Б.К. Тезекбаева*^{1,2}, А. Хасейн^{1,2}, Х.Ә. Беркімбаї¹, Г.Л. Есенбаева²,
М. Георгиева³, Н.П. Малахова¹

¹Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина КН МНВО РК,
г. Алматы, Казахстан, bota151283@mail.ru*, leogold24@mail.ru, b.horlan@bk.ru,
tasha_malakhova@mail.ru

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

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

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ЕЖЕВИКИ СОРТА *HEAVEN CAN WAIT*

Аннотация

В статье представлены результаты экспериментов, направленных на изучение влияния различных регуляторов роста (ауксинов, цитокининов и гиббереллинов) на микроклональное размножение ежевики сорта *Heaven Can Wait* в культуре *in vitro*. В ходе эксперимента исследованы различные концентрации и комбинации гормонов роста: ВАР (6-бензиламинопури́н), ІВА (индол-3-масляная кислота), NAA (нафтилуксусная кислота) и GA₃ (гиббереллин). Установлено, что наибольший коэффициент размножения (8,4) достигался при совместном применении 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л ІВА. Анализ данных показал, что ІВА обладает более выраженным стимулирующим действием на образование микропобегов по сравнению с NAA. При этом введение GA₃ в питательную среду в большинстве случаев снижало коэффициент размножения, и это снижение оказалось статистически значимым. Однако комбинация 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л GA₃ способствовала существенному удлинению побегов (до 4,23 см), что может быть применено на стадии укоренения и акклиматизации. Полученные результаты подчеркивают значимость подбора оптимальных концентраций регуляторов роста при микроклональном размножении отдельных сортов ежевики и могут быть использованы для дальнейшего совершенствования протоколов размножения сорта *Heaven Can Wait* с целью его широкого коммерческого внедрения.

Ключевые слова: ежевика, сорт, питательная среда, экспланты, микроклональное размножение, регуляторы роста.

Введение

Благодаря своим высоким питательным и лечебным свойствам, а также адаптируемости к различным климатическим условиям, ежевика является одной из перспективных ягодных культур в Казахстане. В последние годы наблюдается рост интереса к её возделыванию как в коммерческих, так и в частных хозяйствах, что обусловлено не только её вкусовыми качествами, но и широким спектром биологически активных веществ, таких как витамины, минералы и антиоксиданты [1].

Растение ежевики обладает высокой урожайностью и может использоваться как для свежего потребления, так и для переработки в различные продукты, что делает её важной культурой в аграрной промышленности Казахстана [2].

С увеличением спроса на ежевику возникает необходимость в разработке эффективных методов размножения и получения высококачественного посадочного материала. Микроклональное размножение, являясь высокоэффективной биотехнологией, позволяет быстро и массово получать оздоровленные растения, которые сохраняют сортовые признаки и обладают высокой адаптацией к местным климатическим условиям [3, 4, 5, 6, 7].

Однако процесс микроклонального размножения каждого сорта ежевики требует тщательной оптимизации на различных этапах технологии, и обязательно включает в себя, применение специализированных регуляторов роста. Гормоны растительного происхождения, такие как ауксины, цитокинины и гиббереллины, играют ключевую роль в регуляции клеточного роста, дифференцировке тканей и регенерации органов у растений. Ряд обзорных работ подчёркивает значимость этих гормонов для успешного размножения и адаптации растений к различным условиям [8, 9, 10,11].

Эффективность микроклонального размножения, а также процессы морфогенеза, роста и развития микропобегов во многом зависят от специфического соотношения и распределения регуляторов роста в питательной среде. Несмотря на широкий спектр исследований современных гормонов в различных культурах растений, влияние конкретных гормонов на развитие растений отдельных сортов ежевики *in vitro* остается недостаточно изученным.

Целью настоящей работы является определение оптимального состава питательной среды и концентраций фитогормонов для эффективного микроклонального размножения ежевики сорта *Heaven Can Wait* в культуре *in vitro*.

Методы и материалы

В качестве объектов исследования были использованы растения ежевики *Rubus L.* сорта *Heaven Can Wait* представленным частным крестьянским хозяйством Алматинской области, Енбекшиказахского района.

Сорт *Heaven Can Wait* — это высокоурожайный и устойчивый к болезням сорт, который прекрасно адаптируется к различным климатическим условиям. Выведенный в США, он привлекает садоводов крупными, темными, блестящими ягодами с отличным вкусом — сладким, с легкой кислинкой. Побеги прямостоячие, крепкие и без шипов, что облегчает уход за растением и сбор урожая. *Heaven Can Wait* демонстрирует хороший промышленный потенциал благодаря своей способности к длительному хранению и транспортировке.

В ходе исследований применялись общепринятые методики культуры изолированных клеток, тканей и органов растений [12–13].

Эксплантами для введения в асептическую культуру служили пазушные почки однолетних побегов ежевики. Стерилизацию растительного материала проводили с использованием мыльного раствора, 70% этанола, 1% раствора гипохлорита натрия с добавлением 5-6 капель Твин-20, с последующей промывкой в трех сменах стерильной воды. Меристематические верхушки вычленились под бинокулярным микроскопом, а с поверхности почек удалялись кроющие листья перед высадкой их на питательную среду.

Экспланты помещали в питательную среду Murashige and Skoog (MS), содержащую 0,1 мг/л 6-бензиламинопурина (BAP) [14]. В предыдущих наших исследованиях было установлено, что оптимальной питательной средой для культивирования эксплантов *in vitro* ежевики является среда MS с добавлением 0,1 мг/л BAP. На основе ранее полученных результатов мы выбрали данную среду для нашего эксперимента [15]. 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, pH= 5,6 – 5,7. Через две недели после начала культивирования регенераты были перенесены на среду для размножения. За время эксперимента было проведено 3 субкультивирования с интервалами 3-4 недели.

Для определения оптимальных условий размножения было протестировано несколько регуляторов роста растений. Для выявления наибольшего коэффициента размножения побегов сравнивали различные концентрации и комбинации BAP (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мг/л), IBA (0; 0,1; 0,2, мг/л), NAA (0; 0,1; 0,2 мг/л) и GA₃ (0; 0,1; 0,2 мг/л).

Культивирование растений проводили при температуре воздуха 24-26⁰С, при освещенности 3 тысячи люкс на стеллажах с лампами дневного света в светокультуральной комнате с фотопериодом 18/6 [16]. Опыты проводились в трёхкратной повторности. Каждый вариант включал по 30 эксплантов (микропобегов), которые культивировались в пробирках с питательной средой. Коэффициент размножения рассчитывался как среднее количество новых

побегов, образующихся на одном экспланте. Все статистические вычисления были выполнены с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Коэффициенты t-критерия Стьюдента считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Ключевое влияние на морфогенез в процессе клонального микроразмножения оказывают регуляторы роста, среди которых важнейшую роль на этапе самого микроразмножения играют цитокинины и ауксины. Скорость и степень пролиферации зависят от типа цитокинина, ауксина и их концентрации в среде. Эти гормоны регулируют ключевые процессы, такие как клеточное деление, рост побегов и корнеобразование, что напрямую влияет на эффективность клонального размножения. Предполагается, что варьирование концентраций регуляторов роста растений (цитокининов, ауксинов и гиббереллинов) их сочетания в питательной среде позволит достоверно повысить коэффициент размножения и увеличить морфогенетическую активность эксплантов. Результаты применения различных комбинаций ВАР и ИВА для коэффициента размножения сорта *Heaven Can Wait* представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Средний коэффициент размножения и средняя длина побегов в трех субкультивированиях ежевики сорта *Heaven Can Wait* с использованием различных комбинаций ВАР и ИВА

Варианты Комбинации (мг/л)		Коэффициент размножения в трех субкультивированиях	Длина побегов в трех субкультивированиях, см.
ВАР	ИВА		
0,5	0,0	5,6±0,4	1,54±0,26
0,5	0,1	5,1±0,2	1,81±0,12
0,5	0,2	4,9±0,4	1,56±0,33
1,0	0,0	4,8±0,5	1,74±0,06
1,0	0,1	5,5±0,3	1,62±0,09
1,0	0,2	8,4±0,2	2,01±0,24
1,5	0,0	4,8±0,5	1,78±0,08
1,5	0,1	4,5±0,3	1,78±0,22
1,5	0,2	3,9±0,4	1,88±0,32
2,0	0,0	3,9±0,2	1,86±0,44
2,0	0,1	3,6±0,3	1,63±0,07
2,0	0,2	3,3±0,2	1,54±0,02

* жирным шрифтом отмечены наиболее высокие результаты

Анализ полученных данных показал, что совместное применение ВАР и ИВА оказало статистически значимое влияние на количество развивающихся побегов. Наивысший средний коэффициент размножения в трех субкультурах - 8,4, был достигнут при использовании среды с 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л ИВА, в то время как наименьший коэффициент - 3,3 был получен на среде с 2,0 мг/л ВАР и 0,1, и 0,2 мг/л ИВА.

Одним из ключевых показателей на этапе микрклонального размножения является длина образующихся побегов. Для стимуляции интенсивного роста новых микропобегов удаляют апикальную стеблевую меристему или в питательную среду добавляют цитокинины. Взаимодействие растений с цитокининами подавляет рост верхушечной почки и стимулирует развитие пазушных почек. Однако при повышенной концентрации цитокининов может наблюдаться не только увеличение коэффициента размножения, но и уменьшение длины побегов. Результаты исследования средней длины побегов сорта *Heaven Can Wait* в трех субкультурах на средах с различными комбинациями ВАР и ИВА также представлены в таблице 1. Анализ данных показал, что наибольшие значения длины побегов были отмечены на среде с концентрацией 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л ИВА, тогда как наименьшие значения наблюдались при использовании комбинации 0,5 мг/л ВАР без добавления ИВА. Кроме того, в третьей субкультуре была отмечена положительная динамика увеличения длины побегов по сравнению с первой и второй субкультурами, что может быть связано с адаптацией растительного материала к условиям культуры (рисунок 1).

Рисунок 1 - Микрклональное размножение растений ежевики сорта *Heaven Can Wait*

Результаты исследования среднего коэффициента размножения побегов в трёх субкультурах на средах с различными комбинациями ВАР и NAA представлены в таблице 2. Взаимодействие ВАР и NAA не оказало значительного влияния на коэффициент размножения в первой, второй и третьей субкультурах. Наивысший коэффициент размножения был достигнут при использовании 1,0 мг/л ВАР без добавления NAA — количество микропобегов составило 6,4. Средняя длина побегов также была максимальной при концентрации 1,0 мг/л ВАР без добавления NAA во всех трёх субкультурах. В сравнении с комбинациями ИВА и NAA, именно ИВА продемонстрировал более выраженное влияние на процессы размножения.

Таблица 2 – Средний коэффициент размножения и средняя длина побегов в трех субкультивированиях ежевики сорта *Heaven Can Wait* с использованием различных комбинаций ВАР и NAA

Варианты Комбинации (мг/л)		Коэффициент размножения в трех субкультивированиях	Длина побегов в трех субкультивированиях, см.
ВАР	NAA		
0,5	0,0	5,4±0,2	1,50±0,33
0,5	0,1	2,8±0,3	1,52±0,08
0,5	0,2	2,7±0,4	1,70±0,23
1,0	0,0	6,4±0,2	1,84±0,27
1,0	0,1	2,7±0,5	1,60±0,04
1,0	0,2	3,8±0,3	1,64±0,06
1,5	0,0	3,2±0,2	1,61±0,28
1,5	0,1	2,3±0,4	1,79±0,32
1,5	0,2	4,4±0,5	1,66±0,44
2,0	0,0	2,4±0,2	1,57±0,06
2,0	0,1	2,4±0,2	1,59±0,07
2,0	0,2	2,1±0,5	1,51±0,26

* жирным шрифтом отмечены наиболее высокие результаты

Таким образом, на этапе размножения наиболее оптимальным среди исследуемых вариантов является добавление в питательную среду 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л ИВА, что обеспечивает средний коэффициент размножения микропобегов на уровне 8,4.

Известно, что GA₃ может действовать в сочетании с ауксинами, усиливая рост и удлинение клеток, а также стимулируя образование побегов. В рамках исследования были также изучены эффекты различных концентраций GA₃ на коэффициент размножения сорта *Heaven Can Wait* при использовании оптимальных комбинаций ВАР + ИВА (Рисунок 2).

Рисунок 2 – Влияние различных вариантов комбинаций с ауксинами и концентраций GA₃ на коэффициент размножения сорта *Heaven Can Wait*.

Добавление GA₃ в исследуемых концентрациях сопровождалось снижением коэффициента размножения, при этом полученные различия были статистически значимыми. Вместе с тем, данный регулятор роста способствовал увеличению длины побегов, причём этот эффект усиливался по мере накопления количества субкультур. Максимальная средняя длина побегов (4,23 см) была зафиксирована при использовании комбинации 1,0 мг/л BAP с 0,2 мг/л GA₃, в то время как минимальные значения наблюдались при сочетании 1,0 мг/л BAP, 0,2 мг/л IBA и 0,1 мг/л GA₃ (рисунок 3).

Рисунок 3 - Влияние различных обработок GA₃ на длину побегов сорта *Heaven Can Wait*.

Согласно исследованиям Иванова-Ханина Л. В., Шорникова Д. Г. и др., добавление GA₃ в питательную среду способствует увеличению коэффициента размножения ежевики [8, 17]. Похожие результаты были получены Гашенко О. А. и Фроловой Л. В. [18], которые установили, что оптимальными условиями для микроразмножения ежевики сорта Стэфан являются питательные среды с добавлением 0,5 мг/л BAP и 1,0 мг/л GA₃, при которых коэффициент размножения достигает 4,7. Однако наши исследования показали, что при использовании GA₃ в тестируемых концентрациях коэффициент размножения снижался. В то же время добавление GA₃ положительно влияло на длину побегов, которая увеличивалась с ростом числа субкультур. Сравнительный анализ полученных данных с результатами других исследователей показывает, что эффективность применения GA₃ во многом зависит от вида

растения, сорта и условий культивирования. Так, несмотря на положительное влияние GA₃ на рост побегов в наших опытах, её применение снижало коэффициент размножения. Это подчёркивает необходимость индивидуального подбора фитогормонов для каждой культуры. Одним из таких примеров является исследование Т. Турдиева и соавторов, посвящённое оптимизации технологии клонального микроразмножения груши (*Pyrus communis L.*). В данном исследовании было изучено влияние различных гормонов, включая ауксины и цитокинины, на эффективность размножения груши *in vitro*. Результаты показали, что оптимальный состав питательной среды, содержащий ИВА и GA₃, способствует эффективному размножению эксплантов [19].

Самаан и Нассер в своем исследовании занимались разработкой протокола микроразмножения *in vitro* сорта ежевики *Карака Блэк*. В процессе работы они использовали различные концентрации ВАР, кинетина и GA₃. Результаты показали, что на стадии размножения наиболее предпочтительными были следующие концентрации: ВАР — 0,4 мг/л, кинетин — 0,5 мг/л и GA₃ — 0,1 мг/л [20]. Аналогичные результаты были получены и в исследовании Наджаф-Абади и Хамидогли, которые при размножении *in vitro* бесшипной ежевики использовали питательную среду с 2,0 мг/л ВАР и 0,5 мг/л GA₃, что способствовало максимальному росту побегов [21]. Согласно результатам исследований Оразбаева Г.К. и др., оптимальное развитие *in vitro* регенерантов черной смородины наблюдалось при использовании фитогормональных комбинаций: ИВА в концентрации 0,05–0,1 мг/л с добавлением 0,5 мг/л ВАР, а также при использовании 0,2 мг/л ВАР в сочетании с 0,5 мг/л ИВА. Эти концентрации оказали стимулирующее влияние на морфогенез, обеспечив активный рост и развитие побегов [22]. Похожее исследование провели Ву, Миллер и др., которые анализировали влияние различных сортов ежевики на количество и длину побегов в процессе микроразмножения. В их работе взаимодействие различных концентраций ВАР с 0,1 мг/л ИВА оказало статистически значимое влияние на количество и длину побегов у тестируемых сортов [23]. В нашем исследовании были получены аналогичные результаты с использованием ВАР, однако добавление ИВА привело к лучшим результатам по сравнению с предыдущими исследованиями.

Также следует отметить важность генетической стабильности полученных растений. В исследовании Насрин Сабуни и др., была проведена оценка генетической стабильности растений, полученных методом микроразмножения ежевики с использованием молекулярных маркеров RAPD [24]. Результаты показали высокую степень генетической однородности между клонированными и исходными материнскими растениями при использовании оптимизированных условий размножения. Это подчёркивает важность выбора правильных комбинаций фитогормонов не только для повышения коэффициента размножения, но и для обеспечения генетической стабильности растений *in vitro*.

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают данные, полученные в исследованиях других ученых о значении фитогормонов в процессе микроразмножения ежевики.

Заклучение

В ходе проведённых исследований было установлено, что наивысший коэффициент размножения сорта *Heaven Can Wait* (8,4) был достигнут при использовании комбинации 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л ИВА, в то время как наименьший коэффициент размножения (3,3) наблюдался при применении 2,0 мг/л ВАР в сочетании с 0,1 и 0,2 мг/л ИВА. Согласно полученным данным, при микроразмножении ежевики *in vitro*, ИВА проявляет более высокую эффективность по сравнению с NAA. Применение GA₃ при культивировании сорта *Heaven Can Wait* приводит к снижению коэффициента размножения, при этом наблюдаемые различия являются статистически значимыми. В то же время, при использовании комбинации 1,0 мг/л ВАР и 0,2 мг/л GA₃, было отмечено её положительное влияние на удлинение побегов микрорастений, что позволяет рекомендовать такой состав для применения на стадии укоренения и акклиматизации растений исследуемого сорта ежевики.

Таким образом, в результате проведенных исследований был оптимизирован гормональный состав питательной среды для микроклонального размножения ежевики сорта *Heaven Can Wait* в культуре *in vitro*. Полученные данные являются новыми и имеют значительную практическую ценность, поскольку были получены на ранее не изученном сорте ежевики с точки зрения оптимизации условий эффективного микроклонального размножения. Разработанные протоколы могут быть рекомендованы для использования при организации промышленного производства высококачественного посадочного материала данного сорта в биотехнологических лабораториях питомников, а также для проведения научных исследований в области клеточной биологии на других сортах ежевики.

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. 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.
2. Агроинформационный портал. Выращивание ежевики в Казахстане: потенциал и вызовы // IndexBox. – 2023. – URL: <https://www.indexbox.io/search/production-raspberry-blackberry-blueberry-and-cranberry-kazakhstan>.
3. Долгих С. Г., Кабылбекова Б. Ж. Перспективы производства сертифицированного посадочного материала плодовых культур в Казахстане // Журнал КазНАУ, «Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты». - 2023. – №2 (98). - С. 133-143.
4. Кухарчик Н. Получение посадочного материала плодовых и ягодных растений *in vitro* // Наука и инновации. – 2019. – № 6. – С. 17-21.
5. Guney M, Kafkas S, Kefayati S, Motalebipour EZ, Turkeli Y, Ercisli S, Kafkas E. In vitro propagation of *Physalis peruviana* (L.) using apical shoot explants // *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. – 2016. – 15(5). – P. 109-118
6. Jadan M, Ruiz J., Soria N., Mihai R. A. Synthetic seeds production and the induction of organogenesis in blackberry (*Rubus glaucus* Benth) // *Romanian Biotechnological Letters*. – 2015. – 20 (1). – P. 10134-10142.
7. AbdAlla M.M, Mostafa R.A.A. In Vitro Propagation of Blackberry (*Rubus fruticosus* L.) // *Assiut J. Agric. Sci.* – 2015. – 46. - P. 88-99.
8. 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. - 2019. – № 4(70). – С. 51–59.
9. [Magdi S](#), Fouad M. Influence of Plant Growth Regulators and Dark Pretreatment on Shoot Proliferation, Rooting and Acclimatization of Thorny Blackberry // *Egyptian Journal of Horticulture*. - 2023. - 50(2). – P. 135-148.
10. Clark, J. R., Finn, C. E. Blackberry breeding and genetics, Fruit // *Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. - 2011. 5(1), P. 27-43.
11. Fira A., Clapa D., Plopa C. New aspects regarding the micropropagation of blackberry cultivar 'thornless evergreen' // *Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulturae*. - 2010. - 67(1). P. 41-44.
12. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук. – К.: Наукова думка, 1980. – 488 с.
13. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
14. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.
15. Тезекбаева Б., Хасейн А., Хансеитова А., Есенбаева Г., Георгиева М., Малахова Н. Оптимизация условий введения в культуру *in vitro* и микроклонального размножения растений

ежевики (*Rubus L.*) // Журнал КазНАУ «Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты». - 2024. - № 3(103), – С. 278-288.

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

17. Шорников Д. Г., Брюхина С. А., Муратова С. А., Янковская М. Б., Папихин Р. В. Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур // Вестник российских университетов. Математика. - 2010. №15(2). – С. 640-645.

18. Гашенко О. А., Фролова Л. В. Размножение ежевики сорта Стэфан в культуре *in vitro* // Плодоводство. – 2022. – Т. 31. – №. 1. – С. 144-149.

19. Турдиев Т., Ковальчук И., Успанова Г., Чуканова Н., Фролов С. Оптимизация технологии клонального микроразмножения для сохранения генофонда растений груши (*P. communis L.*) // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2020. – № 4 (98). – С. 5–12.

20. Samaan M. S. F., Nasser M. A. E. Micropropagation of Blackberry (*Rubus fruticosus.*) cv. Karaka Black // *Egyptian Journal of Horticulture.* – 2022. - 49(2). P. 187-198.

21. Najaf-Abadi A.J., Hamidoghlu Y. Micropropagation of thornless trailing blackberry (*Rubus Sp.*) by axillary bud explants // *Australian Journal of Crop Science.* – 2009. -3(4). P. 191-194.

22. Оразбаева Г.К., Хасанов В.Т., Исакаев А.Р., Швидченко В.К. Клональное размножение растений черной смородины (*Ribes Nigrum L.*) *in vitro* // Вестник науки КазАТУ им. С.Сейфуллина. – 2012. - №1 (72).

23. Wu J. H, Miller S. A, Hall H. K, Mooney P. A. Factors affecting the efficiency of micropropagation from lateral buds and shoot tips of *Rubus* // *Plant Cell Tissue Organ Culture.* - 2009. -99. – P. 17-25.

24. Sabooni N., Shekafandeh A., Gharaghani A., Teixeira Da Silva J. A. Tissue culture of *Rubus sp.* by different methods and assessment of genetic fidelity of regenerated plants using RAPD // *Agriculturae Conspectus Scientificus.* – 2022. – 87(3). – P. 223-230.

References

1. 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.

2. Agroiinformacionnyj portal. Vyrashchivanie ezheviki v Kazahstane: potencial i vyzovy // *IndexBox.* – 2023. – URL: <https://www.indexbox.io/search/production-raspberry-blackberry-blueberry-and-cranberry-kazakhstan>.

3. Dolgih S. G., Kabyzbekova B. ZH. Perspektivy proizvodstva certificirovannogo posadochnogo materiala plodovyh kul'tur v Kazahstane // *ZHurnal KazNAU, «Izdenister, natizheler – Issledovaniya, rezul'taty».* - 2023. – №2 (98). - S. 133-143.

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

5. Guney M, Kafkas S, Kefayati S, Motalebipour EZ, Turkeli Y, Ercisli S, Kafkas E. In vitro propogation of *Physalis peruviana (L.)* using apical shoot explants // *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus.* – 2016. – 15(5). – P. 109-118

6. Jadan M, Ruiz J., Soria N., Mihai R. A. Synthetic seeds production and the induction of organogenesis in blackberry (*Rubus glaucus Benth*) // *Romanian Biotechnological Letters.* – 2015. – 20 (1). – P. 10134-10142.

7. AbdAlla M.M, Mostafa R.A.A. In Vitro Propagation of Blackberry (*Rubus fruticosus L.*) // *Assiut J. Agric. Sci.* – 2015. – 46. - P. 88-99.

8. Ivanova-Hanina L. V. Vliyanie gormonal'nogo sostava pitatel'noj sredy na intensivnost' rosta ezheviki *in vitro* // *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo Biologiya. Himiya.* - 2019. – № 4(70). – S. 51–59.

9. Magdi S, Fouad M. Influence of Plant Growth Regulators and Dark Pretreatment on Shoot Proliferation, Rooting and Acclimatization of Thorny Blackberry // *Egyptian Journal of Horticulture.* - 2023. - 50(2). – P. 135-148.

10. Clark, J. R., Finn, C. E. Blackberry breeding and genetics, Fruit // Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. - 2011. 5(1), P. 27-43.
11. Fira A., Clapa D., Plopa C. New aspects regarding the micropropagation of blackberry cultivar 'thornless evergreen' // Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulturae. - 2010. - 67(1). P. 41-44.
12. Kalinin F. L. Metody kul'tury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij / F. L. Kalinin, V. V. Sarnackaya, V. E. Polishchuk. – K.: Naukova dumka, 1980. – 488 s.
13. Butenko R. G. Kul'tura izolirovannyh tkanej i fiziologiya morfogeneza rastenij / R. G. Butenko. - M.: Nauka, 1964. – 272 s.
14. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – R. 473–497.
15. Tezekbaeva B., Hasejn A., Hanseitova A., Esenbaeva G., Georgieva M., Malahova N. Optimizaciya uslovij vvedeniya v kul'turu in vitro i mikroklonal'nogo razmnozheniya rastenij ezheviki (Rubus L.) // Zhurnal KazNAU «Izdenister, natizheler –Issledovaniya, rezul'taty». - 2024. - № 3(103), – S. 278-288.
16. Kornatskiy S. A. New approaches to micropropagation of raspberry. // Acta Horticulturae - 2020. - P. 113-116.
17. Shornikov D. G., Bryuhina S. A., Muratova S. A., Yankovskaya M. B., Papihin R. V. Optimizaciya uslovij kul'tivirovaniya in vitro yagodnyh i dekorativnyh kul'tur // Vestnik Rossijskih universitetov. Matematika. - 2010. №15(2). – S. 640-645.
18. Gashenko O. A., Frolova L. V. Razmnozhenie ezheviki sorta Stefan v kul'ture in vitro // Plodovodstvo. – 2022. – T. 31. – №. 1. – S. 144-149.
19. Turdiev T., Koval'chuk I., Uspanova G., Chukanova N., Frolov S. Optimizaciya tekhnologii klonal'nogo mikrorazmnozheniya dlya sohraneniya genofonda rastenij grushi (P. communis L.) // Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya. – 2020. – № 4 (98). – S. 5–12.
20. Samaan M. S. F., Nasser M. A. E. Micropropagation of Blackberry (Rubus fruticosus.) cv. Karaka Black // Egyptian Journal of Horticulture. – 2022. - 49(2). P. 187-198.
21. Najaf-Abadi A.J., Hamidoghlu Y. Micropropagation of thornless trailing blackberry (Rubus Sp.) by axillary bud explants // Australian Journal of Crop Science. – 2009. -3(4). P. 191-194.
22. Orazbaeva G.K., Hasanov V.T., Isakov A.R., Shvidchenko V.K. Klonal'noe razmnozhenie rastenij chernoj smorodiny (Ribes Nigrum L.) in vitro // Vestnik nauki KazATU im. S.Sejfullina. – 2012. - №1 (72).
23. Wu J. H, Miller S. A, Hall H. K, Mooney P. A. Factors affecting the efficiency of micropropagation from lateral buds and shoot tips of Rubus // Plant Cell Tissue Organ Culture. - 2009. -99. – P. 17-25.
24. Sabooni N., Shekafandeh A., Gharaghani A., Teixeira Da Silva J. A. Tissue culture of Rubus sp. by different methods and assessment of genetic fidelity of regenerated plants using RAPD // Agriculturae Conspectus Scientificus. – 2022. – 87(3). – P. 223-230.

**Б.К. Тезекбаева^{*1,2}, А. Хасейн^{1,2}, Х.Ә. Беркімбай¹, Г.Л. Есенбаева²,
М. Георгиева³, Н.П. Малахова¹**

¹М.А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты» ҚР
ҒЖБМ ҒК, Алматы, Қазақстан, bota151283@mail.ru*, leogold24@mail.ru, b.horlan@bk.ru,
tasha_malakhova@mail.ru

²Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті КЕАҚ, Алматы, Қазақстан,
Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz

³Таулы мал шаруашылығы және егіншілік ғылыми-зерттеу институты, Троян қ.
Ауылы шаруашылық академиясы, София, Болгария, mariageo@gmail.com

БӨРТКЕННІҢ *HEAVEN CAN WAIT* СОРТЫНЫҢ МИКРОКЛОНАЛДЫ КӨБЕЮІНЕ ӨСУ РЕТТЕГІШТЕРДІҢ ӘСЕРІ

Аңдатпа

Мақалада бөрткен өсімдігінің *Heaven Can Wait* сортының *in vitro* жағдайында микроклоналды көбеюіне әртүрлі өсу реттегіштердің әсерін зерттеудің нәтижелері берілген. Тәжірибе барысында өсу гормондарының әртүрлі концентрациясы мен нұсқалары: ВАР (6-бензиламинопури́н), ІВА (индол-3-май қышқылы), NAA (нафтилсірке қышқылы) және GA₃ (гиббереллин) зерттелді. Ең жоғары көбею коэффициентіне (8,4) 1,0 мг/л ВАР және 0,2 мг/л ІВА өсу гормондарын біріктіріп қолданғанда қол жеткізілетіні анықталды. Деректерді талдау, ІВА гормоны NAA гормонымен салыстырғанда микро өсінділердің пайда болуына неғұрлым жоғары әсер ететінін көрсетті. Сонымен қатар, GA₃ гормонын қоректік ортаға енгізу, көп жағдайда көбею жылдамдығын төмендегенін көрсетті, дегенмен, 1,0 мг/л ВАР және 0,2 мг/л GA₃ нұсқасы өскіндердің айтарлықтай ұзаруына (4,23 см-ге дейін) ықпал етті, бұл нәтижені тамырлану және акклиматизация кезеңінде қолдануға болады. Алынған нәтижелер бөрткеннің жекелеген сорттарын микроклональды көбейту кезінде өсу реттегіштерінің оңтайлы концентрациясын таңдаудың маңыздылығын және *Heaven Can Wait* сортын коммерциялық мақсатта кеңінен енгізу үшін пайдалануға болатындығын көрсетеді.

Кілт сөздер: бөрткен, сорт, қоректік орта, экспланттар, микроклоналды көбею, өсу реттегіштер.

***B.K. Tezekbayeva*^{*1,2}, *A. Khassein*^{1,2}, *H.A. Berkimbay*¹, *G.L. Yessenbayeva*²,
*M. Georgieva*³, *N.P. Malakhova*¹**

¹*M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry CS MSHE RK, Almaty, Kazakhstan, bota151283@mail.ru*, leogold24@mail.ru, b.horlan@bk.ru, tasha_malakhova@mail.ru*

²*NAO "Kazakh National Agrarian Research University" Almaty, Kazakhstan, Gulvira.Yessenbayeva@kaznaru.edu.kz*

³*Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan, Agricultural Academy, Sofia, Bulgaria, mariageo@gmail.com*

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS ON THE MICROCLONAL PROPAGATION OF BLACKBERRY VARIETY *HEAVEN CAN WAIT*

Abstract

This article presents the results of experiments aimed at studying the effect of various growth regulators (auxins, cytokinins, and gibberellins) on the microclonal propagation of the 'Heaven Can Wait' blackberry variety *in vitro*. The experiment examined different concentrations and combinations of growth hormones: BAP (6-benzylaminopurine), IBA (indole-3-butyric acid), NAA (naphthalene acetic acid), and GA₃ (gibberellic acid). It was found that the highest multiplication rate (8.4) was achieved by the combined application of 1.0 mg/l BAP and 0.2 mg/l IBA. Data analysis revealed that IBA has a more pronounced stimulating effect on the formation of microshoots compared to NAA. Additionally, the introduction of GA₃ into the nutrient medium generally reduced the multiplication rate, and this reduction was statistically significant. However, the combination of 1.0 mg/l BAP and 0.2 mg/l GA₃ contributed to significant shoot elongation (up to 4.23 cm), which can be applied during the rooting and acclimatization stages. The results highlight the importance of selecting optimal concentrations of growth regulators for the microclonal propagation of specific blackberry varieties and may be used to further improve propagation protocols for '*Heaven Can Wait*' with the aim of its widespread commercial introduction.

Key words: blackberry, cultivar, nutrient medium, explants, microclonal propagation, growth regulators.