45.4% and 60% for Gala x Shagalali, Yagodnyi 19 x Fry and Gala x Yagodnyi 19, respectively. High performance both in terms of plant survival and tuber number and size was characteristic of combinations in which Yagodnyi variety was one of the parents. The largest minituber was 4.5 cm and the smallest 1.2 cm for the same hybrid but different lines. An *in vitro* plant collection has been established to preserve source material.

**Keywords:** potato, breeding, hybrids, microtubers, minitubers, hybrid clones, *in vitro*

МРНТИ 62.33.29; 68.03.03

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2024/31>

*Б.К. Тезекбаева\*<sup>1,2</sup>, А. Хасейн<sup>1,2</sup>, А.К. Хансеитова<sup>1</sup>, Г.Л. Есенбаева<sup>2</sup>,  
М. Георгиева<sup>3</sup>, Н.П. Малахова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина КН МНВО РК,  
г. Алматы, Казахстан, bota151283@mail.ru\*, leogold24@mail.ru, khanseitova@mail.ru,  
tasha\_malakhova@mail.ru*

<sup>2</sup>*НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет»  
г. Алматы, Казахстан, Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz*

<sup>3</sup>*Научно-исследовательский институт горного животноводства и земледелия, Троян,  
Сельскохозяйственная академия, София, Болгария, mariageo@gmail.com*

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* И МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ ЕЖЕВИКИ (*RUBUS L.*)

### Аннотация

В данной статье представлены результаты экспериментов по оптимизации этапов введения в культуру *in vitro* и микроклонального размножения трех перспективных сортов растений ежевики сортов Натчез, Блэк Мэдрик и Осейдж. В результате исследования

оптимизированы условия для введения в культуру *in vitro* пазушных почек, применяемых в качестве эксплантов. Проведена стерилизация растительного материала химическими агентами, включающая в себя обработку эксплантов мыльным раствором, использование раствора 70% этанола и гипохлорита натрия с добавлением 5-6 капель Твин-20 в различных композициях. Установлено, что при экспозиции в 70% этаноле в течение 2 минут и в 1% растворе гипохлорита натрия в течение 15 минут выход стерильных эксплантов составляет 85%. В качестве питательной среды использована среда Мурасиге-Скуга с различными комбинациями фитогормонов. Оптимальной питательной средой для культивирования эксплантов в культуре *in vitro* является среда МС с добавлением 0,1 мг/л 6-БАП, обеспечившая выживаемость эксплантов ежевики в эксперименте от 86% до 90%. Установлено, что наиболее оптимальной для увеличения коэффициента микроклонального размножения изучаемых сортов ежевики в условиях *in vitro* является среда МС с 0,5 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ГКЗ.

**Ключевые слова:** ежевика, культура *in vitro*, сорт, экспланты, питательная среда, микроклональное размножение, фитогормоны.

### **Введение**

В последние годы в садоводстве нашей страны одним из наиболее активно развивающихся направлений становится ягодоводство. При этом все более заметно стремление к выращиванию новых культур, плоды которых содержат много полезных веществ. В этом отношении особое значение имеют фрукты и ягоды, обладающие не только хорошими вкусовыми качествами, но и ценными питательными свойствами. В условиях неблагоприятной экологической обстановки, характерной для многих регионов, особо важной задачей становится введение в рацион питания продукции, богатой витаминами и другими биологически активными веществами. При этом полноценный пищевой рацион должен быть сбалансированным не только по калорийности, но и по содержанию витаминов, минералов и других полезных элементов. В связи с этим, одной из актуальных задач современного садоводства является максимальное расширение ассортимента ягодных культур, пригодных для выращивания в различных климатических зонах нашей страны и удовлетворяющих потребности населения в качественных и доступных продуктах, укрепляющих здоровье и улучшающих качество жизни людей.

Одним из путей увеличения объемов производства плодов и ягод является применение и активное внедрение ещё малоиспользуемых в нашей стране, редких культур. Одной из таких культур является ежевика, с её достаточно высокими вкусовыми качествами, большой биохимической ценностью и урожайностью. В этом отношении ежевика может стать хорошим дополнением к другим, уже достаточно широко известным и используемым садовым культурам [1]. К тому же, адаптивный потенциал её довольно высок, так как дикорастущие формы данной культуры распространены практически повсеместно по территории нашей страны. Плоды ежевики имеют привлекательный внешний вид, приятный вкус и аромат. Они содержат очень богатый, по своему биохимическому составу, комплекс макро- и микроэлементов, а также витаминов.

Кроме того, помимо потребления в свежем виде, плоды ежевики могут использоваться в пищевой промышленности для приготовления разнообразных продуктов переработки [2].

На сегодняшний день ежевика активно выращивается на промышленных плантациях таких стран Европы и Америки как Сербия, Венгрия, Польша, Германия, Великобритания, Франция, США и Канада, а также и в России. При этом рыночный спрос на эти полезные и лечебные ягоды сегодня значительно превышает возможности сельхозпроизводителей в 5-6 раз [3,4].

К сожалению, в нашей стране отмечается явный недостаток производства товарной ягодной продукции ежевики. В большей степени это связано это с относительной неразвитостью товарного производства этих ягод и с отсутствием на рынке высококачественного посадочного материала ежевики, что вынуждает производителей использовать импортный посадочный материал для закладки промышленных плантаций.

Такая ситуация осложняется риском заноса с саженцами карантинных вредителей и болезней, а также гибелью растений из-за неприспособленности к почвенно-климатическим условиям Казахстана.

В настоящее время для создания высокопродуктивных промышленных насаждений ежевики в развитых странах используют только высококачественный посадочный материал безвирусных растений высокоурожайных сортов, выращенный в питомниках. Такой посадочный материал получают при использовании современных биотехнологических способов оздоровления и массового размножения растений через микрклональное размножение в условиях *in vitro* [5,6,7].

На сегодняшний день метод клонального микроразмножения растений, применяемый в биотехнологии, является уникальным методом размножения, решающим одновременно широкий спектр задач, таких как:

- улучшение качества посадочного материала (повышение генетической однородности растений, увеличение урожайности);
- освобождение растений от вирусов, бактериальных и грибных болезней за счет использования меристемной культуры;
- получение в сжатые сроки достаточного количества посадочного материала;
- возможность работы в лабораториях круглый год и планирования выпуска растений к определённому сроку, обмена материалом в международном масштабе без риска занести карантинные объекты [8, 9].

Вопросы оптимизации технологии микрклонального размножения ягодных растений были подробно изучены и отражены в работах таких ученых, как Волосевич Н. Н., Эрст А. А., Вечернина Н. А. и других. [10]. Некоторые этапы были разработаны для размножения ежевики *in vitro* [11-14], однако во многих из этих работ подчеркивается, что видовая и сортовая специфичность эксплантов требует индивидуального выбора и совершенствования состава питательной среды на каждом этапе микрклонального размножения.

**Цель работы** заключалась в подборе и оптимизации методов для введения в клеточную культуру и размножения в условиях *in vitro* ежевики сортов Натчез, Блэк Мэджик и Осейдж.

#### **Методы и материалы**

В качестве объектов исследования были использованы растения ежевики *Rubus L.* трех сортов: Натчез, Блэк Мэджик и Осейдж, представленных частным крестьянским хозяйством Алматинской области, Енбекшиказахского района.

Сорт Натчез (Natchez) - американский десертный сорт, отличается высокой приспособляемостью к различным климатическим зонам и нетребовательностью к почве. Он рекомендован как для домашних садов, так и для промышленных хозяйств. Ягоды очень вкусные, сладкие, с едва уловимой кислинкой и слегка терпким послевкусием. Урожайность стабильно высокая — 13–20 кг с куста или 2,3–3,2 кг ежевики с растения.

Сорт Блэк Мэджик (Black Magic) - был создан американскими селекционерами на базе Орегонского университета в 2003 году и является ремонтантным гибридом сортов Арапахо и APF-12. Он отличается хорошей транспортабельностью и лежкостью. Ягоды ежевики сорта Блэк Мэджик крупные, со сладким вкусом и выраженной кислинкой, а также характерным ежевичным ароматом. Вес одной ягоды составляет 6-7 г.

Сорт Осейдж (Osage) - американский сорт раннего срока созревания, характеризуется высокой транспортабельностью и плотными плодами, которые могут длительное время храниться без потери внешнего вида и вкусовых качеств. Это делает сорт идеально пригодным для выращивания в промышленных масштабах. Спелые ягоды Осейдж очень сладкие, сочные, с плотной мякотью и приятным фруктовым ароматом, а вес одной ягоды составляет 5-6 г.

В качестве эксплантов использовались пазушные почки взятые с однолетних побегов ежевики. Стерилизацию растительного материала проводили с использованием мыльного раствора, 70% этанола и 1% раствора гипохлорита натрия с добавлением 5-6 капель Твин-20. Этапы обработки включали выдержку в 70% этаноле на протяжении 1, 2 и 3 минут, а затем в 1% растворе гипохлорита натрия на 10, 15 и 20 минут.

На этапе введения в культуру *in vitro* использовалась универсальная питательная среда Мурасиге – Скуга (МС) с добавлением различных комбинаций фитогормонов. В состав среды входили БАП (6-бензиламинопурин) в концентрациях 0,1, 0,5 и 1 мг/л, НУК (нафтилуксусная кислота) в концентрации 0,1 мг/л и кинетин в концентрации 0,5 мг/л. В качестве источника углерода была использована сахароза в концентрации 30 г/л. Для получения полутвердой питательной среды применяли агар-агар в концентрации 6-8 г/л.

Для микроклонального размножения микропобеги ежевики, регенерировавших в условиях *in vitro*, разделили на сегменты длиной от 5 до 10 мм и пересаживали на свежую питательную среду. Для их культивирования использовали питательную среду МС с добавлением различных концентраций фитогормонов. В частности, в среду добавляли 6-бензиламинопурин (БАП) в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л, а также гибберелловую кислоту (ГКЗ) в концентрациях 0,1, 0,3, 0,5 и 1 мг/л. Культивирование клеток проводили при температуре воздуха 24-26°C, при освещенности 3 тысячи люкс на стеллажах с лампами дневного света в светокультуральной комнате с фотопериодом 18/6. [9,15].

Опыты проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку выполняли в программе Microsoft Excel. Коэффициенты t-критерия Стьюдента считали статистически значимыми при  $P < 0,05$ .

### **Результаты и обсуждение**

Подбор оптимального способа стерилизации эксплантов ежевики проводили в трех вариантах, в которых варьирующими факторами выступали стерилизующие вещества - Твин-20, 70-% этиловый спирт, гипохлорит натрия и их сочетание, а также продолжительность этапов стерилизации. Для этого однолетние побеги срезали, удаляли листья, затем делили на сегменты, содержащие одну почку (рисунок 1 - А, Б). В каждом варианте первым шагом является перемешивание эксплантов в мыльном растворе на лабораторном шейкере в течение 30 минут (рисунок 1 - В). Затем, в течение такого же промежутка времени экспланты промывались под проточной водой. Было проведено 3 варианта стерилизации:

1 вариант: обработка эксплантов 70% этиловым спиртом в течение 1 минуты, затем промывка дистиллированной водой в течение 2 минут, после происходит обработка 1% раствором гипохлорита натрия в сочетании с «Твин-20» 0,1% в течение 10 минут, с последующим трёхкратным промыванием дистиллированной водой в течение 5 минут.

2 вариант: обработка эксплантов 70% этиловым спиртом в течение 2 минуты, затем промывка дистиллированной водой в течение 2 минут, после происходит обработка 1 % раствором гипохлорита натрия в сочетании с «Твин-20» 0,1% в течение 15 минут, с последующим трёхкратным промыванием дистиллированной водой в течение 5 минут.

3 вариант: обработка эксплантов 70% этиловым спиртом в течение 3 минуты, затем промывка дистиллированной водой в течение 2 минут, после происходит обработка 1 % раствором гипохлорита натрия в сочетании с «Твин-20» 0,1% в течение 20 минут, с последующим трёхкратным промыванием дистиллированной водой в течение 5 минут.



А



Б



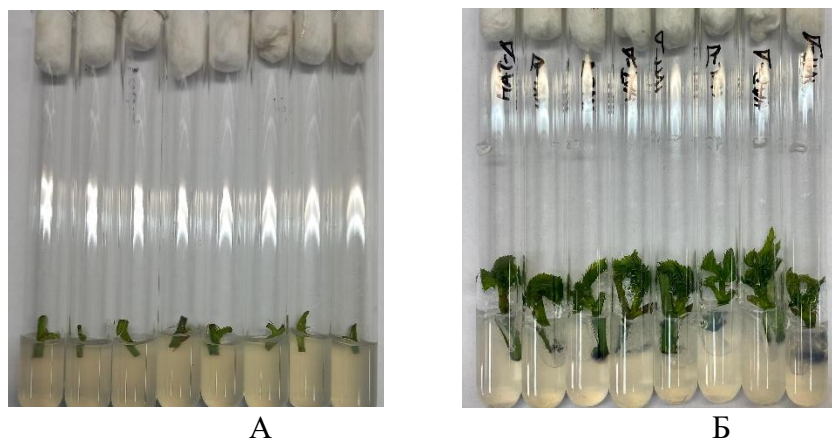
В

А- срезанные побеги ежевики; Б- подготовка эксплантов для стерилизации; В- этап стерилизации

**Рисунок 1 - Подготовка и стерилизация эксплантов растений ежевики**

В результате проведенных экспериментов было установлено, что в 1 варианте, где время выдержки эксплантов в 70% этаноле составляло 1 мин, а в 1% растворе гипохлорита натрия – 10 мин, выход стерильных эксплантов составил 30 – 40% процентов. Во 2 варианте, где экспозиция в 70% этаноле длилась 2 мин, а в 1% растворе гипохлорита натрия - 15 минут, выход стерильных эксплантов был выше и составил - 85 %. Третий вариант стерилизации оказался наиболее неподходящим, выживаемость эксплантов ежевики составила всего 20%. Очевидно, что воздействие стерилизующих агентов было слишком длительным и сильным, что привело к отмиранию тканей эксплантов. По результатам исследований второй способ стерилизации был выбран оптимальным и использован далее для стерилизации растительных эксплантов ежевики.

Для введения эксплантов в культуру *in vitro* проводили подбор состава оптимальной питательной среды. Экспланты ежевики культивировали на универсальной агаризованной питательной среде Мурасиге - Скуга (МС) с добавлением фитогормонов в разных комбинациях (Рисунок 2).



А-высаженные экспланты ежевики; Б- экспланты ежевики через 14 дней культивирования

**Рисунок 2** – Введение в культуру *in vitro* эксплантов ежевики

Всего было опробовано 3 варианта питательных сред:

Вариант 1. МС – 4,33 г/л, витамины 5 мг/л (В1, В2, В6, РР), сахароза 30 г/л, БАП (6-бензиламинопуридин) – 0,1 мг/л, агар – 7 г/л, рН=5,7.

Вариант 2. МС – 4,33 г/л, витамины 5 мг/л (В1, В2, В6, РР), сахароза 30 г/л, БАП (6-бензиламинопуридин) – 0,5 мг/л, НУК (нафтилуксусная кислота) – 0,1 мг/л, агар – 7 г/л, рН=5,7.

Вариант 3. МС – 4,33 г/л, витамины 5 мг/л (В1, В2, В6, РР), сахароза 30 г/л, БАП (6-бензиламинопуридин) – 1 мг/л, кинетин – 0,5 мг/л, агар – 7 г/л, рН=5,7.

Установлено, что наиболее ранние сроки для регенерации пазушных почек были отмечены на 9-10 сутки у всех сортов на питательной среде МС с добавлением 0,1 мг/л БАП, тогда как во 2 варианте, где концентрация БАП составила 0,5 мг/л и НУК – 0,1 мг/л, первичная регенерация почек была отмечена только на 16-18 сутки. В третьем варианте питательной среды, в которой содержались фитогормоны БАП и кинетин, у большинства эксплантов ежевики происходило образование каллуса.

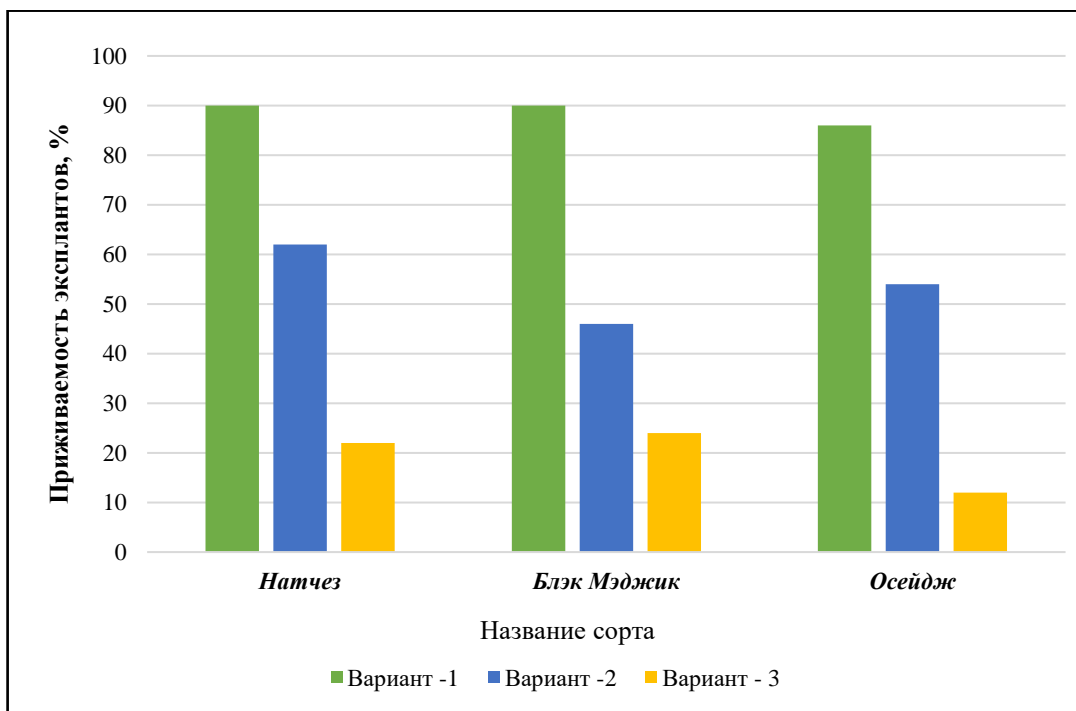
Приведенные данные, в таблице 1 показывают, что регуляторы роста оказывают существенное влияние на приживаемость эксплантов ежевики. В первом варианте опыта (В-1) приживаемость эксплантов *in vitro* у сортов ежевики Натчез и Блэк Мэдрик была выше, чем в остальных вариантах и составила 90%, у сорта Осейдж данный показатель находился в пределах 86%. Во втором варианте опыта (В-2) приживаемость эксплантов была ниже и составила у сорта ежевики Натчез 62%, у сорта Блэк Мэдрик 46%, у сорта Осейдж 54%. Выживаемость эксплантов в третьем варианте (В-3) питательной среды была самой низкой и

составила для ежевики Натчез 22%, для Блэк Мэджик 24%, а для сорта Осейдж 12% (таблица 1).

**Таблица 1** – Приживаемость эксплантов растений ежевики через 14 суток после помещения их на различные питательные среды

Название сорта	Приживаемость эксплантов, шт								
	Вариант -1			Вариант -2			Вариант - 3		
	Кол-во экспл., шт.	Кол-во прижившихся экспл.		Кол-во экспл., шт.	Кол-во прижившихся экспл.		Кол-во экспл. шт.	Кол-во прижившихся экспл.	
		шт.	%		шт.	%		шт.	%
Натчез	50	45±0,80	90	50	31±0,60	62	50	11±0,50	22
Блэк Мэджик	50	45±0,81	90	50	23±0,63	46	50	12±0,62	24
Осейдж	50	43±0,79	86	50	27±0,70	54	50	6±0,73	12

Таким образом, было установлено, что оптимальным вариантом для введения эксплантов ежевики в культуру *in vitro* является питательная среда МС с добавлением 0,1 мг/л БАП. На этой среде первая регенерация пазушных почек у всех сортов ежевики наблюдалась на 9-10 сутки. При этом приживаемость эксплантов была высокой для всех изучаемых сортов и составила от 86% до 90% (Рисунок - 3).



**Рисунок 3** – Динамика приживаемости растений ежевики в разных вариантах среды

На этапе мультипликации основная цель заключается в достижении максимального уровня размножения. Коэффициент размножения в культуре *in vitro* зависит от нескольких факторов: генотипа растения, состава питательной среды, физических условий культивирования, а также стабильности процесса размножения при субкультивировании микропобегов.

Совместное использование регуляторов роста БАП в сочетании с ГКЗ, ИУК или ИМК, может помочь достичь максимального размера и количества побегов у растений ежевики в культуре *in vitro*. Эти выводы подтверждаются результатами других исследований, которые демонстрируют аналогичные или даже более высокие показатели размножения с различными комбинациями гормонов. Гашенко О.А. и Фроловой Л.В. [11] установлено, что оптимальными условиями для микроразмножения ежевики сорта 'Стэфан' являются питательные среды с



добавлением 0,5 мг/л БАП и 1,0 мг/л ГКЗ, где коэффициент размножения достигает до  $4,73 \pm 0,18$ . Похожие результаты были получены Ивановым-Ханиным Л. В. [10] который определил, что для ежевики сортов 'Triple Crown' и 'Рубен' на этапе мультипликации оптимальным сочетанием гормонов являются 0,5 мг/л БАП и ГКЗ, что позволяет получить 1,6–2,2 побегов высотой 42,6–45,5 мм. Кефаяти и др. [7] в своих работах также показали высокую скорость размножения для сорта 'Chester Thornless' на среде с более высокой концентрацией БАП (2 мг/л) и добавлением 0,2 мг/л ИМК. В нашем исследовании похожие результаты для развития эксплантов были достигнуты при использовании сред с концентрациями БАП в 0,5 и 1 мг/л. Максимальная длина побегов была получена на среде с 0,5 мг/л БАП. Эти различия в результатах могут объясняться как различием в концентрациях гормонов, так и сортовыми особенностями и условиями питательных сред.

По полученным нами экспериментальным данным, процесс микроклонального размножения изучаемых сортов ежевики можно проводить через месяц после эксплантации почек. За этот период, в среднем, образуется 2–3 побега высотой 30–40 мм. Важно отметить, что при увеличении продолжительности культивирования возрастает риск механического повреждения побегов при извлечении их из пробирки.

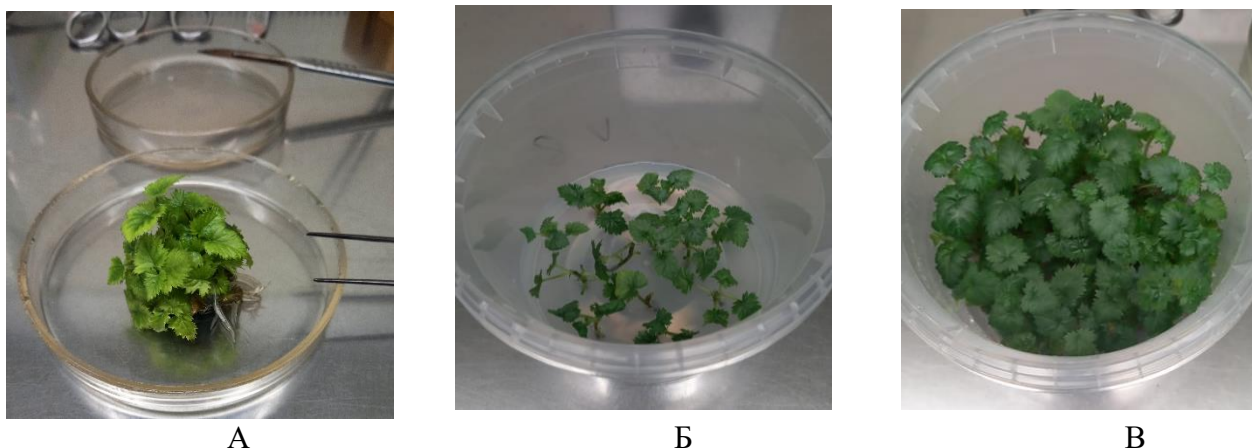
После разделения микропобегов на черенки с одной - двумя пазушными почками, культивирование осуществляли на питательных средах с добавлением БАП и ГКЗ в разных концентрациях (таблица 1).

**Таблица 2** – Влияние гормонального состава питательной среды на развитие микропобегов ежевики на этапе мультипликации (через 30 сут. культивирования)

Содержание и концентрация гормонов, мг/л	Название сорта	Высота побега, см	Количество побегов, шт.
БАП 0,5 ГКЗ 0,1	Натчез	$5,43 \pm 0,26$	$5,8 \pm 0,6$
	Блэк Мэдджик	$5,30 \pm 0,06$	$5,3 \pm 0,2$
	Осейдж	$5,27 \pm 0,30$	$5,7 \pm 0,5$
БАП 0,5 ГКЗ 0,3	Натчез	$5,36 \pm 0,58$	$5,2 \pm 0,4$
	Блэк Мэдджик	$4,07 \pm 0,12$	$4,8 \pm 0,2$
	Осейдж	$3,87 \pm 0,03$	$4,9 \pm 0,2$
БАП 0,5 ГКЗ 0,5	Натчез	$3,80 \pm 0,53$	$3,9 \pm 0,5$
	Блэк Мэдджик	$3,47 \pm 0,15$	$3,4 \pm 0,2$
	Осейдж	$3,87 \pm 0,03$	$3,1 \pm 0,4$
БАП 1,0 ГКЗ 0,5	Натчез	$3,92 \pm 0,04$	$2,9 \pm 0,5$
	Блэк Мэдджик	$3,45 \pm 0,15$	$2,5 \pm 0,2$
	Осейдж	$3,62 \pm 0,03$	$2,1 \pm 0,4$

Анализ полученных данных показал, что культивирование на питательной среде с добавлением БАП в концентрации 0,5 мг/л в комбинации с 0,1 мг/л ГКЗ, оказалось наиболее эффективным для увеличения высоты побегов и коэффициента размножения всех изучаемых нами сортов ежевики. Также получены хорошие результаты по высоте побегов для сорта Натчез (не менее  $5,36 \pm 0,58$  шт.) на питательной среде с добавлением БАП в концентрации 0,5 мг/л в комбинации с 0,3 мг/л ГКЗ, однако количество побегов были чуть ниже ( $5,2 \pm 0,45$  шт.). Повышение концентрации ГКЗ до 0,5 мг/л, как и повышение концентрации БАП, не оказывало существенного влияния на высоту и количество сформировавшихся побегов. Кроме того, было установлено, что растения на этих вариантах среды становились более мелкими и не пригодны для дальнейшего размножения. На рисунке 4. показан этап размножения ежевики в культуре тканей.

Таким образом, на этапе микроклонального размножения наилучшие результаты показал вариант №1, где в состав питательной среды входили 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГКЗ. Этот вариант позволял получить в среднем 5,3–5,8 побега высотой 5,27–5,43 см.



А – готовое к черенкованию микрорастение; Б – культивирование микрочеренков на 3 день после высадки; В - микрорастения через 25-30 дней

**Рисунок 4** - Микрклональное размножение растений ежевики

### **Выводы**

В результате проведенных исследований был оптимизирован протокол стерилизации растительного материала для введения в культуру *in vitro*. Определен наиболее эффективный состав питательных сред для этапов введения и культивирования эксплантов ежевики. Установлены оптимальные концентрации гормонов для микрклонального размножения ежевики сортов Натчез, Блэк Мэджик и Осейдж.

Наиболее эффективным способом стерилизации растительных эксплантов ежевики является вариант, где экспозиция в 70% этаноле длилась 2 мин, а в 1% растворе гипохлорита натрия - 15 минут. Выход стерильных эксплантов на данном варианте составляет 85%. Оптимальной питательной средой для культивирования эксплантов в культуре *in vitro* трех сортов ежевики - Натчез, Блэк Мэджик и Осейдж является среда МС с добавлением 0,1 мг/л 6-БАП. Выживаемость эксплантов ежевики на этой питательной среде составляет 90% для сортов Натчез и Блэк Мэджик, для сорта Осейдж данный показатель на уровне 86%. По результатам исследования наиболее результативным для увеличения коэффициента микрклонального размножения изучаемых сортов ежевики в условиях *in vitro* является среда МС, содержащая 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л и ГК3 в концентрации 0,1 мг/л, что позволило получить в среднем, 5,3–5,8 побегов высотой 5,27–5,43 см.

Полученные в данном исследовании результаты отличаются новизной и имеют важную практическую ценность, так как проведены на ранее не изученных, с точки зрения оптимизации условий введения в культуру *in vitro* и эффективного микрклонального размножения, перспективных сортов ежевики. Разработанные протоколы могут быть в дальнейшем применены для развития промышленного производства элитного посадочного материала данных сортов на базе биотехнологических лабораторий в питомниках, а также для проведения научных исследований этой культуры в области клеточной биологии.

**Благодарность:** Исследование проводилось в рамках научно-технической программы ИРН: BR21881942 «Разработка биотехнологических подходов для контроля фитопатогенов с целью повышения продуктивности сельскохозяйственных культур».

### **Список литературы**

1. Подорожный В.Н. Беспалерно-кустовая технология хранения сортов ежевики – росяники плетевидной в коллекционных посадках крымской осс филиала вир. // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2019. - 180(2). – С.12-17.
2. Кухарчик Н. Получение посадочного материала плодовых и ягодных растений *in vitro* //Наука и инновации. – 2019. – №. 6. – С. 17-21.
3. Собралиева Э. А., Палаева, Д. О., Батукаев, М. С., & Батукаев, А. А. // Состояние изученности микрклонального размножения плодово-ягодных культур и винограда (обзор



литературы) / Инновационная деятельность как фактор развития агропромышленного комплекса в современных условиях: мат-лы II Междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию ФГБНУ " Чеченский НИИСХ". Грозный. – 2020. – С. 100.

4. Грюнер Л.А., Кулешова О.В. Актуальные направления селекции и новые элитные формы ежевики генофонда ВНИИСПК // Современное садоводство. 2018. № 3 (27). С. 81–89.

5. Кухарчик Н., Кастрицкая М., Семенов С. // Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro*. – Litres, - 2021. - С. 33-44.

6. Кондратьева О. В., Слинко О. В., Федоров А. Д. Получение качественного посадочного материала плодово-ягодных культур //Ресурсосберегающие технологии в агропромышленном комплексе России. – 2020. – С. 201-205.

7. Kefayeti, N.; Kafkas, E.; Erçili, S. // Micropropagation of 'Chester thornless' Blackberry Cultivar using Axillary Bud Explants. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca, 47, - 2019. – P. 162–168.

8. С.Г. Долгих, Б.Ж. Кабылбекова Перспективы производства сертифицированного посадочного материала плодовых культур в Казахстане// Журнал КазНАУ, «Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты». - 2023. – №2 (98). - С. 133-143.

9. Долгих С.Г. Технология производства безвирусного посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда (Рекомендации). – 2020.- 57 с.

10. Иванова-Ханина Л. В. Влияние гормонального состава питательной среды на интенсивность роста ежевики *in vitro* // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. Том 4 (70). - 2019. – № 4. – С. 51–59.

11. Гашенко О.А., Фролова Л.В. // Размножение ежевики сорта Стэфан в культуре *in vitro*. Плодоводство. – 2019. – 31(1). – С. 144-149.

12. Гашенко О.А., Кухарчик Н.В. // Результативность микрочеренкования растений-регенерантов ежевики в условиях *ex vitro*. Плодоводство. – 2021. – №33. – С. 120-124.

13. Ладыженская О.В., Симахин М.В., Крючкова В.А. // Размножение ежевики Black Gem корневыми черенками // Вестник КрасГАУ. 2023. – № 9. – С. 33-39.

14. Baghdady, G. A. // In Vitro Propagation of Blackberries (*Rubus* sp) Prime-Ark 45 Cultivar. Annals of Agricultural Science, Moshtohor, - 2021. – 59(2). – P. 287-294.

15. Kornatskiy S. A. New approaches to micropropagation of raspberry // Acta Horticulturae - July 2020. P. 113-116.

## References

1. Podorozhnyj V.N. Besshpalerno-kustovaya tekhnologiya hraneniya sortov ezheviki – rosyanski pletevidnoj v kollekcionnyh posadkah krymskoj oss filiala vir. // Trudy po prikladnoj botanike, genetike i selekcii. – 2019. - 180(2). – S.12-17.

2. Kuharchik N. Poluchenie posadochnogo materiala plodovyh i yagodnyh rastenij in vitro //Nauka i innovacii. – 2019. – №. 6. – S. 17-21.

3. Sobralieva E. A., Palaeva, D. O., Batukaev, M. S., & Batukaev, A. A. // Sostoyanie izuchennosti mikroklonal'nogo razmnozheniya plodovo-yagodnyh kul'tur i vinograda (obzor literatury) / Innovacionnaya deyatel'nost' kak faktor razvitiya agropromyshlennogo kompleksa v sovremennyh usloviyah: mat-ly II Mezhdunar. nauch. konf., posvyashch. 75-letiyu FGBNU " SHechenskij NIISKH". Groznyj. – 2020. – S. 100.

4. Gryuner L.A., Kuleshova O.V. Aktual'nye napravleniya selekcii i novye `elitnye formy ezheviki genofonda VNIISPК // Sovremennoe sadovodstvo. 2018. № 3 (27). S. 81–89.

5. Kuharchik N., Kastrickaya M., Semenas S. // Razmnozhenie plodovyh i yagodnyh rastenij v kul'ture in vitro. – Litres, - 2021. - S. 33-44.

6. Kondrat'eva O. V., Slin'ko O. V., Fedorov A. D. Poluchenie kachestvennogo posadochnogo materiala plodovo-yagodnyh kul'tur //Resursosberegayushchie tekhnologii v agropromyshlennom komplekse Rossii. – 2020. – S. 201-205.

7. Kefayeti, N.; Kafkas, E.; Erci, S. // Micropropagation of 'Chester thornless' Blackberry Cultivar using Axillary Bud Explants. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca, 47, - 2019. – R. 162–168.
8. S.G. Dolgih, B.ZH. Kabyzbekova Perspektivy proizvodstva sertifikirovannogo posadochnogo materiala plodovyh kul'tur v Kazahstane// ZHurnal KazNAU, «Izdenister, nətizheler – Issledovaniya, rezul'taty». - 2023. – No2 (98). - С. 133-143.
9. Dolgih S.G. Tekhnologiya proizvodstva bezvirusnogo posadochnogo materiala plodovyh, yagodnyh kul'tur i vinograda (Rekomendacii). – 2020.- 57 s.
10. Ivanova-Hanina L. V. Vliyaniye gormonal'nogo sostava pitatel'noj sredy na intensivnost' rosta ezheviki in vitro // Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo Biologiya. Himiya. Tom 4 (70). - 2019. – № 4. – S. 51–59.
11. Gashenko O.A., Frolova L.V. // Razmnozhenie ezheviki sorta Stefan v kul'ture in vitro. Plodovodstvo. – 2019. – 31(1). – S. 144-149.
12. Gashenko O.A., Kuharchik N.V. // Rezul'tativnost' mikrocherenkovaniya rastenij-regenerantov ezheviki v usloviyah ex vitro. Plodovodstvo. – 2021. – №33. – S. 120-124.
13. Ladyzhenskaya O.V., Simahin M.V., Kryuchkova V.A. // Razmnozhenie ezheviki Black Gem kornevymi cherenkami // Vestnik KrasGAU. 2023. – № 9. – S. 33-39.
14. Baghdady, G. A. // In Vitro Propagation of Blackberries (Rubus sp) Prime-Ark 45 Cultivar. Annals of Agricultural Science, Moshtohor, - 2021. – 59(2). – R. 287-294.
15. Kornatskiy S. A. New approaches to micropropagation of raspberry // Acta Horticulturae - July 2020. P. 113-116.

**Б.К. Тезекбаева<sup>\*1,2</sup>, А. Хасейн<sup>1,2</sup>, А.К. Хансейтова<sup>1</sup>, Г.Л. Есенбаева<sup>2</sup>,  
М. Георгиева<sup>3</sup>, Н.П. Малахова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>М.А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты» ҚР  
ҒЖБМ ҒК, Алматы, Қазақстан, [bota151283@mail.ru](mailto:bota151283@mail.ru)\*, [leogold24@mail.ru](mailto:leogold24@mail.ru),  
[khanseitova@mail.ru](mailto:khanseitova@mail.ru), [tasha\\_malakhova@mail.ru](mailto:tasha_malakhova@mail.ru)

<sup>2</sup>Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті КЕАҚ, Алматы, Қазақстан,  
[Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz](mailto:Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz)

<sup>3</sup>Таулы мал шаруашылығы және егіншілік ғылыми-зерттеу институты, Троян қ.  
Ауылшаруашылық академиясы, София, Болгария, [mariageo@gmail.com](mailto:mariageo@gmail.com)

## **БӨРТКЕН ӨСІМДІГІН (*RUBUS L.*) *IN VITRO* ЖАҒДАЙЫНА ЕНГІЗУ ЖӘНЕ МИКРОКЛОНАЛДЫ КӨБЕЮТҮ ШАРТТАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ**

### **Аңдатпа**

Мақалада Натчез, Блэк Мэджик және Осейдж бөрткен өсімдігінің үш перспективті сорттарын *in vitro* культурасына енгізу және микроклонды көбеюін оңтайландыру эксперименттерінің нәтижелері берілген. Зерттеу нәтижесінде эксплант ретінде қолтық асты бүршіктерін *in vitro* культурасына енгізу үшін жағдайлар оңтайландырылды. Өсімдік материалы әртүрлі құрамдағы 5-6 тамшы Tween-20 қосу арқылы 70% этанол және натрий гипохлоридінің ерітіндісін қолданып, экспланттарды сабын ерітіндісімен өңдеуді қамтитын химиялық агенттермен зарарсыздандырылды. 70% этанолға 2 минут және 1% натрий гипохлорид ерітіндісіне 15 минут ұстағанда зарарсыздандырылған экспланттардың шығымы 85% болатыны анықталды. Қоректік орта ретінде фитогормондардың әртүрлі комбинациялары бар Мурасиге-Скуг ортасы пайдаланылды. Экспланттарды *in vitro* культурасында өсіру үшін оңтайлы қоректік орта 0,1 мг/л 6-БАП қосылған MS қоректік орта болып табылады, бұл бөрткен экспланттарының 86%-дан 90%-ға дейін тіршілігін қамтамасыз етті. Микроклондық көбею нәтижелері бойынша, *in vitro* зерттелген бөрткен сорттарының коэффициентін арттыру үшін ең тиімдісі 0,5 мг/л 6-БАП және 0,1 мг/л ГКЗ бар MS ортасы болып табылады, ол орта есеппен биіктігі 5,27-ден 5,43 см-ге дейінгі 5,3-5,8 өскінді береді.

**Кілт сөздер:** бөрткен, *in vitro* культура, сорт, экспланттар, өсіру ортасы, микроклонды көбею, фитогормондар.

**B.K. Tezekbayeva<sup>\*1,2</sup>, A. Khassein<sup>1,2</sup>, A. Khanseitova<sup>1</sup>, G.L. Yessenbayeva<sup>2</sup>,  
M. Georgieva<sup>3</sup>, N.P. Malakhova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry CS MSHE RK, Almaty, Kazakhstan, [bota151283@mail.ru](mailto:bota151283@mail.ru), [leogold24@mail.ru](mailto:leogold24@mail.ru), [khanseitova@mail.ru](mailto:khanseitova@mail.ru), [tasha\\_malakhova@mail.ru](mailto:tasha_malakhova@mail.ru)

<sup>2</sup>NAO "Kazakh National Agrarian Research University" Almaty, Kazakhstan, [Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz](mailto:Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz)

<sup>3</sup>Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan, Agricultural Academy, Sofia, Bulgaria, [mariageo@gmail.com](mailto:mariageo@gmail.com)

## OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR IN VITRO CULTURE AND MICROCLONAL PROPAGATION OF BLACKBERRY (*RUBUS L.*) PLANTS

### Abstract

This article presents the results of experiments on optimizing the stages of *in vitro* culture introduction and microclonal propagation of three promising varieties of blackberry plants -Natchez, Black Magic and Osage. As a result of the study, conditions for introducing axillary buds used as explants for *in vitro* culture were optimized. The plant material was sterilized with chemical agents, including treatment of the explants with a soap solution, solution of 70% ethanol and sodium hypochloride with the addition of 5-6 drops of Tween-20 in various compositions. It was found that when exposed to 70% ethanol for 2 minutes and 1% sodium hypochloride solution for 15 minutes, the yield of sterile explants contains 85%. Murashige-Skoog medium with various combinations of phytohormones was used as a nutrient medium. The optimal nutrient medium for cultivating explants *in vitro* was MS medium with the addition of 0.1 mg/l 6-BAP, which ensured the survival rate of blackberry explants in the experiment from 86% to 90%. It was found that the most optimal for increasing the coefficient of microclonal propagation of the studied blackberry varieties *in vitro* is the MS medium with 0.5 mg/l 6-BAP and 0.1 mg/l GA3.

**Key words:** blackberry, *in vitro* culture, variety, explants, nutrient medium, microclonal propagation, phytohormones.

МРНТИ 68.37.13:68.37.29

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2024/32>

**Б.К.Момбаева<sup>\*1</sup>, Н.Т.Туменбаева<sup>2</sup>, А.С.Мендигалиева<sup>3</sup>, Р.М.Бакесова<sup>3</sup>,  
Г.Т.Абышева<sup>2</sup>, В.Б.Харизанова<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> М.Х. Дулати атындағы Тараз өңірлік университеті, Тараз, Қазақстан, [bekzat.mombaeva@mail.ru](mailto:bekzat.mombaeva@mail.ru)\*

<sup>2</sup> С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті" КеАҚ, Астана, Қазақстан, [nagi\\_kosi@mail.ru](mailto:nagi_kosi@mail.ru)

<sup>3</sup> Батыс Қазақстан инновациялық-технологиялық университеті, Орал қаласы, Қазақстан, [ayash\\_mendigali@mail.ru](mailto:ayash_mendigali@mail.ru)

<sup>4</sup> Аграрный университет, Пловдив, Болгария, [vili@au-plovdiv.bg](mailto:vili@au-plovdiv.bg)

## РАПС ДАҚЫЛЫНЫҢ ЖАПЫРАҚ ЗИЯНКЕСТЕРІНЕ ҚАРСЫ КҮРЕСУ ШАРАЛАРЫН ҰЙЫМДАСТЫРУДЫҢ НЕГІЗДЕРІ

### Аңдатпа

Мақалада рапс дақылының вегетативті мүшелері жапырақ зиянкестеріне қарсы күресу шараларын ұйымдастырудың негіздері қарастырылған. Далалық тәжірибелер 2022-2024 жылдары Жамбыл облысы, Т.Рысқұлов ауданының «Берік» ШҚ -да жүргізілді. Зерттеудің