

А. Рахатқызы*¹, Л.С. Ерболова^{1,2}, Қ.П. Аубакирова¹,
Ж.Н. Бақытжанова¹, Н.Н. Галиакпаров¹

¹ҚР ҒЖБМ ҒК М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты, Алматы қ., Қазақстан Республикасы, akbotarahatkyzy1@gmail.com*,
karla_78@mail.ru, bakytzhanovazhibek@gmail.com, nurbol.gal@gmail.com

²КеАҚ С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық Медицина Университеті, Алматы қ., Қазақстан Республикасы, yerbolova.laura7@gmail.com

М9 КЛОНДЫ ТЕЛІТУШІСІН МИКРОКЛОНДЫ КӨБЕЙТУ

Аңдатпа

Алма М9 телітушісі – Батыс Еуропа мен Қазақстанның оңтүстік аймағында бақша шаруашылығы үшін ең перспективті, бірақ *in vitro* жағдайында қиын көбейтілетін түр. Эксплант ретінде 0,5–2,0 см мөлшеріндегі апикалды және қолтық бүршік сегменттері қолданылды. Микроклондау модификацияланбаған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарына 6-бензиламинопури́н (БАП) – 0,5 мг/л; индолил-3-май қышқылы (ИМК) және гиббереллин қышқылы (ГҚ) – 0,5 мг/л мөлшерінде қосу арқылы жүргізілді. Сондай-ақ В₁ және В₆ витаминдері 0,5 мг/л, ал аскорбин қышқылы 1,5 мг/л мөлшерінде қосылды. Ал модификацияланған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарына индолил-3-май қышқылы (ИМК) және гиббереллин қышқылы (ГҚ) – 0,01 мг/л; В₁ және В₆ витаминдері 0,1 мг/л және аскорбин қышқылы 1,0 мг/л концентрациясында болды. Жаңа қоректік орталарға енгізу 4 аптадан кейін жүргізілді. Тәжірбиелер 25–30 экспланттан тұрды және 3 рет қайталанып қоректік ортаға енгізілді.

Ең оңтайлы эксплант түрі – апикалды ұштар болды. Олардың регенерация деңгейі модификацияланбаған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарында 1 және 2 ай көшеттеуден кейін сәйкесінше 40% құрады. Сондай-ақ витаминдердің 0,5 мг/л мөлшері экспланттардың 2–3 аптадан кейін өлуіне алып келді. Микрокалемшелер каллус тінін қалыптастырып, 3–4 ай көшеттеуден кейін некрозға ұшырады. Мурасиге-Скуг модификацияланған ортасында БАП 0,5 мг/л, индолил-3-май қышқылы (ИМК) мен гиббереллин қышқылын (ГҚ) – 0,01 мг/л, В₁ және В₆ витаминдері 0,1 мг/л және аскорбин қышқылы 1,0 мг/л қолдану интенсивті каллус түзілу мәселесін толығымен шешті. Осы ортада 1 ай культивациядан кейін экспланттардың регенерациялық қабілеті басқа орталармен салыстырғанда 40,7%-ға жоғары (65,0–85,0% сәйкесінше) болды. Меристемалық тінің дифференциациясының тоқтауы және экспланттардың некрозы 3–4 ай культивациядан кейін болды.

Кілт сөздер: микроклондық көбейту, *in vitro*, клондық телітуші, алма, каллус, морфогенез, регенерация.

Кіріспе

Қазақстанда жоғары масштабта өндірістік жеміс - жидек дақылдарының аналық алқабын құру үшін жоғары сапалы, вируссыз көшеттер алудың қажеттілігі жоғары [1].

Экологиялық жағдайдың нашарлауы және еліміздегі халықтың тұтынатын жеміс - жидек өнімдерінің жетіспеушілігі жағдайында биотехнологиялық әдістерді пайдалана отырып, вируссыз өсімдіктер арқылы өнімдерді өндірудің тиімді технологияларын әзірлеу және адаптивті өсімдік формалары мен сорттарын жасау барған сайын маңызды бола түсуде. Мұндай әдістерді бақша шаруашылығында меңгеру аналық және өнім беретін дақылдардың морфогенетикалық потенциалын арттыруға ғана емес, сондай-ақ қолайсыз экологиялық факторларға төзімді, шаруашылыққа құнды белгілері бар жаңа генотиптерді қысқа мерзімде

жасауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар биотехнология саласының жалпы тиімділігін арттыруға септігін тигізеді.

Вируссыз отырғызу материалын алу жүйесінде клональды микрокөбейту әдісіне елеулі орын беріледі. Клондық микрокөбейту – өсімдіктердің *in vitro* жағдайында жыныссыз жолмен көбеюі [2]. Бұл әдістің артықшылықтары: көбею коэффициенті жоғары, вирустар мен патогендік микроорганизмдерден сауықтырылады, сұрыптау процесі жылдам. Оның хемо- және термотерапиямен үйлесуі өсімдіктерді патогендік организмдер мен вирустардан босатуға мүмкіндік ашады.

In vitro жағдайында М (М4, М7, М26, М27, ММ106) телітушілерің көбейту бойынша белгілі бір нәтижелерге жетті [3]. Сонымен қатар, *in vitro* әдісімен Батыс Еуропа мен Қазақстанның оңтүстік бақшасына арналған ең перспективті клондық телітуші М9-дың көбеюі бірнеше мәселелермен (енгізу кезеңіндегі каллус тінінің қарқынды өсуі, фенолдық қосылыстардың бөлінуі және микрокалемшелердің витрификациясы) байланысты [4].

Осыған орай, зерттеудің мақсаты – М9 клондық телітушісінің морфогенез ерекшеліктерін ескере отырып, қоректік орта құрамын оңтайландыру.

Әдістер мен материалдар

Клональды микрокөбейту үшін бастапқы материал ретінде (белсенді өсу фазасы, мамыр–маусым) М9 телітушісінің ұзындығы 5–6 см болатын бұтақтары алынды. Бұтақтың 0,5–2,0 см көлеміндегі апикалды ұштары, бүршігі бар сабақ сегменттері қолданылды. Сондай-ақ тыныштық күйден ерте көктемгі кезеңдерде (ақпан–сәуір) оянған бүршік бұтақтары да қолданылды.

Бастапқы материалды 1:2 қатынастағы «Белизна» ерітіндісінде 5 минут бойы зарарсызданды, содан кейін бірнеше рет стерильді дистиллятпен жуу жүргізілді [5,6]. Оптималды эксплант типін анықтауға арналған зерттеулер Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарында жүзеге асырылды.

Модификацияланбаған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарына 6-бензиламинопурин (БАП), индоллил-3-май қышқылы (ИМК) және гибберелин қышқылы (ГК) – 0,5 мг/л мөлшерінде қосылды. Сондай-ақ, В₁ және В₆ витаминдері 0,5 мг/л, ал аскорбин қышқылы 1,5 мг/л концентрациясында болды. Ал модификацияланған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарына 6-бензиламинопурин (БАП) – 0,5 мг/л; индоллил-3-май қышқылы (ИМК) мен гиббереллин қышқылын (ГК) – 0,01 мг/л; В₁ және В₆ витаминдері 0,1 мг/л және аскорбин қышқылы 1,0 мг/л мөлшерінде қосылды.

Жаңа қоректік ортаға енгізу 4 аптадан кейін жүргізілді. Көпжылдық зерттеулерге сәйкес, пайдаланылған қоректік орталар мен өсу реттеушілерінің концентрациялары *in vitro* жағдайында өсірілетін көптеген жеміс дақылдары, соның ішінде алма үшін де оңтайлы болып табылады [7-9].

Тәжірбиелер 3 рет қайталанып, әрқайсында 25–30 экспланттан қоректік ортаға енгізілді. Регенерацияланған экспланттар саны бойынша айырмашылықтардың дұрыстығы Дунканның t-критерийі арқылы бағаланды. Бірдей әріптік индекстер белгіленген варианттар арасында $p=0,05$ кезінде айырмашылықтың жоқтығын көрсетеді, ал түрлі индекстер маңызды айырмашылықтарды білдіреді [10].

Нәтижелер және талқылау

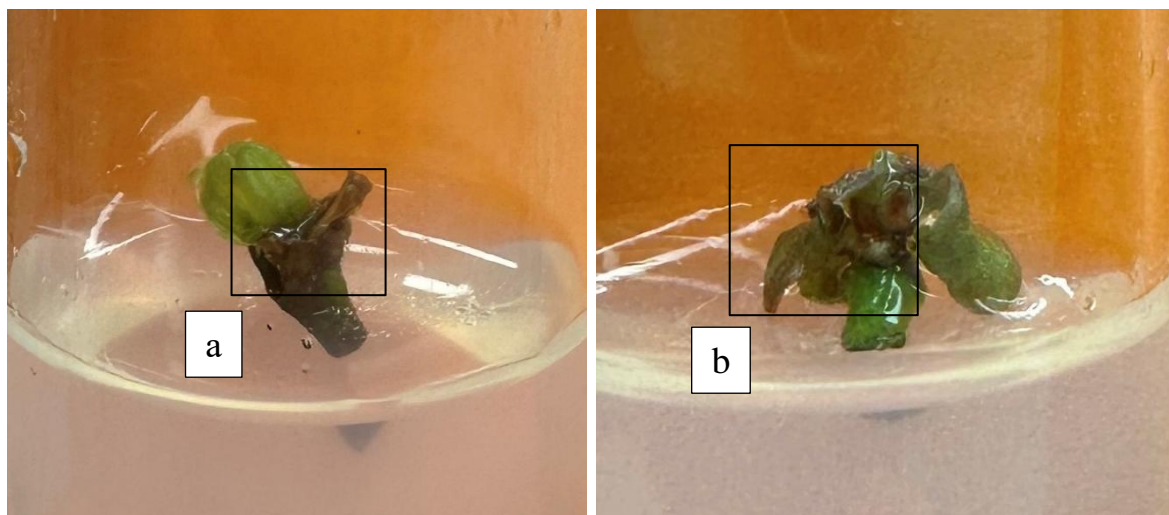
Экспланттарды асептикалық ортаға енгізудің бастапқы кезеңін сәтті аяқтағаннан кейін клондық микрокөбейту бойынша тәжірбиелер жүргізілді. Б.Ж. Кабылбекова және Н.И. Чуканова (2019) ғылыми зерттеулерінде алма өсімдіктерін клонды микрокөбейту технологиясын жетілдіру нәтижелерін баяндаған. Клонды микрокөбейтуге оңтайлы қоректік орта – MS (Мурасиге-Скуг) минералдық ортасы құрамында: 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мг/л ГК болып көрсетілді [11]. Алайда, біздің зерттеу жұмыстарында эксплант типі микро-өскіндердің өміршеңдігіне елеулі әсер ететіндігін көрсетті. Сонымен қатар, өсу мен көбеюді белсендіру үшін фитогормондардың концентрациясын өзгерту арқылы М9 клонды телітушісінің өсуіне оңтайлы қоректік орта таңдалды.

Модификацияланбаған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарындағы 0,5–2,0 см мөлшеріндегі апикалды ұштардың регенерация деңгейі 1–2 айдан кейін сәйкесінше 43,6% және 36,1% құрады.

Бүршіктерде бұл көрсеткіш 1,7% және 2,2% төмен болды, ал бүршігі бар сабақ сегментін пайдалану кезінде 1–3 күннің аралығында 76–81% енгізілген материал некрозға ұшырады. Өлудің негізгі себебі – сабақ сегменттері мен бүршіктердің қоректік ортаға фенолды қосылыстарды белсенді бөлуі. Бұл қоректік ортаның қараюы мен орта құрамының өзгеруіне алып келді. Жалпы қоректік ортада шамадан тыс фенолды қосылыстар концентрациясының артуы жасушалардың бөлінуі мен өсуін тежейді [12]. Сондықтан барлық кейінгі зерттеулерде көбіне апикалды ұштар қолданылды.

Клондық телітуші М9-ды әрі қарай культивирлеу барысында регенерацияланған экспланттарды жаңа қоректік ортаға енгізгеннен кейін, микроқалемшелер морфогендік емес каллус тінін белсенді түрде қалыптастыра бастады. Дедифференциация өткізгіш шоқтардың жасушаларына әсер етті.

Демек, ол қоректік заттардың тасымалын бұзып, экспланттың дамуын тоқтатты. Жасушалар тек қоректік элементтерді сыңыру ғана емес, органо- және гистогенезге қабілетінен де айырылды [13]. Бұл өз кезегінде, барлық жасушалар мен бастапқы тіндердің қалыптасуын бұзып, өсуін тоқтатты. Зерттелген барлық модификацияланбаған қоректік орталарда өсімдіктердің біртіндеп некрозына алып келді.



Сурет 1. Апикалды тін дифференциациясының бұзылуы: а – қарқынды каллус түзу; б – микроқалемшенің витрификациясы

Барлық физиологиялық процестерді реттейтін фитогормондар болғандықтан, олар қоректік ортаның маңызды компоненттері. Клеткалар *in vitro* жағдайында көмірсутегіне мұқтаж, себебі олар гетеротрофты қоректенеді. Көмірсутегі ретінде сахароза немесе глюкоза қосылады. Қоректік ортаның негізі болатын минералды тұздардың қоспасы. Көптеген орталардың құрамында витаминдер бар. Олардың ішінде ең маңыздылары В тобына жатады: В - тиамин, В - рибофлавин, В- пиридоксин. Қоректік ортадағы витаминдер метаболизм реакцияларының тежелмей өтуіне ықпалын тигізіп, клеткалардың өсуіне әсер етеді [14]. Модификацияланбаған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарына 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) мөлшеріндей, индоллил-3-май қышқылы (ИМК) және гиббереллин қышқылын (ГК), В₁ және В₆ витаминдерін қоректік ортаға қосу, ал аскорбин қышқылын 1,5 мг/л концентрациясында қолдану М9 телітушісінің апикалды тіндерінің морфогенезіне де тиімді әсер етпеді. 2–3 апта культивациядан кейін апикалды тіннің дифференциациясының бұзылуы байқалды. *In vitro* қоректік орталарына енгізілген экспланттардың 56,3% некрозға ұшырады (сурет 1).

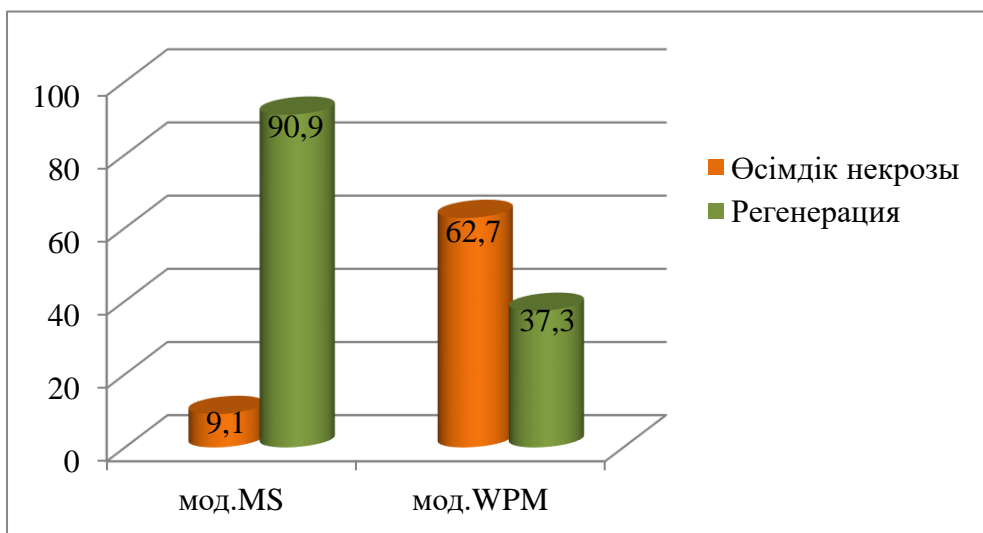
Келесі зерттеулер каллус өсуінің қарқынды мәселесін қоректік ортаның биологиялық белсенді заттар құрамын өзгерту арқылы шешуге мүмкіндік берді (кесте 1). Морфогенез процесі модификацияланған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарында ең тиімді түрде жүрді. Оларда 1 ай культивациядан кейін экспланттардың регенерациялық қабілеті басқа зерттелген орталармен салыстырғанда 40,7%-ға жоғары болды. Дегенмен, модификацияланған Woody plant medium (WPM) қоректік ортасында 4 ай культивациядан кейін меристемалық тін дифференциациясының тоқтауы және оның некрозымен байланысты экспланттардың өлімі байқалды. Бұл басқа зерттеушілердің де атап өтілетін мәселесі [15].

Кесте 1. Қоректік орта құрамдарының ерекшеліктеріне байланысты *in vitro* жағдайында өсірілген М9 телітушісінің регенерация қабілеті.

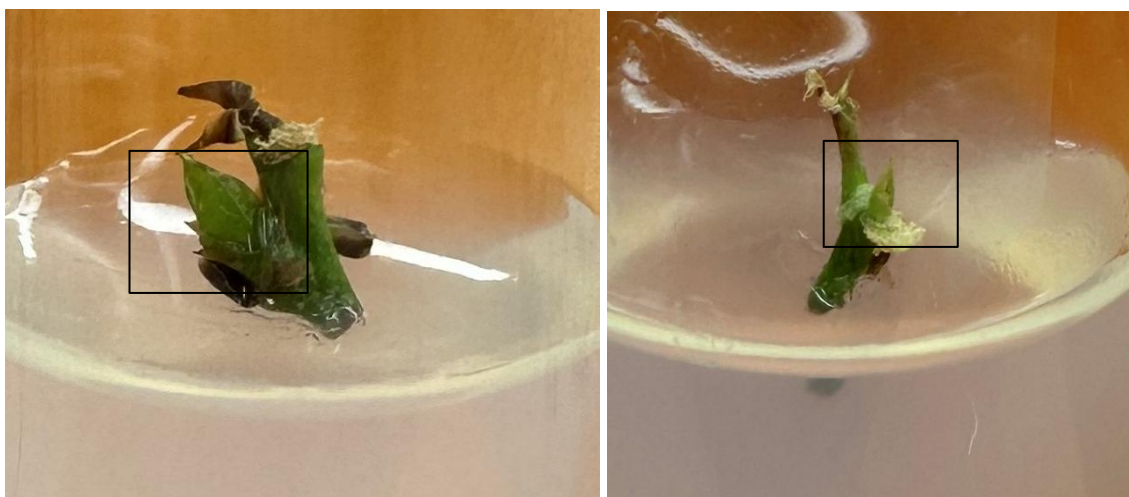
Қоректік орта аты	Культивация уақыты (пассаж), ай							
	1		2		3		4	
	өсімдік некрозы, %	регенерация, %	өсімдік некрозы, %	регенерация, %	өсімдік некрозы, %	регенерация, %	өсімдік некрозы, %	регенерация, %
<i>Модификацияланбаған қоректік орталар:</i> 6-бензиламинопурин (БАП) – 0,5 мг/л; индолил-3-май қышқылы (ИМК) – 0,5 мг/л; гиббереллин қышқылы (ГК) – 0,5 мг/л; В ₁ – 0,5 мг/л; В ₆ – 0,5 мг/л; аскорбин қышқылы 1,5 мг/л.								
1. Мурасиге-Скуг (MS)	47,7	52,3	65	35	81	19	92	8
2. Woody plant medium (WPM)	52	48	75,7	24,3	95	5	100	–
<i>Модификацияланған қоректік орталар:</i> 6-бензиламинопурин (БАП) – 0,5 мг/л; индолил-3-май қышқылы (ИМК) – 0,01 мг/л; гиббереллин қышқылы (ГК) – 0,01 мг/л; В ₁ – 0,1 мг/л; В ₆ – 0,1 мг/л; аскорбин қышқылы 1,0 мг/л.								
1. Мурасиге-Скуг (MS)	24	76	12,1	87,9	–	100	–	100
2. Woody plant medium (WPM)	35	65	51	49	78	22	86,8	13,2

Витаминдік құрамы бойынша модификацияланған қоректік орталарды зерттеу (аскорбин қышқылының концентрациясын 1,0 мг/л-ге және В тобының витаминдерін 0,1 мг/л-ге дейін төмендету) Woody plant medium (WPM) ортасында регенерацияланған және өсу фазасына жеткен экспланттар саны бойынша артықшылық көрсетті, сонымен қатар каллус қалыптасу мәселесін шешуге мүмкіндік берді (сурет 2).

Дегенмен, осы ортада жиі витрификацияланған микроқалемшелер қалыптаса бастады. Сондықтан барлық келесі субкультивация модификацияланған Woody plant medium (WPM) ортада жүргізілді. Алғашқы 2-3 айда бұл ортада 3–5 жапырақтан тұратын микроқалемшелер пайда болды. Бірақ сызықты өсу байқалған жоқ (бұл М9 телітушісін *in vitro* жағдайында микрокөбейтудегі басты мәселе). Бірақ 3–4 ай культивациядан кейін морфогенез процесі тоқтады. Жапырақтардың біртіндеп қараюы мен тіндердің некрозы басталды. Барлық экспланттардың некрозы орын алды. Ұқсас процестер басқа авторлардың зерттеулерінде де байқалды. Бұл М9 телітушісінің *in vitro* жағдайда культивирлеудегі жалпы генотиптік ерекшеліктерін көрсетеді. Экспланттардың өлімі ортадағы гормондық құрамның теңгерімсіздігімен байланысты болуы мүмкін. Бұл мәселе қосымша зерттеуді қажет етеді.



Сурет 2. Модификацияланған қоректік орталардағы М9 телітушісінің 4 ай көлеміндегі жалпы регенерация қабілеті.



Сурет 3. Модификацияланған Мурасиге-Скуг (MS) қоректік ортасындағы қолтық бүршік сегментінен өсіп шыққан жас өскіндер (3 апта)

Біздің қолданған өсу реттеушілері арасында *in vitro* культурасына енгізу кезеңінде ең жақсы нәтижелерді модификацияланған Мурасиге-Скуг (MS) 0,5 мг/л концентрациясындағы БАП, 0,01 мг/л индоллил-3-май қышқылы (ИМК) мен гиббереллин қышқылы (ГК) қамтамасыз етті (сурет 3).

Қорытынды

Алма М9 телітушісі *in vitro* жағдайында қиын көбейтілетін түрлерге жатады. Зерттелген экспланттардың ішінде ең оңтайлы түрі 0,5–2,0 см мөлшеріндегі апикалды ұштары болды. Олардың регенерация деңгейі 1–2 ай культивациядан кейін сәйкесінше 78,2% және 85,0% құрады. Микроклональды көбейту тиімділігі модификацияланған Мурасиге-Скуг (MS) және Woody plant medium (WPM) қоректік орталарына 1,0 мг/л аскорбин қышқылы; 0,1 мг/л В₁ және В₆ витаминдер концентрациясын қосу арқылы жүзеге асты. Сонымен қатар 6-бензиламинопурин (БАП) 0,5 мг/л; индоллил-3-май қышқылы (ИМК) мен гиббереллин қышқылы (ГК) 0,01 мг/л мөлшерінде алынды. Дегенмен, Woody plant medium (WPM) ортасында алғашқы 2–3 айда 3–5 жапырақтан тұратын микро-өскіндер пайда болғанымен, 3–4 айдан кейін морфогенез процесі тоқтап, барлық экспланттардың некрозы орын алды.

М9 телітушісінің микроклональды көбейту кезіндегі негізгі мәселе – каллус түзілуінің көп болуы. Индоллил-3-май қышқылы (ИМК) және гибберелин қышқылдарын (ГК) 6-бензиламинопуринмен (БАП) 1:1 қатынасында (0,5 мг/л), сондай-ақ аскорбин қышқылын (1,5

мг/л) пайдалану меристемалық тіндердің морфогенезіне тиімді әсер етпеді және барлық экспланттардың өлуіне алып келді. М9 клондық телітушісінің *in vitro* жағдайында морфогенезге қабілетін сәтті шешу үшін тек химиялық және физикалық факторларды ғана емес, енгізілген экспланттың физиологиялық күйін, сондай-ақ осы телітушінің геномының ерекшеліктерін зерттеумен байланысты қосымша зерттеулер жүргізу қажет етеді.

Алғыс айту: Бұл мақала «Ауылшаруашылық дақылдарының өнімділігін арттыру мақсатында фитопатогендерді бақылаудың биотехнологиялық тәсілдерін әзірлеу» БНҚ (ЖТН BR21881942) жобасы шеңберінде орындалды. Қаржыландыру Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым комитеті арқылы жүзеге асты.

Пайдаланылған әдебиеттер

1. С.Г. Долгих, Б.Ж. Кабылбекова // Перспективы производства сертифицированного посадочного материала плодовых культур в казахстане // Изденістер, Нәтижелер – Исследования, Результаты. №2(98) 2023, ISSN 2304-3334, 133-143 стр. DOI: <https://doi.org/10.37884/2-2023/13>

2. Б.Тезекбаева, А. Хасейн, А.Хансеитова, Г. Есенбаева, М. Георгиева, Н. Малахова // Оптимизация условий введения в культуру *in vitro* и микроклонального размножения растений ежевики (*Rubus l.*) // Izdenister Natigeler, (3(103), 278–288. DOI: <https://doi.org/10.37884/3-2024/31>

3. R.E. Litz Regeneration of Fruit and Ornamental Trees via Cell and Tissue Culture // Encyclopedia of Applied Plant Sciences / ed. B. Thomas, D.J. Murphy, B.G. Murray. - Amsterdam, 2003. - Vol. 3. 1408-1417 p.

4. M. Mirouze, J. Paszkowski / Epigenetic contribution to stress adaptation in plants // Curr Opin Plant Biol.2011. 14(3): 267-274 p. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.03.004

5. Manpreet S. Mavi , P. Marschner. Adelaide S.A. Impact of salinity on Respiration and Organic Matter Dynamics in Soils is More Closely Related to Osmotic Potential than to Electrical Conductivity // Journal Article. - 2017. – Vol.6. 250 - 254 p. DOI: 10.1016/s1002-0160(17)60418-1

6. Murashige T., Skoog F. / A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / *Physiol. Plant*, 1962. 15:473-497.

7. В. Георгиев, А. Шуман, А. Павлов, Т. Блей / Система временного погружения в биотехнологии растений (на английском). Наука о жизни, 2014. 14: 607-621 стр. DOI:10.1002/elsc.201300166

8. М.Ю. Пимкин // Количественная оценка устойчивости сортов и форм яблони к хлоридному засолению // Вестник Мичуринского Государственного Аграрного университета. ISSN 1992-2582 - 2011.-№ 2-1. 38-41 стр.

9. Quoirin M., Lepoivre P. / Etude de milieu adapte aux cultures *in vitro* / C R Acad Sci Paris, 1977. 281: 1309 p.

10. G. J. Minas, D. Neocleous / A protocol for rapid clonal micropropagation *in vitro* of primocane-fruited red raspberry cultivars. Agricultural research institute ministry of Agriculture, Natural resources and the environment // Miscellaneous reports 95. 2007. ISSN 0253-6749, 3-8 p.

11. Б.Ж. Кабылбекова, Н.И. Чуканова, Т.Т. Турдиев, Н. Рымханова, И.Ю. Ковальчук (2020) // Оптимизация клонирования *in vitro* различных генотипов яблони // Вестник КазНУ. Серия биологическая, 80(3), 48–57. <https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b5>

12. Amiri E. M., Elahinia A. / Optimization of medium composition for apple rootstocks / *African Journal of Biotechnology*. 2011. Vol. 10 (18). Pp. 3594–3601.

13. Kepenek K., Karoglu Z. The effects of paclobutrazol and daminozide on *in vitro* micropropagation of some apple (*Malus domestica*) 10. Cultivars and M9-rootstock // *African Journal of Biotechnology*. 2011. Vol. 10 No. 18 (2011). Pp. 4851–4859. Eissn: 1684-5315

14. M.L. Dubrovsky, A. V. Kruzchkov, N.L. Churikova / Patterns of development of advanced clonal apple rootstocks of the Michurinsk State Agrarian University selection in the mother plantation / *BIO Web of Conferences* 23, 01004 (2020). DOI:10.1051/bioconf/20202301004

15. Н.А. Чурикова, Д.О. Горлов, С.А. Муратова / Оценка способности к укоренению по двойных форм яблони в условиях *in vitro* // Сб. Науч. Тру., посвященный 85-летию Мичуринского государственного аграрного университета, - Мичуринск, 2016. ISSN 1992-2582

References

1. S.G. Dolgikh, B.ZH. Kabyzbekova // Perspektivy proizvodstva sertifikirovannogo posadochnogomateriala plodovykh kul'tur v kazakhstanе // Izdenister, Nәtizheler –Issledovaniya, Rezul'taty. №2(98) 2023, ISSN 2304-3334, 133-143 str. DOI: <https://doi.org/10.37884/2-2023/13>
2. B.Tezebaeva, A. KHasejn, A.KHanseitova, G. Esenbaeva, M. Georgieva, N. Malakhova // Optimizatsiya uslovij vvedeniya v kul'turu in vitro i mikroklonal'nogo razmnozheniya rastenij ezheviki (Rubus l.) // Izdenister Natigeler, (3(103), 278–288. DOI: <https://doi.org/10.37884/3-2024/31>
3. R.E. Litz Regeneration of Fruit and Ornamental Trees via Cell and Tissue Culture // Encyclopedia of Applied Plant Sciences / ed. B. Thomas, D.J. Murphy, B.G. Murray. - Amsterdam, 2003. - Vol. 3. 1408-1417 p.
4. M. Mirouze, J. Paszkowski / Epigenetic contribution to stress adaptation in plants // Curr Opin Plant Biol.2011. 14(3): 267-274 p. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.03.004
5. Manpreet S. Mavi , P. Marschner. Adelaide S.A. Impact of salinity on Respiration and Organic Matter Dynamics in Soils is More Closely Related to Osmotic Potential than to Electrical Conductivity // Journal Article. - 2017. – Vol.6. 250 - 254 p. DOI: 10.1016/s1002-0160(17)60418-1
6. Murashige T., Skoog F. / A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / *Physiol. Plant*, 1962. 15:473-497.
7. V. Georgiev, A. Shuman, A. Pavlov, T. Blej / Temporary immersion system in plant Biotechnology. Eng. Life Sci., 2014. 14: 607-621 p. DOI:10.1002/elsc.201300166
8. M.Yu. Pimkin // Kolichestvennaya ocenka ustojchivosti sortov i form yabloni k xloridnomu zasoleniyu // Vestnik Michurinskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo universiteta. ISSN 1992-2582 - 2011.-№ 2-1. 38-41 str.
9. Quoirin M., Lepoivre P. / Etude de milieu adapte aux cultures *in vitro* / C R Acad Sci Paris, 1977. 281: 1309 p.
10. G. J. Minas, D. Neocleous / A protocol for rapid clonal micropropagation *in vitro* of primocane-fruiting red raspberry cultivars. Agricultural research institute ministry of Agriculture, Natural resources and the environment // Miscellaneous reports 95. 2007. ISSN 0253-6749, 3-8 p.
11. B.ZH. Kabyzbekova, N.I. CHukanova, T.T. Turdiev, N. Rymkhanova, I.YU. Koval'chuk (2020) // Optimizatsiya klonirovaniya in vitro razlichnykh genotipov yabloni // Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya, 80(3), 48–57. [khttps://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b5](https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b5)
12. Amiri E. M., Elahinia A. / Optimization of medium composition for apple rootstocks /African Journal of Biotechnology. 2011. Vol. 10 (18). Pp. 3594–3601.
13. Kepenek K., Karoglu Z. The effects of paclobutrazol and daminozide on *in vitro* micropropagation of some apple (*Malus domestica*) 10. Cultivars and M9-rootstock // African Journal of Biotechnology. 2011. Vol. 10 No. 18 (2011). Pp. 4851–4859. Eissn: 1684-5315
14. M.L. Dubrovsky, A. V. Kruzhkov, N.L. Churikova / Patterns of development of advanced clonal apple rootstocks of the Michurinsk State Agrarian University selection in the mother plantation / BIO Web of Conferences 23, 01004 (2020). DOI:10.1051/bioconf/20202301004
15. N.A. Churikova, D.O. Gorlov, S.A. Muratova / Ocenka sposobnosti k ukoreneniyu po dvoynykh form yabloni v usloviyax *in vitro* // Sb. Nauch. Tru., posvyashhennyj 85-letiyu Michurinskogo gosudarstvennogo Agrarnogo universiteta, - Michurinsk, 2016. ISSN 1992-2582

**А. Рахатқызы*¹, Л.С. Ерболова^{1,2}, Қ.П. Аубакирова¹,
Ж.Н. Бақытжанова¹, Н.Н. Галиакпаров¹**

¹КН МНВО РК Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина,
г. Алматы, Республика Казахстан, akbotarahatkyzy1@gmail.com*, karla_78@mail.ru,
bakytzhanovazhibek@gmail.com, nurbol.gal@gmail.com

²НАО Казахский Национальный Медицинский Университет имени С.Д. Асфендиярова,
г. Алматы, Республика Казахстан, yerbolova.laura7@gmail.com

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ КЛОНОВОГО ПОДВОЯ М9

Аннотация

Яблоня М9 – наиболее перспективный для садоводства вид в южной части Западной Европы и Казахстана, но трудно размножаемый в *in vitro*. В качестве экспланта использовались верхушечные и пазушные сегменты почки размером 0,5–2,0 см. Микроклонирование проводилось путем добавления к немодифицированным питательным средам Мурасиге-Скуг (MS) и Woody plant medium (WPM) 6-бензиламинопурина (БАП) – 0,5 мг/л; индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и гиббереллиновой кислоты (ГК) – 0,5 мг/л. Также были добавлены витамины В₁ и В₆ в количестве 0,5 мг/л, аскорбиновая кислота в количестве 1,5 мг/л. А к модифицированным питательным средам Мурасиге-Скуг (MS) и Woody plant medium (WPM) относились индолил-3-масляная кислота (ИМК) и гиббереллиновая кислота (ГК) – 0,01 мг/л; витамины В₁ и В₆ находились в концентрациях 0,1 мг/л и аскорбиновая кислота 1,0 мг/л. Введение в новые питательные среды проводилось через 4 недели. Опыты состояли из 25-30 эксплантов и культивировались в 3 повторностях.

Наиболее оптимальным типом экспланта были верхушечные побеги. Соответственно, их уровень регенерации составил 40% после 1 и 2 месяцев трансплантации в немодифицированных питательных средах Мурасиге-Скуг (MS) и Woody plant medium (WPM). Также количество витаминов 0,5 мг/л привело к гибели эксплантов через 2-3 недели. Микрочеренки образовывали каллусную ткань и подвергались некрозу через 3–4 месяца после пересадки. Применение в модифицированной среде Мурасиге-Скуг 0,5 мг/л, индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и гиббереллиновой кислоты (ГК) – 0,01 мг/л, витаминов В₁ и В₆ 0,1 мг/л и аскорбиновой кислоты 1,0 мг/л полностью решило проблему интенсивного каллусообразования. Через 1 месяца культивирования в этой среде регенеративная способность эксплантов была на 40,7% выше (65,0-85,0% соответственно) по сравнению с другими средами. Прекращение дифференцировки меристематической ткани и некроз эксплантов произошло после 3-4 месяцев культивирования.

Ключевые слова: микроклональное размножение, *in vitro*, клоновый подвой, яблоко, каллус, морфогенез, регенерация.

**А. Rakhatkyzy*¹, L.S. Erbolova^{1,2}, K.P. Aubakirova¹,
B. Zh.N. Bakytzhanova¹, N.N. Galiakparov¹**

¹CS MSHE RK M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry,
Almaty, Republic of Kazakhstan, akbotarahatkyzy1@gmail.com*, karla_78@mail.ru,
bakytzhanovazhibek@gmail.com, nurbol.gal@gmail.com

²NJSC Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov,
Almaty, Republic of Kazakhstan, yerbolova.laura7@gmail.com

MICROCLONAL PROPAGATION OF THE CLONAL ROOTSTOCK M9

Abstract

The apple tree M9 is the most promising species for horticulture in the southern part of Western Europe and Kazakhstan, but it is difficult to propagate in *in vitro*. Apical and axillary segments of the bud measuring 0.5–2.0 cm were used as explants. Microcloning was carried out by adding 6-

benzylaminopurine (BAP) – 0.5 mg/l; indole-3-butyric acid (IBA) and gibberellic acid (GA) – 0.5 mg/l to unmodified Murashige-Skoog (MS) and Woody plant medium (WPM) nutrient media. The vitamins B₁ and B₆ were also added in the amount of 0.5 mg/l, ascorbic acid in the amount of 1.5 mg/l. The modified nutrient media Murashige-Skoog (MS) and Woody plant medium (WPM) included indole-3-butyric acid (IBA) and gibberellic acid (GA) - 0.01 mg / l; vitamins B₁ and B₆ were in concentrations of 0.1 mg / l and ascorbic acid 1.0 mg / l. The introduction into new nutrient media was carried out after 4 weeks. The experiments consisted of 25-30 explants and were cultivated in 3 replicates.

The most optimal type of explant were apical shoots. Accordingly, their regeneration level was 40% after 1 and 2 months of transplantation in unmodified nutrient media Murashige-Skoog (MS) and Woody plant medium (WPM). Also, the amount of vitamins 0.5 mg / l led to the death of explants after 2-3 weeks. Microcuttings formed callus tissue and underwent necrosis 3-4 months after transplantation. The use of 0.5 mg/l in modified Murashige-Skoog medium, indole-3-butyric acid (IBA) and gibberellic acid (GA) – 0.01 mg/l, vitamins B₁ and B₆ 0.1 mg/l and ascorbic acid 1.0 mg/l completely solved the problem of intensive callus formation. After 1 month of cultivation in this medium, the regenerative capacity of explants was 40.7% higher (65.0-85.0%, respectively) compared to other media. The cessation of differentiation of meristematic tissue and necrosis of explants occurred after 3-4 months of cultivation.

Key words: micropropagation, *in vitro*, clonal rootstock, apple, callus, morphogenesis, regeneration.

FTAMP 68.03.03

DOI <https://doi.org/10.37884/4-2024/20>

Д.М. Есенбаева, Н. Исах, Г.А. Байсеитова, А.Н. Ешенгалиева*

*Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Қазақстан,
jansulu.yessenbayeva@kaznaru.edu.kz*, nurguliskah2000@icloud.com,
gulnaz.baiseitova@kaznaru.edu.kz, ayua.yeshengaliyeva@mail.ru*

ҚАЗІРГІ БИОТЕХНОЛОГИЯ КОНТЕКСТІНДЕ СОЯ ӨСІРУГЕ АРНАЛҒАН БАСТАПҚЫ МАТЕРИАЛДАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР

Аңдатпа

Зерттеу жұмыстарына Қазақстанның оңтүстік шығысында орналасқан «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ҒЗИ» ЖШС, Майлы дақылдар бөлімі және молекулалық биология зертханасында сорт сынау питомнигінің бәсекеге қабетті жоғары соя линиялары және де нөлдік аллелі бар T13 локусы бастапқы материал ретінде алынды. Зерттеудің басты міндеті соя дақылын пайдаланғанда, оның тұқымының құрамындағы кездесетін қоректік заттарға қарсы факторлардың бірі трипсин ингибиторының (TI) белсенділігін төмендету болып отыр. Яғни, TI ас қорыту кезінде ақуызды ыдырататын трипсиннің белсенділігін төмендететін ферменттің қызметін бақылау маңызды. Қазіргі уақытта дәстүрлі селекция әдісімен осындай ферменттерді анықтау мүмкін емес. Осыған орай біздің зерттеуімізде лабораториялық жағдайда молекулалық биология әдістерімен соя линияларының тұқымы құрамындағы трипсиннің ингибиторлық белсенділігін және липоксигеназаның Lox2 локусының аллельдері тығыз байланысы Satt 656 праймерінде SSR маркері көмегімен анықталды. Зерттеуге алынған сояның Б-47/411; Б-40/62-24; ЗР 107/3; Б47/53; З 8/2; Е 12/2; Ж 8/2; Ж 8/4; Ж13/2; ИТ 1/6; ИТ 1/5; ИТ 17/3; З 40/; ИТ 1/8; А8/22; ИТ 24/4; ИТ 1/7; ИТ 24/2; ИТ 1/9, ИТ1/3; КТ-41/1; И-23/7 линияларының тұқымдарындағы ақуызды сақтау спектрі және липоксигеназа белсенділігі талданды. Нәтижесінде сояның Б-47/411, ИТ 1/3, Ж 8/2, Б47/53 линияларының тұқымының құрамындағы қоректік затқа қарсы ферменттің төмен мөлшері алынды. Аталған линияларды