

ПОДБОР НЕТРАДИЦИОННЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ИНТЕНСИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОРОШАЕМЫХ ЗЕМЕЛЬ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ БИОКЛИМАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗОН ВЫРАЩИВАНИЯ

Аннотация

Представлены результаты исследований подбора нетрадиционных культур для интенсивного использования орошаемых земель в зависимости от биоклиматического потенциала зон выращивания. Оценка гидротермических условий юго-востока Казахстана, расчеты потребности сельскохозяйственных культур в сумме активных температур и фактические суммы положительных, активных температур и результаты полевых исследований показали, что в условиях Алматинской, Жетысуской, Жамбылской и Туркестанской областей при внедрении новых ресурсосберегающих технологий можно получать в год два урожая сельскохозяйственных культур.

Рост и накопление надземной массы яровых основных культур – овса и гороха идет медленно по сравнению с культурами озимого посева. Кустистость овса составила всего 6 шт., тогда как у культур озимого посева кустистость доходила до 15-16 шт. Тритикале в фазу колошения набирает высоту в среднем 108 см, а рапс 115 см. Самое максимальное накопление сырой и сухой массы (2664, 1243 гр.) наблюдается у культуры тритикале.

Урожайность зеленой массы озимых культур у рапса составила в среднем 584 ц/га, у тритикале - 554 ц/га. При совместных посевах овес и горох к началу фазы колошения и плодообразования набирают достаточную высоту: овес – 92 см, горох – 55 см, в результате набирают хорошую надземную зеленую массу – 4 230 и 1 490 граммов с одного квадратного метра. Биологический урожай зеленой массы совместного посева овса и гороха составил 572 ц/га.

Основные озимые культуры тритикале, рапс и на зеленую массу были убраны 15 и 17 мая и их урожайности зеленой массы в среднем составили 554 и 584 ц/га соответственно. Половина посевов рапса и тритикале были оставлены для дозревания до зерна. Эта часть посевов была убрана 07-10 июля, при этом средняя урожайность зерна рапса составила 24,5 ц/га, а озимого тритикале 62,0 ц/га. На контрольном варианте, где были проведены посевы озимого ячменя, средняя урожайность составила 56,6 ц/га.

Яровые посеы основных культур – совместный посев овса и гороха были убраны 10-12 июня, и общая урожайность зеленой массы составила 579 ц/га.

Ключевые слова: основные культуры, капельное орошение, биометрия, урожайность.

МРНТИ 68.35.53; 62.99.37; 68.37.31

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2024/10>

*Б.Ж. Кабылбекова*¹, Т.Н. Нурсеитова^{1,2}, З.Я. Юсупова¹, И.Ю. Ковальчук¹,
Н.И. Чуканова¹, М.В. Уразаева¹, А.К. Маденова³*

¹*«Казахский научно-исследовательский институт плодородия», Алматы, Казахстан, k_b_zh@mail.ru*, zarina19851005@mail.ru, kovalchuk_i_u@mail.ru, chukanova_n_i@mail.ru, marina_4069@mail.ru*

²*Казахский национальный педагогический университет имени Абая, Алматы, Казахстан, n.toigul_90@mail.ru*

³*Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан, madenova.a@mail.ru*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР В КАЗАХСТАНЕ И ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO* ЗДОРОВЫХ РАСТЕНИЙ

Аннотация

Одной из важных задач питомниководства в Казахстане является необходимость производства не только рядового, а безвирусного сертифицированного посадочного материала. Первым шагом в этом направлении с целью перевооружения садоводства в республике является закладка исходных маточных насаждений безвирусным посадочным материалом. Решение этих вопросов стало возможным с разработкой и внедрением биотехнологических систем в питомниководство. В статье представлены состав вирусных болезней клоновых подвоев косточковых культур в Казахстане и результаты усовершенствования протокола их клонального микроразмножения на различных этапах. Коллекция клоновых подвоев для сливы, абрикоса и персика, состоящая из 9 генотипов, протестирована на наличие 7 вирусов. Согласно результату ПЦР анализа, клоновые подвои свободны от вирусных болезней, а у формы №3 дикорастущего абрикоса *P. armeniaca* обнаружен вирус Plum rox potyvirus (PPV).

Свободные от основных вирусов растения вводили в асептическую культуру *in vitro*. Проведенные эксперименты показали, что побеги подвоев косточковых культур эффективно стерилизовать от сапрофитной микрофлоры 0,2% HgCl₂ в экспозиции 3 и 4 минуты. В этом случае количество способных регенерировать составляет 70% и 80%. Лучшей для введения эксплантов является питательная среда МС– 0,2-0,4 мг/л БАП, 2,0 мг/л аскорбиновой кислоты, 0,5мг/л В₁, 0,5мг/л В₆, 0,5 мг/л РР и 30 мг/л сахарозы. Оптимальная среда для клонального размножения *in vitro* – МС с содержанием витаминов 0,1 мг/л В₁, 0,5 мг/л В₆, 0,5 мг/л РР, 1 мг/л С, 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 0,8 мг/л 6-БАП. У эксплантов, культивируемых на этой среде отмечено хорошее развитие конгломератов, высота побегов в пределах 1,5-2,5 см. В культуру *in vitro* введены и размножены 7 клоновых подвоев косточковых культур свободных от вирусных инфекций.

Ключевые слова: клоновые подвои, косточковые культуры, вирусы, биотехнология, размножение *in vitro*, питательная среда, безвирусный материал.

Введение

Главное направление в развитии мирового плодоводства – закладка садов интенсивного типа. Важнейшим фактором, определяющим продуктивность, долговечность и рентабельность интенсивных насаждений является исходное качество посадочного материала. Невозможно добиться высокой продуктивности насаждений такого типа, не используя для его закладки клоновых подвоев и конкурентоспособный оздоровленный посадочный материал, соответствующий мировым стандартам. Здоровый посадочный материал является основой для получения высоких урожаев. В связи с необходимостью интенсификации садоводства, наряду с интенсивными сортами и подвоями, актуальна разработка и внедрение современных высокоэффективных биотехнологических систем размножения, диагностики и оздоровления растений от основных вредоносных вирусов. Безвирусное питомниководство невозможно представить без клонального размножения *in vitro*. С помощью культуры меристем и методов оздоровления *in vitro* можно создать безвирусные рабочие коллекции коммерчески и хозяйственно-биологически ценных генотипов в условиях среднесрочного и долгосрочного хранения, а также размножить подвои и сорта в большом количестве за короткие сроки [1-2].

Селекция клоновых подвоев косточковых культур началась не так давно [3]. Успешные селекционные программы для косточковых культур ведутся в Испании [7-8], Германии [4], России [5], Великобритании [6], США [7], Румынии [8] и в других странах. Получение новых клоновых подвоев сливы и абрикоса направлено на высокопродуктивность, адаптивность, скороплодность, устойчивость к вредителям, вирусным и другим болезням, совместимость с сортами и обеспечение их низкорослости. На сегодняшний день в мире распространены

клоновые подвои американской селекции серии Myrobalan, Myrobalan 29С, Marianna Plum, Marianna 2624, испанской селекции Pollizo, Adara, Adesoto 101, Montizo, Monpol, Admir, Krymsk 1 российской селекции, St. Julien английской, Torinel французской селекции [9].

В Казахстане изучение клоновых подвоев косточковых культур начаты в 2015 году. На базе Казахского НИИ плодовоовощеводства. Заложены маточники подвоев российской селекции [10]. Для оценки адаптивности подвоев в условиях Алматинской области с 2015 по 2023 годы были изучены продуктивность и ростовые процессы в полевых условиях. За вегетационный период 2021-2022 годов выявлены формы подвоев для сливы, персика, абрикоса с лучшей продуктивностью маточных кустов: ВСВ-1, Дружба (196-224 тыс.шт./га). Выход стандартных отводков за сезон (за 9 месяцев) составил 57% и 75%. [11]. Многие клоновые подвои косточковых культур плохо размножаются или вообще не размножаются традиционным способом (вертикальными отводками) поэтому проводятся исследовательские работы по зеленому, полуодревесневшему и одревесневшему черенкованию. Количество полученных таким способом подвоев крайне невелико и не удовлетворит возросшие в них потребности. Кроме того, не гарантировано, что подвои будут свободны от вредоносной вирусной инфекции, что может привести к инфицированности и произведенных саженцев.

Высокий спрос производства на низкорослые клоновые подвои косточковых культур свободных от вирусной инфекции вызвал необходимость ускоренного получения не только рядового, а сертифицированного посадочного материала. Первым шагом в этом направлении является закладка исходных маточных насаждений безвирусным посадочным материалом. В представленных исследованиях определен состав вирусных болезней в маточных насаждениях косточковых культур и оптимизированы методы клонального микроразмножения, выявленных здоровых растений.

Методы и материалы

Объекты исследований. Семь клоновых подвоев косточковых культур селекции Крымской опытной станции (Россия) и одна форма английской селекции, а также 1 форма семенного подвоя аборигенного дикорастущего абрикоса (*Prunus armeniaca*).

Диагностика наличия вируса. Работы выполнены в лаборатории микроклонального размножения растений КазНАИУ. Проведено тестирование на следующие вирусы, указанные в стандартах ЕРРО [12]:

1. Apple chlorotic leaf spot trichovirus (ACLSV).
2. Apple mosaic ilarvirus (ApM).
3. Cherry green ring mottle foverivirus (CGRMV)
4. Myrobalan latent ringspot nepovirus (MLRSV)
5. Plum pox potyvirus (PPV)
6. Prune dwarf ilarvirus (PDV)
7. Prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV)

На выделение РНК были использованы реагенты от Российской компании ООО «Синтол» <http://www.syntol.ru>. Набор реагентов «ФитоСорб» предназначен для выделения нуклеиновых кислот (НК) из растительного материала. Набор также может использоваться для выделения НК фитопатогенов из растительного материала- вирусов, вирионов, бактерий и др. Для гомогенизации подходят все части растения – листья, корень, стебель и т. д.. Синтез ДНК на матрице РНК посредством обратной транскрипции производит комплементарную ДНК (кДНК). Обратные транскриптазы (RT) используют шаблон РНК и короткий праймер, комплементарный 3'-концу РНК, чтобы индуцировать синтез первой цепочки кДНК, которая может быть использована непосредственно в качестве матрицы для полимеразной цепной реакции (ПЦР). Постановка реакции обратной транскрипции и ПЦР-РВ осуществлялась в специальных приборах «Rotor Gene» (Qiagen).

Таблица 1 - Программа для ПЦР-РВ

Шаг	Темп., °C	Время	Детекция	Красители	Повторов
Hold		15 mins	No acquiring		1
		5 mins	No acquiring		1
Cycling		15 secs	No acquiring		50
		40 secs	Acquiring	FAM/Green JOE/Yellow	

На выявление вирусов PPV, PDV PNRSV были использованы реагенты от фирмы «LETGEN BIYOTEKNOLOJI LABORATUVAR LTD.STI» www.letgenbio.com. Набор от LETGEN содержит праймеры PPV, а его зонд основан на TaqMan технологии. В частности, праймеры и зонд представляют собой 100% гомологию с более чем 95% эталонных последовательностей базы данных NCBI, доступных на момент разработки. Компоненты ПЦР-РВ (таблица 2).

Таблица 2 - Компоненты набора для ПЦР-РВ (Подготовка ПЦР-РВ MasterMix)

№ п/п	Реагент	Объем (мкл) e.g.n=10	
1	qPCR MasterMix	10	100
2	Primer-Probe Mix	2	20
3	RTase Mix	1	10
4	Water	2	20
Total Master-Mix		16	160
PHK (ОКО/ПКО)		4	
Total Reaction		20.0	

На выявление вирусов таких, как ACLSV, ApMV, ASGV были использованы реагенты фирмы «LOEWE® Biochemica GmbH» www.loewe-info.com.

Культура in vitro. Введение в культуру *in vitro* проводили в период активного роста растений клоновых подвоев (апрель-май).

Для стерилизации апикальных верхушек растений (1-3 см) использовали 0,2% HgCl₂, водный раствор отбеливающего средства «Белизна» (1:2, 1:5) и 3% перекись водорода в разных концентрациях и экспозициях. В ламинарном боксе кончики побегов промывали трижды стерильной дистиллированной водой. После стерилизации, экспланты культивировали в Magenta, каждая с 25 мл питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) [13] Для введения использовали модифицированную нами среду МС: 30 г/л сахара, 12мг/л Fe, 100 мг/л мезоинозит; витамины: 0,5 мг/л В1, 0,5 мг/л В6, 0,5 мг/л РР, 1,5 мг/л С; 2,0 мг/л аскарбиновая кислота, 0,1 мг/л ИМК, 0,2 мг/л БАП. Для клонального микроразмножения после деконтаминации испытывали среды МС и Quoirin M. и Lepoivre P.H. (QL) [14] с различными добавками.

Схема эксперимента по определению влияния регуляторов роста растений в питательной среде для клонального микроразмножения *in vitro* следующая (мг/л):

1. QL – 1,8 БАП; 0,2 ГК; 1,0 ИМК;
2. QL – 1,0 БАП; 0,5 ГК; 0,1 ИМК;
3. МС с N75 % – 0,5 БАП ; 0,2 ГК, ИМК, 100 мезоинозит;
4. МС – 0,8 БАП; 0,3 или 0,1 ГК; 0,1 ИМК, 100 мезоинозит.

Питательные среды разливали в культуральные сосуды по 40 мл и стерилизовали автоклаве (ТЮМЕНЬ, ВК-75-01) при давлении 0,8-1,0 атмосфер в течение 25 мин. Наблюдения за растениями, введенными *in vitro*, проводили через 30 суток (продолжительность одного пассажа), при этом учитывали число живых, погибших и инфицированных эксплантов. Коэффициент размножения средний за 1 пассаж для каждого генотипа высчитывали по формуле:

$$P = a/b \cdot c$$

a – количество вновь образовавшихся побегов;

б – количество побегов, высаженных для размножения;

с – количество пассажиров.

Результаты и обсуждение

Коллекция клоновых подвоев КазНИИПО для сливы, абрикоса и персика, состоящая из 9 генотипов, протестирована на наличие семи вирусов: Apple chlorotic leaf spot trichovirus (ACLSV); Apple mosaic ilarvirus (ApMV); Cherry green ring mottle fuverivirus (CGRMV); Myrobalan latent ringspot nepovirus (MLRSV); Plum pox potyvirus (PPV); Prune dwarf ilarvirus (PDV); Prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV) (таблица 3).

Таблица 3 - Диагностика полевой коллекции клоновых подвоев для сливы, абрикоса и персика на основные вирусные болезни

№ п/п	Наименование подвоя	Внутренняя РНК контроль Ø Ct	Вирусы						
			ACLSV	ApMV	PPV	PDV	PNRSV	CGRMV	MLRSV
1	<i>P. armeniaca</i> Форма #3	19,426	-	-	35,61	-	-	-	-
2	BCB-1	28,004	-	-	-	-	-	-	-
3	BBA-1	22,434	-	-	-	-	-	-	-
4	St. Julian	25,941	-	-	-	-	-	-	-
5	Фортуна	25,395	-	-	-	-	-	-	-
6	Дружба	22,918	-	-	-	-	-	-	-
7	Кубань 86	20,426	-	-	-	-	-	-	-
8	Пумиселект	18,637	-	-	-	-	-	-	-
9	Эврика-99	-	-	-	-	-	-	-	-

Ø Ct – среднее пороговое значение цикла ПЦР-РВ; ACLSV - *Apple Chlorotic leaf spot virus*; ApMV - *Apple mosaic virus*; PPV - *Plum pox potyvirus*; PDV - *Prune dwarf virus*; PNRSV - *Prunus necrotic ringspot virus*; CGRMV - *Cherry green ring mottle virus*; MLRSV - *Myrobalan latent ringspot virus*.

Согласно результату ПЦР анализа, у формы №3 дикого абрикоса *P. armeniaca* обнаружен вирус PPV «шарка». На остальных клоновых подвоях вирусы не обнаружены, и они введены в культуру тканей для клонального микроразмножения и создания базисной *in vitro* коллекции.

В качестве первичного экспланта использовали, верхушечные почки побегов, с меристематическими тканями, которые после стерилизации помещали на питательные среды, содержащие цитокинин.

Выбор препарата для поверхностной стерилизации от микрофлоры играет важную роль, так как качество стерилизации растительного материала в культуре *in vitro* во многом определяет весь процесс клонального микроразмножения. Многие ученые рекомендуют при стерилизации апексов применять HgCl₂ в различной концентрации или активный хлор [15]. Другие исследователи рекомендуют менее агрессивные препараты: Ca(ClO)₂ [16], дезинфицирующее средство септодор-форте и фосфопагиль, ступенчатую стерилизацию: 70%-ный этанол, 1%-ный раствор Thimerosal и 0,08% раствор нитрата серебра [17].

В наших исследованиях испытывали двухступенчатую стерилизацию эксплантов с разным сочетанием препаратов и их дозировок – 0,2% HgCl₂, хлорсодержащего отбеливателя «Белизна» и 3% перекиси водорода (H₂O₂). После стерилизации экспланты промывали 3 раза по 5 мин. стерильной дистиллированной водой. Эксперименты проводились с подвоем Дружба (таблица 4).

Таблица 4 - Стерилизация верхушечных меристем клонового подвоя Дружба от сапрофитной микрофлоры

№	Стерилизующие препараты	Время экспозиции, мин	Количество введенных апексов, шт	Инфицировано, шт	Некроз, шт	Способные к регенерации	
						шт	%
1	0,2% HgCl ₂	3,0	20	9	5	6	30
2	0,2% HgCl ₂	3,5	20	2	4	14	70
3	0,2% HgCl ₂	4,0	20	2	2	16	80
4	0,2% HgCl ₂	5,0	20	1	12	7	35
5	Белизна + H ₂ O (1 : 2)	4,0	20	8	4	8	40
6	Белизна + H ₂ O (1 : 5)	5,0	20	3	13	4	20
7	3% H ₂ O ₂ (1:1)	8	20	14	4	2	10
8	3% H ₂ O ₂ (1:2)	10	20	11	5	4	20

При стерилизации растительного материала 0,2%HgCl₂ в экспозиции 3,5-4,0 мин. было получено 70-80 % чистых апексов. Снижение экспозиции до 2-х мин. повышало инфицированность, а увеличение экспозиции до 5-6 минут приводило к полной гибели эксплантов из-за химического ожога. Хлорсодержащий отбеливатель «Белизна» и 3% перекись водорода приводили к низкому проценту выживания.

Для инициации регенерации, роста и размножения микропобегов *in vitro* проводили испытания различных регуляторов роста и их концентраций на основе среды МС. Исследования показали, что правильно подобранная концентрация цитокининов увеличивает процент регенерирующих побегов. Увеличение в среде БАП до 1,2-1,8 мг/л приводит к витрификации растений и образованию каллуса. Для введения в культуру *in vitro* подвоев косточковых культур, оптимально содержание в среде МС – 0,2-0,4 мг/л БАП, 2,0 мг/л аскорбиновой кислоты, 0,5мг/л В₁, 0,5мг/л В₆, 0,5 мг/л РР и 30 мг/л сахарозы (таблица 5).

Таблица 5 - Введение в культуру *in vitro* подвоев косточковых культур

Название подвоев	Введенные апексы, шт	Способные к регенерации		Ошибка среднего показателя (±)
		шт	%	
Фортуна	45	16	35,6	1,20
Пумиселект	45	19	42,2	0,67
Кубань-86	45	17	37,8	1,20
ВСВ-1	45	27	60,0	0,58
Эврика	45	26	57,8	0,88
Дружба	45	35	77,8	1,45
St. Julian	45	12	26,7	0,58
ВВА-1	45	15	33,3	0,58

Наиболее высокий процент способных к регенерации апексов был отмечен у подвоев Дружба и Эврика, а самый низкий у подвоя St. Julian.

Вторым этапом исследований явилось микроклональное размножение *in vitro*. На этапе активации ростовых процессов и клонального микроразмножения большую роль играет состав и концентрация минеральных, гормональных составляющих питательных сред. Определенную роль также играют генотипические особенности растений [18]. Главной задачей на этапе микроразмножения является получение наибольшего количества качественных побегов от каждого экспланта в определённый отрезок времени. Для максимального размножения микропобегов клоновых подвоев снижали апикальное доминирование и активировали рост пазушных почек при помощи цитокинина 6-БАП в различных концентрациях на средах с различным минеральным составом (таблица 6).

Таблица 6 - Влияние различного состава питательных сред на рост и размножение различных клоновых подвоев *in vitro* (мг/л)

Показатели	Варианты состава питательной среды	Фортуна	Пумиселект	Кубань-86	ВСВ-1	Эврика	Дружба	ВВА – 1
Длина основного побега, см	QL – 1,8 БАП; 0,2 ГК; 1,0 ИМК	0,5	1,0-1,2	0,5-0,8	0,5-0,8	1,0	1,0-1,5	1,0
	QL – 1,0 БАП; 0,5 ГК; 0,1 ИМК	1,2	2,5	1,0-1,5	1,0-1,5	1,5	1,5-2	1,3
	МС с N75 % – 0,5 БАП ; 0,2 ГК, ИМК, 100 мезоинозит	1,0	1,8-2,0	1,0	1,0	1,6	1,0-1,8	1,5
	МС – 0,8 БАП; 0,3 или 0,1 ГК; 0,1 ИМК, 100 мезоинозит	1,5	2,0-2,5	1,8	1,5-2	1,5-1,8	2,0	2,0
Количество побегов, шт	QL – 1,8 БАП; 0,2 ГК; 1,0 ИМК	4	5	4	6	5	6	8
	QL – 1,0 БАП; 0,5 ГК; 0,1 ИМК	8	9	6	10	10	12	5
	МС с N75 % – 0,5 БАП ; 0,2 ГК, ИМК, 100 мезоинозит	5	10	5	11	9	11	8
	МС – 0,8 БАП; 0,3 или 0,1 ГК; 0,1 ИМК, 100 мезоинозит	9	8	6	10	12	19	10

Определено, с увеличением концентрации БАП до 1,5-1,8 мг/л происходит разрастание эксплантов с образованием большого количества побегов, часть из которых витрифицирована. Для размножения клоновых подвоев наиболее эффективен вариант питательной среды МС с содержанием витаминов 0,1 мг/л В₁, 0,5 мг/л В₆, 0,5 мг/л РР, 1 мг/л С, а также 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 0,8 мг/л 6-БАП. У эксплантов, культивируемых на этой среде отмечено хорошее развитие конгломератов, высота побегов наблюдалась в пределах 1,5-2,5 см. Неплохой результат был отмечен на среде QL с содержанием витаминов 0,5 мг/л В₁, 0,5 мг/л В₆, 0,5 мг/л РР, 1,5 мг/л С, а также 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 1,0 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГК. На эффективность микрклонального размножения влияет не только применение различных концентраций цитокининов, но и минеральный состав питательных сред. Так, лучшее размножение происходило на среде МС по сравнению с QL.

В таблице 7 показано, что подвой имеют генотипические особенности в способности к размножению *in vitro*. Так ВСВ-1 и Дружба имеют больший коэффициент размножения по сравнению с другими подвоями (6,0 и 6,56).

Таблица 7 - Сортовые особенности клоновых подвоев на этапе размножения *in vitro*

№	Подвой кусточковых культур	Исходные для размножения растения, шт	Размноженные растения (среднее за 3 пассажа), шт	Коэффициент размножения
1	Фортуна	5	12,3 ± 1,53	2,06
2	Пумиселект	4	17,3 ± 1,53	2,89
3	Кубань-86	6	11,7 ± 1,15	1,94
4	ВСВ-1	7	39,3 ± 0,58	6,56
5	Эврика	6	10,7 ± 0,58	1,78
6	Дружба	7	36 ± 1,73	6,00
7	ВВА – 1	5	10,3 ± 0,58	1,72
8	St. Julian	3	5,7 ± 1,15	0,94

Большие потери урожая плодовых культур от вирусных болезней вызвали необходимость принять меры по борьбе с ними. В мировой практике многие годы проводятся глубокие исследования в этом направлении. Для культивирования садов кусточковых культур

интенсивного типа необходимы сорта и подвои полностью свободные от вирусной инфекции. Очень важно в этом аспекте точное определение инфицированности насаждений, так как зачастую, вирусы, приводящие к снижению урожайности и даже гибели растений, находятся в латентной форме. В последние годы большой прорыв в диагностике заняли молекулярные исследования [19].

В наших исследованиях молекулярный анализ в точности показал отсутствие инфицированности изучаемых семи образцов в коллекции клоновых подвоев косточковых культур и зараженности семенного подвоя *Prunus armeniaca* очень вредоносным заболеванием «шарка», которое приводит к непригодности плодов и гибели растений.

Закладку базисных маточников клоновых подвоев лучше всего проводить выявленными свободными от инфицированности образцами. Этот способ предпочтителен из-за меньших затрат по сравнению с оздоровлением, которое проводят в случае не обнаружения безвирусных экземпляров ценных генотипов. Размножение клоновых подвоев можно проводить в полевых условиях, но традиционный способ лимитируется многими факторами, такими как дорогостоящее поддержание агротехнического фона, отрицательное влияние факторов внешней среды, заражение вредителями и болезнями и, конечно же, не высоким коэффициентом размножения. Для ускорения этого процесса применяют метод размножения *in vitro*, которое дает возможность значительно повысить этот показатель. [1-2]. В ходе наших экспериментов был усовершенствован протокол клонального микроразмножения клоновых подвоев косточковых культур – условия изоляции, стерилизации, а также состав питательных сред для инициации роста и собственно размножения. Установленные параметры имеют свою оригинальную специфику и, хотя в основных моментах, согласуются с литературными данными, но отличаются от рекомендованных, для других генотипов.

Полученные нами микрорастения клоновых подвоев будут пересажены на среды для дальнейшего размножения и сохранения в хладобанке, кроме того, доращены и использованы, в качестве подвоя для окулировки культурными сортами косточковых культур и для закладки базисных безвирусных маточников.

Выводы

Коллекция клоновых подвоев для сливы, абрикоса и персика, состоящая из 9 генотипов, протестирована на наличие 7 вирусов. Результат ПЦР анализа показал, клоновые подвои свободны от вирусных болезней, у формы №3 дикрастущего абрикоса *P. armeniaca* обнаружен вирус Plum rox potyvirus (PPV).

Свободные от основных вирусов растения введены в асептическую культуру *in vitro*. Определено, побеги подвоев косточковых культур эффективно стерилизовать от сапрофитной микрофлоры 0,2% $HgCl_2$ в экспозиции 3 и 4 мин. В этом случае способных регенерировать – 70% и 80%.

Лучшей для введения эксплантов является питательная среда МС– 0,2-0,4 мг/л БАП, 2,0 мг/л аскорбиновой кислоты, 0,5мг/л В₁, 0,5мг/л В₆, 0,5 мг/л РР и 30 мг/л сахарозы. Оптимальная среда для клонального размножения *in vitro* – МС с содержанием витаминов 0,1 мг/л В₁, 0,5 мг/л В₆, 0,5 мг/л РР, 1 мг/л С, а также 100 мг/л мезоинозита, 2 мг/л глицина, 0,8 мг/л 6-БАП. У эксплантов, культивируемых на этой среде отмечено хорошее развитие конгломератов, высота побегов в пределах 1,5-2,0 см.

В культуру *in vitro* введены и размножены 7 клоновых подвоев косточковых культур свободных от вирусных инфекций.

Благодарность: Работа выполнена при поддержке грантового финансирования проекта AP14869380 Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

Список литературы

1 Panis, B., Nagel, M., & Van den Houwe, I. (2020). Challenges and prospects for the conservation of crop genetic resources in field genebanks, in *in vitro* collections and/or in liquid nitrogen. *Plants*, 9(12), 1634.

- 2 Zulge, N., Kāle, A., Gospodaryk, A., Vēvere, K., & Moročko-Bičevska, I. (2017, May). Establishment of nuclear stock collections for apple and pear in Latvia. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences.* (Vol. 71, No. 3, pp. 156-165).
- 3 Hernández, F., Pinochet, J., Moreno, M. A., Martínez, J. J., & Legua, P. (2010). Performance of *Prunus* rootstocks for apricot in Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae*, 124(3), 354-359.
- 4 Neumüller, M., Mühlberger, L., Siegler, H., Hartmann, W., & Treutter, D. (2012, May). New rootstocks with resistance to Plum pox virus for *Prunus domestica* and other stone fruit species: the 'Docera' and 'Dospina' rootstock series. In *X International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology 985* (pp. 155-165).
- 5 Еремин, Г. В., & Еремин, В. Г. (2009). Использование генофонда рода *Prunus* L. в селекции клоновых подвоев косточковых культур. *Биология растений и садоводство: теория, инновации*, (131), 90-94.6
- 6 Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davis, F. T., & Geneve, R. L. (2007). Propagation methods and rootstocks for fruit and nut species. In H. T. Hartmann & D. E. Kester (Eds.), *Plant propagation: Principal and practice.* (pp. 717–757). New York: Pearson Education.
- 7 Andersen, R., Freer, J., & Robinson, T. (2006). Plum rootstock trial at Geneva: A progress report. *New York Fruit Quarterly*, 14(1), 27–28.
- 8 Botu, I., Preda, S., Turcu, E., Achim, G., & Botu, M. (2007). 'Rival'—A new rootstock for plum. *Acta Horticulturae*, 732, 253–256.
- 9 Kumar, A., Rathore, J. P., Iqbal, U., Sharma, A., Nagar, P. K., & Mir, M. M. (2021). Rootstocks of stone fruit crops. *Production Technology of Stone Fruits*, 131-169.
- 10 Казыбаева, С. Ж., Уразаева, М. В., & Борисова, А. А. (2021). Современные системы ведения питомниководства республики Казахстан. *Плодоводство и ягодоводство России*, 66(1), 89-95.
- 11 Уразаева М., Ефремова Ю., Ормакаев А. Интродуцированные клоновые подвои косточковых / *Izdenister natigeler.* – 2023. – №2 (98). – С. 143-153. DOI: <https://doi.org/10.37884/2-2023/14>
- 12 Certification scheme for almond, apricot, peach and plum. *EPPO Bulletin*, (2001), 31: 463-478. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2001.tb01028.x>
- 13 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia plantarum.* – 1962. – Т. 15. – №. 3. – С. 473-497
- 14 Quoirin M., Lepoivre P. H. Improved media for in vitro culture of *Prunus* sp // *Symposium on Tissue Culture for Horticultural Purposes* 78. – 1977. – С. 437-442.
- 15 Турдиев Т.Т., Ковальчук И. Ю., Успанова Г.К., Чуканова Н.И., Фролов С. Н. Оптимизация клонального микроразмножения для сохранения генофонда растений груши // *Вестник КазНУ, Серия биологическая.* – 2015. – № 3. – С. 356-362.;
- 16 Halim, M. A., Alam, M. F., Rahman, M. H., Hossain, M. B., & Uddin, M. B. Sterilization process for In vitro regeneration of *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) // *International Journal of business, social and scientific research.* – 2016. – Т. 4. – №. 4. – Р. 320-323.
- 17 Беседина Е. Н., Бунцевич Л. Л. Усовершенствования технологии клонального микроразмножения подвоев яблони на этапе введения в культуру in vitro // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.* – 2015. – №. 111. – с. 1-19.
- 18 Vujović T. et al. In vitro propagation of plum rootstocks // *Voćarstvo: Journal of Pomology.* – 2018. – Т. 52. – №. 203-204. – С. 91-97.
- 19 Супрун И.И., Амосова М.А., Лободина В.Е., Аль-Накиб Е.А., Авакимян А.О., Егорова О.В. Оптимизация этапов клонального микроразмножения подвоев косточковых культур // *Научные труды СКФНСЦСВВ.* – Т.36. 2023г.

References

- 1 Panis B., Nagel M., van Den Houwe I. Challenges and prospects for the conservation of crop genetic resources in field genebanks, in in vitro collections and/or in liquid nitrogen //Plants. – 2020. – Т. 9. – №. 12. – С. 1634.
- 2 Zulģe N. et al. Establishment of nuclear stock collections for apple and pear in Latvia //Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences. – 2017. – Т. 71. – №. 3. – С. 156-165.
- 3 Hernández F. et al. Performance of Prunus rootstocks for apricot in Mediterranean conditions //Scientia Horticulturae. – 2010. – Т. 124. – №. 3. – С. 354-359.
- 4 Neumüller M. et al. New rootstocks with resistance to Plum pox virus for Prunus domestica and other stone fruit species: the'Docera'and'Dospina'rootstock series //X International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology 985. – 2012. – С. 155-165.
- 5 Eremin, G. V., & Eremin, V. G. (2009). Ispol'zovanie genofonda roda Prunus L. v selektsii klonovykh podvoev kostochkovykh kul'tur. Biologiya rastenij i sadovodstvo: teoriya, innovatsii, (131), 90-94.b
- 6 Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davis, F. T., & Geneve, R. L. (2007). Propagation methods and rootstocks for fruit and nut species. In H. T. Hartmann & D. E. Kester (Eds.), Plant propagation: Principal and practice. (pp. 717–757). New York: Pearson Education.
- 7 Andersen, R., Freer, J., & Robinson, T. (2006). Plum rootstock trial at Geneva: A progress report. New York Fruit Quarterly, 14(1), 27–28.
- 8 Botu, I., Preda, S., Turcu, E., Achim, G., & Botu, M. (2007). 'Rival'—A new rootstock for plum. Acta Horticulturae, 732, 253–256.
- 9 Kumar, A., Rathore, J. P., Iqbal, U., Sharma, A., Nagar, P. K., & Mir, M. M. (2021). Rootstocks of stone fruit crops. Production Technology of Stone Fruits, 131-169.
- 10 Kazybaeva S. ZH., Urazaeva M. V., Borisova A. A. Sovremennye sistemy vedeniya pitomnikovodstva respubliki Kazakhstan //Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. – 2021. – Т. 66. – №. 1. – С. 89-95.
- 11 Urazaeva M., Efremova YU., Ormakaev A. Introdutsirovannye klonovye podvoi kostochkovykh / Izdenister Natigeler. – 2023. – №2 (98). – С. 143-153.
- 12 Certification Scheme For Almond, Apricot, Peach And Plum. EPPO bulletin, (2001), 31: 463-478. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2001.tb01028.x>
- 13 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures //Physiologia Plantarum. – 1962. – т. 15. – №. 3. – с. 473-497
- 14 Quoirin M., Lepoivre P. H. Improved media for in vitro culture of Prunus sp //Symposium on tissue culture for horticultural purposes 78. – 1977. – с. 437-442.
- 15 Turdiev T.T., Koval'chuk I. YU., Uspanova G.K., CHukanova N.I., Frolov S. N. Optimizatsiya klonal'nogo mikrorazmnozheniya dlya sokhraneniya genofonda rastenij grushi // Vestnik KazNU, Seriya biologicheskaya. – 2015. – № 3. – С. 356-362.
- 16 Halim, M. A., Alam, M. F., Rahman, M. H., Hossain, M. B., & Uddin, M. B. Sterilization process for In vitro regeneration of Stevia (Stevia rebundiana Bertoni) //International Journal of business, social and scientific research. – 2016. – Т. 4. – №. 4. – P. 320-323.
- 17 Besedina E. N., Buntsevich L. L. Uovershenstvovaniya tekhnologii klonal'nogo mikrorazmnozheniya podvoev yabloni na ehtape vvedeniya v kul'turu in vitro // Politematicheskij setevoy ehlektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2015. – №. 111. – s. 1-19.
- 18 Vujović T. et al. In vitro propagation of plum rootstocks //Voćarstvo: Journal of Pomology. – 2018. – Т. 52. – №. 203-204. – С. 91-97.
- 19 Suprun I.I., Amosova M.A., Lobodina V.E., Al'-Nakib E.A., Avakimyan A.O., Egorova O.V. Optimizatsiya ehtapov klonal'nogo mikrorazmnozheniya podvoev kostochkovykh kul'tur // Nauchnye trudy SKFNSTSSVV. – Т.36. 2023g.

**Б.Ж. Кабылбекова*¹, Т.Н. Нурсейтова^{1,2}, З.Я. Юсупова¹, И.Ю. Ковальчук¹,
Н.И. Чуканова¹, М.В. Уразаева¹, А.К. Маденова³**

¹ «Қазақ жеміс-көкөніс шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан, k_b_zh@mail.ru, zarina19851005@mail.ru, kovalchuk_i_u@mail.ru, chukanova_n_i@mail.ru, marina_4069@mail.ru

² Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан, n.toigul_90@mail.ru

³ Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан, madenova.a@mail.ru

ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ СҮЙЕКТІ ДАҚЫЛДАРДЫҢ КЛОНАЛДЫ ТАМЫРСАБАҚТАРЫНЫҢ ВИРУС АУРУЛАРЫНЫҢ ҚҰРАМЫН ЖӘНЕ САУ ӨСІМДІКТЕРДІ *IN VITRO* ӨСУ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІН АНЫҚТАУ

Аннотация

Қазақстандағы тәлімбақ шаруашылығының маңызды міндеттерінің бірі қарапайым ғана емес, вируссыз сертификатталған отырғызу материалын өндіру қажеттілігі болып табылады. Республикада бау-бақша шаруашылығын қайта жарактандыру мақсатындағы бұл бағыттағы алғашқы қадам – бастапқы аналық екпелерді вируссыз отырғызу материалымен отырғызу. Бұл мәселелерді шешу тәлімбақ шаруашылығына биотехнологиялық жүйелерді әзірлеу және енгізу арқылы мүмкін болды. Мақалада Қазақстандағы сүйекті жеміс дақылдарының клондық тамырсабақтарының вирустық ауруларының құрамы және олардың әртүрлі кезеңдерде клондық микрокөбейту хаттамасын жетілдіру нәтижелері берілген. 9 генотиптен тұратын қара өрік, өрік және шабдалыға арналған клондық тамырсабақтарының коллекциясы 7 вирустың болуына тексерілді. ПТР талдауының нәтижесі бойынша клондық тамыр сабақтарында вирустық аурулар жоқ, ал Plum pox rotavirus (PPV) вирусы жабайы өсетін *P. armeniaca* өрігінің №3 нысанында анықталды.

Негізгі вирустардан таза өсімдіктер асептикалық *in vitro* культурасына енгізілді. Тәжірибелер сүйекті жемістердің тамырсабақтарының өркендерін тиімді зарарсыздандыруға 3 және 4 минут экспозицияда 0,2% HgCl₂ сапрофиттік микрофлорадан тиімді тазартатынын көрсетті. Бұл жағдайда қалпына келтіруге қабілетті өсімдіктер саны 70% және 80% құрайды. Экспланттарды культураға енгізу үшін ең жақсы қоректік орта болып MS – 0,2-0,4 мг/л ВАР, 2,0 мг/л аскорбин қышқылы, 0,5 мг/л В₁, 0,5 мг/л В₆, 0,5 мг/л РР және 30 мг/л сахароза табылады. *In vitro* клондық көбею үшін оңтайлы орта – құрамында 0,1 мг/л В₁, 0,5 мг/л В₆, 0,5 мг/л РР, 1 мг/л С дәрумендері, 100 мг/л мезоинозит, 2 мг/л глицин, 0,8 мг/л 6-БАП бар MS қоректік орта. Осы қоректік ортада өсірілген экспланттар конгломераттардың жақсы дамуын және өркеннің биіктігі 1,5-2,5 см диапазонында көрсетті. *In vitro* культурасына вирустық инфекциялардан тазартылған 7 клондық тамыр сабақтары енгізілді және көбейтілді.

Кілт сөздер: клондық тамырлар, сүйекті жемістер, вирустар, биотехнология, *in vitro* көбею, қоректік орта, вируссыз материал.

**B.Zh. Kabyzbekova*¹, T.N. Nurseitova^{1,2}, Z.Ya. Yusupova¹, I.Yu. Kovalchuk¹,
N.I. Chukanova¹, M.V. Urazaeva¹, A.K. Madenova³**

¹ «Kazakh Fruit and Vegetable Research Institute», Almaty, Kazakhstan, k_b_zh@mail.ru, zarina19851005@mail.ru, kovalchuk_i_u@mail.ru, chukanova_n_i@mail.ru, marina_4069@mail.ru

² Abai Kazakh National Pedagogical University, Almaty, Kazakhstan, n.toigul_90@mail.ru

³ Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan, madenova.a@mail.ru

DETERMINATION OF THE VIRAL DISEASES COMPOSITION OF STONE FRUIT CLONAL ROOTSTOCKS IN KAZAKHSTAN AND IN VITRO REPRODUCTION FEATURES OF HEALTHY PLANTS

Abstract

One of the important tasks of nursery farming in Kazakhstan is the need to produce not only standard, but also virus-free certified planting material. The first step in this direction with the aim of re-equipping horticulture in the republic is the planting of basic mother plantations with virus-free planting material. The solution of these issues became possible with the development and implementation of biotechnological systems in nursery farming. The article presents the composition of viral diseases of stone fruit clonal rootstocks in Kazakhstan and the results of improving the protocol of their clonal micropropagation at various stages. A collection of clonal rootstocks for plum, apricot and peach, consisting of 9 genotypes, was tested for the presence of 7 viruses. According to the result of PCR analysis, clonal rootstocks are free of viral diseases, and the Plum pox potyvirus (PPV) virus was detected in form No. 3 of the wild apricot *P. armeniaca*.

Virus-free plants were introduced into aseptic culture *in vitro*. The experiments showed that the shoots of stone fruits rootstocks are effectively sterilized from saprophytic microflora with 0.2% HgCl₂ for 3 and 4 minutes. In this case, the number of those capable of regeneration is 70% and 80%. The best medium for introducing explants is MS nutrient medium - 0.2-0.4 mg / l BAP, 2.0 mg / l ascorbic acid, 0.5 mg / l B₁, 0.5 mg / l B₆, 0.5 mg / l PP and 30 mg / l sucrose. The optimal medium for clonal propagation *in vitro* is MS with a vitamin content of 0.1 mg / l B₁, 0.5 mg / l B₆, 0.5 mg / l PP, 1 mg / l C, 100 mg / l mesoinositol, 2 mg / l glycine, 0.8 mg / l 6-BAP. The explants cultivated on this medium showed good development of conglomerates, shoot height within 1.5-2.0 cm. Virus-free 7 clonal rootstocks were introduced and propagated *in vitro*.

Key words: clonal rootstocks, stone fruits, viruses, biotechnology, *in vitro* propagation, nutrient medium, virus-free material.

МРНТИ 34.15.31

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2024/11>

А.К. Маденова¹, Д. И. Калдыбаева*¹, Р.А. Әбдікәрімова¹, А.А. Қуан^{1,2}

¹ *Казахский Национальный аграрный исследовательский университет, г. Алматы, Казахстан, aigul.kalikhodzhaevna@kaznaru.edu.kz, dinara.kaldybayeva@kaznaru.edu.kz*, Raigul-95@mail.ru*

² *Казахский Национальный университет им. Аль Фараби, г. Алматы, Казахстан, kuan.angsagan2001@gmail.com*

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЯБЛОНИ В КАЗАХСТАНСКИХ САДАХ МЕТОДОМ ОТ-ПЦР-РВ

Аннотация

В Казахстане яблоки занимают доминирующее место в агроэкономической нише страны, что доказывает огромные площади посевов этих культур. Однако уровень вирусной инфекции яблок, как правило, высок, поскольку широко используются подвои, полученные из зараженных вирусом материнских подвоев, а вегетативное размножение, основанное на прививке, широко распространено среди подвойных сортов. Наиболее эффективный способ борьбы с вирусами и вириоидами растений зависит от проведения массово быстрого и точного диагностического обследования. Поэтому целью данного исследования было изучение распространения двух вирусов ACLSV, ASPV и вириода AHVd в трех областях Казахстана. Обнаружение вирусов основано на использовании сочетания методов обратной транскрипции