

well as to develop measures for the restoration of degraded ecosystems and the prevention of desertification.

Keywords: pasture use, desert ecosystems, vegetation succession, biodiversity, grazing, degradation, weed species

Вклад авторов: Conceptualization, Үсен Қ.; investigation, Үсен Қ., Димеева Л.А., Иманалинова А.А., Калиев Б.Ш.; writing – original draft preparation, Үсен Қ., Димеева Л.А., Калиев Б.Ш., Аубакиров Н.П.; writing – review & editing, Үсен Қ., Димеева Л.А., Иманалинова А.А.; visualization, Иманалинова А.А.; supervision, Үсен Қ.

МРНТИ 68.13.27; 68.35.53

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2025/11>

С.Г. Долгих¹, М.Ж. Саршаева^{*1}, А.К. Ташкенбаева¹

¹«Казахский научно-исследовательский институт плодовоовощеводства», г. Алматы, Казахстан, dolgikhsvet@mail.ru, moka-1993@mail.ru*, etashkenbayeva@mail.ru

ОЗДОРОВЛЕНИЕ И РАЗМНОЖЕНИЕ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ И СОРТОВ СЛИВЫ И ВИШНИ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ В СОЧЕТАНИИ С ТЕРМОТЕРАПИЕЙ

Аннотация

Вирусные заболевания наносят ощутимый вред плодовым культурам, часто делая экономически невыгодной эксплуатацию насаждений или становясь причиной гибели растений в маточниках и садах. Главное в профилактике вирусных инфекций – закладка промышленных плантаций оздоровленным посадочным материалом. Производство оздоровленного посадочного материала состоит из нескольких этапов. В качестве исходных растений выбирают растения, типичные для сорта, отличающиеся высокой продуктивностью. После отбора исходных растений проводят их тестирование на вирусную инфекцию, оздоровление (если тестирование выявило болезни) и размножение. Оздоровление исходных растений проводят методами термотерапии, культуры *in vitro*, хемотерапии и их комбинирование. В статье представлены данные по диагностике сокопереносимых вирусов методом травянистых индикаторов и ОТ-ПЦР, оздоровление сортов и подвоев сливы и вишни методом культуры апикальных меристем в сочетании с термотерапией. Отработаны этапы технологии клонального микроразмножения от стерилизации вводимых в культуру тканей апексов, регенерации, пролиферации (размножение) и ризогенеза (укоренение *in vitro*). Показано влияние монохроматического света на процессы регенерации растительной ткани *in vitro*. В культуру *in vitro* введены растения двух сортов и подвоев сливы, двух сортов и подвоев вишни. Для каждого сорта и формы подвоя косточковых культур оптимизированы условия стерилизации эксплантов при введении в культуру тканей, состав питательных сред на стадиях введения в культуру *in vitro*, микроразмножения и укоренения микроклонированных растений. Отработан режим термотерапии. Установлен положительный эффект красных и синих светодиодных ламп на пролиферацию апексов сортов и подвоев косточковых культур. В культуре *ex vitro* получены безвирусные пребазисные маточные растения клоновых подвоев ВЦ-13 и ВВА-1.

Ключевые слова: вишня, слива, диагностика вирусов, культура апикальных меристем, термотерапия, клональное микроразмножение, монохроматический свет, адаптация *ex vitro*

Введение

В связи с тем, что культура сливы и вишни в южных регионах республики имеет устойчивую тенденцию к повышению удельного веса в посадках, получение оздоровленных саженцев является актуальной задачей.

Сортимент сливы и вишни, вишнево-черешневых гибридов в Казахстане весьма ограничен и в нём полностью отсутствуют перспективные зарубежные сорта, представленные особо крупными плодами. Отсутствие в коллекции оригинальных маточных пребазисных растений сортов и клоновых подвоев, базовых маточников клоновых подвоев и маточно-черенковых садов не позволяет начать собственное производство безвирусного сертифицированного посадочного материала. Невозможно добиться высокой продуктивности насаждений, не используя для его закладки конкурентоспособный оздоровленный посадочный материал, соответствующий мировым стандартам [1,2].

Для ускоренного производства посадочного материала новых, востребованных производителем клоновых подвоев и сортов сливы и вишни, часто имеющегося в единичных экземплярах эффективен метод микроклонального размножения *in vitro* [3].

Научный и производственный опыт показывает, что метод апикальных меристем и клонального микроразмножения является одним из самых перспективных путей оздоровления и ускоренного размножения сортов и подвоев плодовых культур с целью создания оригинальных, безвирусных маточников и маточно-черенковых садов [4].

Наиболее трудоемкими этапами культивирования растений с применением техники *in vitro* являются переходные стадии *in vivo* - *in vitro* – *ex vitro*. Из основных факторов, влияющих на эффективность инициации культуры *in vitro* выделяются следующие: период изоляции, размер первоначального экспланта, система стерилизации, состав питательных сред. В промышленной биотехнологии разработка эффективных систем стерилизации вводимых *in vitro* эксплантов является первоочередной задачей и, как правило, применяется комплексная многоступенчатая стерилизация. Этапы регенерации введенных в культуру тканей апексов, пролиферации и ризогенеза в большой степени зависит от оптимизации питательной среды для конкретного вида растения [5]. Результативность оздоровления косточковых культур *in vitro* увеличивается при сочетании методов апикальных меристем и термотерапии [6,7].

В 2004 г. Казахстан присоединился к Европейской организации защиты растений (EPPO) где принята новая схема производства и сертификации оздоровленных и тестированных на вирусы плодовых и ягодных культур. Эти схемы являются обязательными для всех стран, входящих в EPPO [8]. Нами, впервые в Республике, проведено оздоровление и размножение косточковых культур по схеме, предложенной EPPO с модификацией технологических этапов клонального микроразмножения сортов и подвоев косточковых культур в сочетании с термотерапией, с изучением влияния монохроматического света на процессы регенерации растительной ткани *in vitro*.

Технология, предлагаемая КазНИИ плодоовощеводства, включает:

- 1 – получение безвирусных, оригинальных пребазисных растений изучаемых сортов и подвоев и закрепление их в генофонде для использования как маточных растений;
- 2 – оздоровление и клональное микроразмножение в культуре тканей в комбинации с термотерапией;
- 3 – закладка оригинального базового маточника клоновых подвоев и маточно-черенкового сада сортов вишни и сливы.

Цель: Разработать систему производства оздоровленного сертифицированного пребазисного материала ценных сортов и подвоев косточковых культур биотехнологическими методами.

Задачи:

1. Усовершенствовать методику оздоровления клоновых подвоев и сортов вишни и сливы в культуре тканей в сочетании с термотерапией пребазисных растений.
2. Разработать модифицированную питательную среду для клоновых подвоев и сортов вишни и сливы на этапе введения в культуру тканей, регенерации апексов, микроразмножения

in vitro с увеличением коэффициента размножения и изучением влияния монохроматического света на процессы регенерации растительной ткани *in vitro*

3. Модифицировать питательную среду для ризогенеза клоновых подвоев и сортов вишни и сливы в культуре тканей.

4. Адаптировать в условиях закрытого грунта микроклонированные растения при переходе *in vitro* – *ex vitro*.

Методы и материалы

Объекты исследований: клоновые подвои Колт и Сен Жюльен – для вишни, черешни; ВЦ-13, ВВА-1– для сливы и сорта сливы и вишни: Чудо- вишня, Владимирская, Стенли и Асем.

Микроклональное размножение проводится в лабораторных условиях, а сами операции по изолированию верхушечных меристем и микроклонального размножения проводятся в стерильных условиях (операционная) [5,6].

Оздоровление вишни и сливы методом термотерапии *in vitro* в сочетании с культурой апикальных меристем [9]. Термотерапию растений проводят для оздоровления их от термоллабильных вирусов в специальных термокамерах, с регулируемыми параметрами: температурой, влажностью и освещенностью. Режим и продолжительность обработки: температура в камере $38 \pm 1^{\circ}\text{C}$; влажность не менее 70%; освещенность не менее 3000 лк/м²; продолжительность освещения 16 ч в сутки; длительность обработки 2-4 недели. По каждой форме клоновых подвоев и сортов изучалось 20 растений. Отросшие терминальные побеги срезали и вводили в культуру тканей не менее 100 апексов на каждую форму клонового подвоя и сорта.

Методика тепличного теста на травянистых растениях-индикаторах [10]. В таблице 1 представлены сокопереносимые вирусы, поражающие косточковые культуры и травянистые индикаторы, позволяющие идентифицировать эти вирусы.

Таблица 1 - Диагностика и идентификация вирусов на косточковых культурах (вишня, слива)

Вирусы	Тепличный тест на травянистых индикаторах
Вирус хлоротической пятнистости листьев яблони (<i>Apple chlorotic leafspot trichovirus</i>)	<i>Chenopodium guinoa</i>
Вирус мозаики яблони (<i>Apple mosaic ilarvirus</i>)	<i>Cucumis sativus</i>
Вирус карликовости сливы (<i>Prunus dwarf ilarvirus</i>)	<i>Cucumis sativus</i>
Вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых (<i>Prunus necrotic ringspot ilarvirus</i>)	<i>Cucumis sativus</i>
Вирус Шарки сливы (<i>Plum pox potyvirus</i>)	<i>Chenopodium Guino</i>
Вирус скручивания листьев черешни (<i>Cherry leaf roll nepovirus</i>)	<i>Chenopodium Guinoa</i> ,
Вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (<i>Stawberry latent ringspot virus</i>)	<i>Chenopodium Guinoa</i> ,
Вирус черной кольцевой пятнистости томата (<i>Tomato black ring nepovirus</i>)	<i>Chenopodium Guinoa</i>
Вирус мозаики резухи (<i>Apple mosaic ilarvirus</i>)	<i>Chenopodium Guinoa</i>
Вирус латентной кольцевой пятнистости Миробалана (<i>Myrobalan latent ringspot virus</i>)	<i>Chenopodium Guinoa</i>

Идентификация вирусов растений методом ОТ-полимеразной цепной реакции [11,12]. Методика проведения анализа с использованием метода ОТ-ПЦР включает в себя следующие этапы: выделение РНК из анализируемого образца; обратная транскрипция РНК; амплификация специфических фрагментов ДНК; детекция продуктов амплификации.

Результаты и обсуждение

Перед оздоровлением пребазисных растений в культуре тканей их проверили на наличие сокопереносимой вирусной инфекции тепличным тестом на травянистых индикаторах и ПЦР. Результаты исследований показали, что сорта сливы – Стенли (выведен в США, в начале 20 века) и Асем (селекция КазНИИПиВ) поражены вирусом PPV (таблица 2).

Интродуцированный вишнево-черешневый гибрид - Дюк Чудо-вишня (выведен на Донецкой исследовательской станции садоводства) и сорт вишни Владимирская свободны от вирусов, представленных в таблице 2. Все изучаемые подвои: Колт (Английская селекция), Сен Жюльен (выведен во Франции), ВВА1 (Выведен на Крымской опытно-селекционной станции), ВЦ13 (Выведен на Крымской опытно-селекционной станции) свободны от вирусной инфекции.

Таблица 2 - Результаты тестирования образцов сливы и вишни и их подвоев на наличие вирусной инфекции методом травянистых индикаторов и ОТ-ПЦР

Сорт, подвой	Индикатор	Вирус	ОТ-ПЦР
Стенли	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	Вирус Шарки сливы (<i>Plum pox potyvirus</i>)	+
Асем	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	Вирус Шарки сливы (<i>Plum pox potyvirus</i>)	+
Чудо вишня	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	-	-
Владимирская	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	-	-
Колт	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	-	-
Сен Жюльен	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	-	-
ВВА1	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	-	-
ВЦ13	Cucumis sativus, Chenopodium guinoa	-	-

Для освобождения от вирусной инфекции применили комбинацию методов термотерапии и культуры тканей. Термотерапию проводили 2 раза, первый раз у срезанных в апреле побегов и помещенных в термостат при $t\ 38^{\circ}\text{C}$ на 2 недели. Известно, что приживаемость меристемы и ее регенерирующая способность зависит от величины эксплантов. Установлено, что экспланты размером 0,5-1 мм, состоящие из меристематического купола и нескольких видимых зачатков листьев развиваются слабо, их приходится каждую неделю пересаживать на свежую питательную среду, чтобы ускорить регенерацию. Более крупные экспланты легче регенерируют, у них выше генетическая стабильность, однако высока возможность инфицированности вирусами и микоплазмами. С целью увеличения размера вводимого в культуру тканей экспланта применили термотерапию побегов в период выхода их из состояния покоя. Отросшие апексы размером 0,5 см вводились в культуру тканей. Второй раз термотерапию проводили на введенных в культуру тканей апексах растений в августе месяце. Микрорастения в колбочках, находящиеся на этапе пролиферации (размножение) культивировали в термостате при $t\ 38^{\circ}\text{C}$ в течение 10 дней (рисунок 1), затем проводили пассаж на свежую питательную среду, при этом пересаживали верхнюю часть побегов размером 1 см.



Рисунок 1 – Термотерапия растений сливы и вишни и их подвоев в культуре *in vitro*

Введены в культуру тканей 2 формы клоновых подвоев косточковых культур – Колт и Сен Жюльен, 2 сорта сливы Стенли и Асем (на рисунках 2 и 3 показан этап регенерации и пролиферации введенных апексов клоновых подвоев), на рисунке 4 – этап регенерации и пролиферации сортов сливы, 2 сорта вишни – Владимирская и Чудо-вишня. Проведен скрининг различных режимов стерилизации на этапе введения 650 апексов в культуру тканей 4-х форм подвоев. Апексы вводились в культуру тканей с 01.04 по 26.06. За время культивирования от введения в культуру тканей до активной пролиферации проведено 7 пассажей (пересадки) через каждые три недели. Установлен оптимальный режим стерилизации 5-10% гипохлоритом натрия в течении 5-10 минут в зависимости от генотипа и вводимой части вегетативного побега (почка, растущий побег). Для повышения регенерации и снятия фенольного окисления в период стерилизации апексов в промывочную стерильную воду добавляли витамины в ампулах для инъекций – тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота и витамин С в разных концентрациях. Выход стерильных апексов при введении в первую волну роста (апрель- июнь) в среднем по всем формам подвоев и сортов составил 80%. Регенерация в среднем по подвоям и сортам отмечена у 40% введенных в культуру тканей апексов, при этом отмечены генотипические особенности введенных в культуру тканей подвоев и сортов. Регенерация у подвоев была выше и составила 45% от введенных в культуру тканей апексов, а у сортов 35% (рисунок 2,3).



А



В

Рисунок 2 – Регенерация апексов подвоев Сен Жюльен (А) и Колт (В)



Рисунок 3- Регенерация (А) и пролиферация (В) апексов сортов сливы Стенли и Асем

Регенерация апексов в культуре тканей зависит от времени года, в которое эксплант был введен *in vitro*. Установлено, что для косточковых культур оптимальным периодом для вычленения эксплантов и введения их в культуру тканей является апрель – июнь, т.е. период активного пробуждения почек и роста побегов. Показано, что меристематические верхушки сортов сливы, вишни и их подвоев, заготовленные в период жаркого лета (вторая половина июля - август) и введенные *in vitro*, выделяют значительное количество фенолов в среду, идет угнетение роста и гибель эксплантов. В конце июля, в период второй волны роста, ввели в культуру тканей Дюк Чудо-вишня. Выживаемость эксплантов, вычлененных в этот период составляет не более 30%, в то время как вычлененных и введенных в культуру тканей в мае – 80%. Таким образом, большую результативность можно достичь при введении меристематических верхушек в культуру тканей в период, приуроченный к биологическим циклам развития самого растения. Для условий юго-востока Казахстана лучшим сроком является период апрель-май – июнь.

Одной из сложностей в технологии клонального микроразмножения при введении апексов в культуру тканей в более поздние сроки (июль - август) для косточковых культур является ингибирование ростовых процессов экспланта токсическими веществами, выделяемыми им в питательную среду. В результате травмы, полученной эксплантом при изолировании, активизируются ферменты, окисляющие фенолы растений, различные фенолазы. Продукты окисления фенолов обычно ингибируют деление и рост клеток экспланта, снижают активность гиббереллинов, подавляя образование и функцию гидролитических ферментов, угнетая рост стебля. Антагонистическое действие природных ингибиторов обнаружено и в отношении цитокининов, что отрицательно сказывается на росте почек *in vitro*.

Для инактивации фермента полифенолоксидазы и блокирования в ней ионов меди в среду добавлялись антиоксиданты: аскорбиновая кислота в концентрации 10 мг/л, что повысило регенерацию эксплантов при фенольном окислении до 55%.

На основании анализа литературных источников универсальной для косточковых культур является среда Мурасиге-Скуга с различными модификациями [13]. И хотя на средах Нича [14], Уайта [15], Гамборга [16], Андерсона [17], Ллойда-Маккауна [18], Кворина-Лепорье [19] на определенных этапах микроразмножения получают положительные результаты, при дальнейшем культивировании растительных тканей, их часто приходится пересаживать на среду Мурасиге-Скуга. Модификация разных авторов отличается оптимальными добавками

витаминов и регуляторов роста к минеральным веществам в любой из перечисленных сред на различных этапах выращивания экспланта. Наша модификация показала, что оптимальными добавками для клоновых подвоев и сортов косточковых культур является содержание 6-БАП (6-бензиламинопурин) в среде при введении в культуру тканей 0,3-0,5 мг/л, а на этапе размножения – 1,5-2,0 мг/л (таблица 3, рисунок 4). Коэффициент размножения у сортов был ниже, чем у подвоев. Коэффициент размножения у подвоев был почти в два раза выше, чем у сортов, что определяется генотипическими особенностями. Максимальный коэффициент размножения отмечен у подвоя Сен Жюльен 1:6.

Таблица 3 -Влияние 6БАП на пролиферацию сортов и подвоев сливы и вишни

Сорт/подвой	Коэффициент размножения к 4 пассажу	Сорт/подвой	Коэффициент размножения к 4 пассажу
Стенли	1:3±0,32	Сен-Жюльен	1:6±0,53
Асем	1:3±0,24	ВВА1	1:4±0,33
Владимирская	1:2±0,13	ВЦ13	1:4±0,41
Чудо вишня	1:2±0,11	Среднее по сортам	1:2,5 ±0,20
Колт	1:4±0,32	Среднее по подвоям	1:4,5±0,40



А

В

Рисунок 4. Проллиферация клоновых подвоев Сен Жюльен (А) и Колт (В)

Известно, что более избирательны растениями синий и красный спектры света. Длина световой волны красного цвета находится в диапазоне 625-740 нм, синего - 440 - 485 нм. Спектр белого света лежит в диапазоне 380-780 нм, то есть включает все цвета видимого света, однако для каждой фазы вегетации растений необходимо воздействие конкретного спектра.

Положительный эффект на регенерацию и пролиферацию апексов сортов и подвоев косточковых культур показало культивирование апексов в культуре тканей при розовом световом освещении (красные + синие светодиодные лампы) (рисунок 5), что в среднем на 10-15% увеличило коэффициент размножения.



Рисунок 5. – Проплиферация сортов (А) и подвоев косточковых культур (В)

В контейнерной культуре получены 10 корнесобственных пребазисных растений вишни Владимирской, 25 базовых растений клонового подвоя ВЦ-13 и 15 базовых растений клонового подвоя ВВА-1 (рисунок 6). Для пересадки растений из асептических условий (*in vitro*) в нестерильные (*ex vitro*) с целью получения безвирусной контейнерной культуры подобраны субстраты: почва:торф:песок-1:1:1.

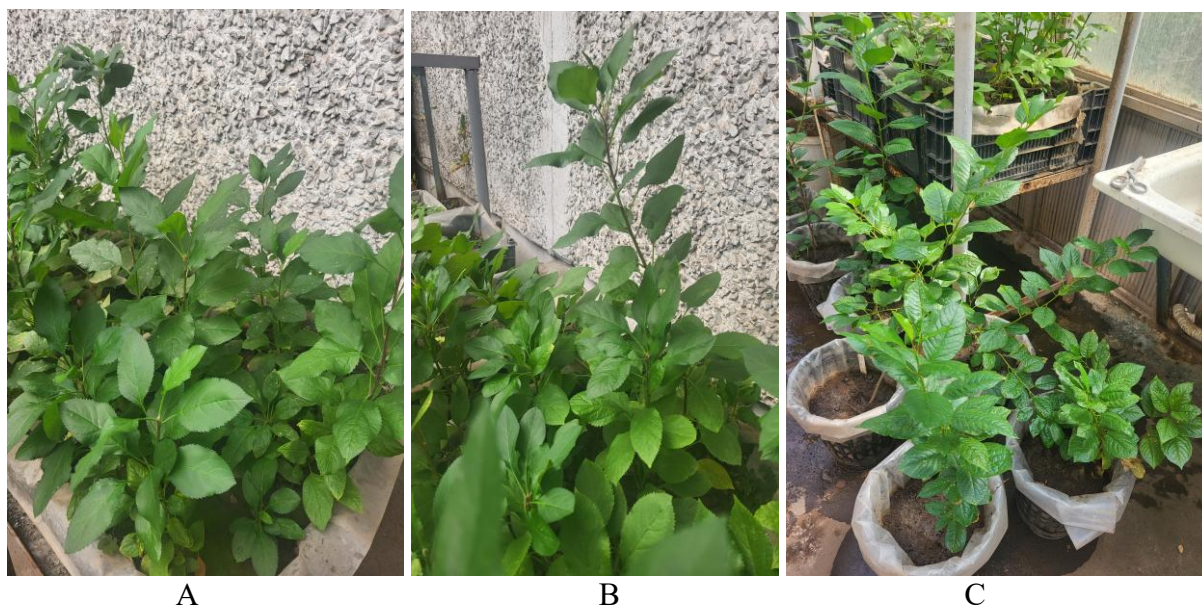


Рисунок 6. –Базовые растения клоновых подвоев ВВА-1 (А), ВЦ-13 (В) и вишни Владимирская (С)

Выводы

- Методом индикаторов и ОТ-ПЦР проведено тестирование 4 сортов сливы и вишни и 4 форм клоновых подвоев на вирусную инфицированность. Сорта сливы – Стенли и Асем поражены вирусом Шарки (PPV). Интродуцированный вишнево-черешневый гибрид - Дюк Чудо-вишня и сорт вишни Владимирская свободны от 10 вирусов, поражающих косточковые культуры и входящих в сертификационный список ЕРРО. Все изучаемые подвои: Колт, Сен Жюльен, ВВА1 и ВЦ13 свободны от вирусной инфекции.

- Для освобождения от вирусной инфекции применили комбинацию методов термотерапии и культуры тканей. Отработан режим термотерапии. Термотерапию проводили в два этапа: 1 -у срезанных побегов в начале апреля, в период выхода растений из зимнего покоя и помещенных в термостат при $t\ 38^{\circ}\text{C}$ на 2 недели. Пробудившиеся и отросшие из почек побеги вводились в культуру тканей; 2- термотерапию проводили на введенных в культуру тканей апексах растений и находящихся на этапе пролиферации в августе месяце. Микрорастения, находящиеся в колбочках, культивировали в термостате при $t\ 38^{\circ}\text{C}$ в течение 10 дней, затем проводили пассаж на свежую питательную среду.

- Введены в культуру тканей апикальные меристемы 8 сорто-образцов. Установлен оптимальный режим стерилизации 5-10% гипохлоритом натрия в течении 5-10 минут в зависимости от генотипа и вводимой части вегетативного побега (почки, растущий побег). Для повышения регенерации и снятия фенольного окисления в период стерилизации апексов в промывочную стерильную воду добавляли витамины – тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота и витамин С в разных концентрациях. Выход стерильных апексов в среднем по всем формам подвоев и сортов составил 80% . Регенерация в среднем по подвоям и сортам отмечена у 40% введенных в культуру тканей апексов, при этом отмечены генотипические особенности введенных в культуру тканей подвоев и сортов. Регенерация у подвоев была выше и составила 45% от введенных в культуру тканей апексов, а у сортов - 35%. Показано, что оптимальными концентрациями цитокининов для клоновых подвоев и сортов косточковых культур является содержание 6-БАП (6-бензиламинопурин) в среде при введении в культуру тканей 0,3-0,5 мг/л, а на этапе размножения – 1,5-2,0 мг/л в зависимости от генотипа.

-Положительный эффект на пролиферацию апексов сортов и подвоев косточковых культур показало культивирование апексов в культуре тканей при розовом световом освещении (красные + синие светодиодные лампы), что в среднем на 10-15% увеличило коэффициент размножения.

- В контейнерной культуре получено 40 базовых растений клоновых подвоев ВЦ-13 и ВВА-1 и 10 растений корнесобственной пребазисной вишни сорта Владимирская.

Благодарность. Статья подготовлена в рамках НТП МСХ BR22884599 «Создать новые сорта плодово - ягодных культур и винограда с заданными параметрами, разработать зональные технологии для высокопродуктивных насаждений с использованием современной методологии», 2024-2026 гг.

Список источников

1 Борисова А. А. РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ СЕРТИФИКАЦИИ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА В САДОВОДСТВЕ РОССИИ //САДОВОДСТВО И ВИНОГРАДАРСТВО. – 2010. – №. 4. – С. 22-24.

2 Уразаева М., Ефремова Ю., Ормакаев А. ИНТРОДУЦИРОВАННЫЕ КЛОНОВЫЕ ПОДВОИ КОСТОЧКОВЫХ //Izdenister natigeler. – 2023. – №. 2 (98). – С. 143-153. <https://doi.org/10.37884/2-2023/14>

3 Кабылбекова Б., Нурсейтова Т., Юсупова З., Ковальчук И., Чуканова Н., Уразаева М., Маденова А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР В КАЗАХСТАНЕ И ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO* ЗДОРОВЫХ РАСТЕНИЙ//Izdenister natigeler. – 2024. – №. 3 (103). – С. 86-97. <https://doi.org/10.37884/3-2024/10>

4 Минаев В. А., Верзилин А. В., Высоцкий В. А. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ И КАЧЕСТВО ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОДВОЙНОГО МАТЕРИАЛА ЯБЛОНИ //Садоводство и виноградарство. – 2005. – №. 4. – С. 12-14.

5 Кухарчик Н.В., Кастрицкая М.С., Колбанова Е.В. и др. РАЗМНОЖЕНИЕ ПЛОДОВЫХ, ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ, ВИНОГРАДА И ХМЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*. -Минск.- изд. «Колорград».- 2021.-397 с.

6 Min-Rui Wang, Zhen-Hua Cui, Jing-Wei Li, Xin-Yi Hao & Qiao-Chun Wang. *IN VITRO THERMOTHERAPY- BASED METHODS FOR PLANT VIRUS ERADICATION*//Plant Methods 14, 87.-2018

7 Barba M, Ilardi V, Pasquini G. CONTROL OF POME AND STONE FRUIT VIRUS DISEASES. In: Loebenstein G, Katis NI, editors. Advances in virus research, vol.91. Burlington: Academic Press, 2015. P.47-83

8 EPPO Standards - Certification schemes -PM 4/27(1) Pathogen-tested material of Malus, Pyrus and Cydonia // EPPO Bulletin. - 1999. -Vol. 29, № 3. - P. 239-252.

9 Лукичева Л. А., Митрофанова О. В., Лесникова-Седошенко Н. П. ОЗДОРОВЛЕНИЕ СОРТОВ ВИШНИ (*PRUNUS CERASUS* L.) И СЛИВЫ (*PRUNUS DOMESTICA* L.) ОТ ВИРУСОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОМ //Биология растений и садоводство: теория, инновации. – 2007. – №. 127. – С. 27-34.

10 Долгих С.Г. Рекомендации «ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗВИРУСНОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ПЛОДОВЫХ, ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР И ВИНОГРАДА».- 2020.- 57 с.

11 Упадышев М. Т. и др. ДИАГНОСТИКА ВИРУСОВ СЕМЕЧКОВЫХ И КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР МЕТОДАМИ ИФА И ПЦР. – 2008.

12 Rwanh M. A. et al. MOLECULAR VARIABILITY OF APPLE CHLOROTIC LEAF SPOT VIRUS IN DIFFERENT HOSTS AND GEOGRAPHICAL REGIONS //Journal of Plant Pathology. – 2004. – С. 117-122.

13 Murashige T., Skoog F. A REVISED MEDIUM FOR RAPID GROWTH AND BIO ASSAYS WITH TOBACCO TISSUE CULTURES //Physiologia plantarum. – 1962. – Т. 15. – №. 3.

14 Nitsch J. P., Nitsch C. HAPLOID PLANTS FROM POLLEN GRAINS //Science. – 1969. – Т. 163. – №. 3862. – С. 85-87.

15 White P. R. THE CULTIVATION OF ANIMAL AND PLANT CELLS //(No Title). – 1963.

16 Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. NUTRIENT REQUIREMENTS OF SUSPENSION CULTURES OF SOYBEAN ROOT CELLS //Experimental cell research. – 1968. – Т. 50. – №. 1. – С. 151-158.

17 Anderson W. C. ROOTING OF TISSUE CULTURED RHODODENDRONS. – 1978.

18 Lloyd G., McCown B. COMMERCIALY-FEASIBLE MICROPROPAGATION OF MOUNTAIN LAUREL, *KALMIA LATIFOLIA*, BY USE OF SHOOT-TIP CULTURE. – 1980.

19 Quoirin M., Lepoivre P. H. IMPROVED MEDIA FOR *IN VITRO* CULTURE OF *PRUNUS SPECIES* //Symposium on Tissue Culture for Horticultural Purposes 78. – 1977. – С. 437-442.

References

1 Borisova A. A. ROL' I ZNACHENIE SERTIFIKACII POSADOCHNOGO MATERIALA V SADOVODSTVE ROSSII //SADOVODSTVO I VINOGRADARSTVO. – 2010. – №. 4. – С. 22-24.

2 Urazaeva M., Efremova Yu., Ormakaev A. INTRODUCIROVANNYE KLONOVYE PODVOI KOSTOCHKOVYH //Izdenister natigeler. – 2023. – №. 2 (98). – С. 143-153. <https://doi.org/10.37884/2-2023/14>

3. Kabyzbekova B., Nursejtova T., Yusupova Z., Koval'chuk I., Chukanova N., Urazaeva M., Madenova A. OPREDELENIE SOSTAVA VIRUSNYH BOLEZNEJ KLONOVYH PODVOEV KOSTOCHKOVYH KULTUR V KAZAHSTANE I OSOBENNOSTI RAZMNOZHENIYA IN VITRO ZDOROVYH RASTENIJ//Izdenister natigeler. – 2024. – №. 3 (103). – С. 86-97. <https://doi.org/10.37884/3-2024/10>

4 Minaev V. A., Verzilin A. V., Vysockij V. A. EFFEKTIVNOST' KLONAL'NOGO MIKRORAZMNOZHENIYA I KACHESTVO OZDOROVLENNOGO PODVOJNOGO MATERIALA YABLONI //SADOVODSTVO I VINOGRADARSTVO. – 2005. – №. 4. – С. 12-14.

5. Kuharchik N.V., Kastrickaya M.S., Kolbanova E.V. i dr. RAZMNOZHENIE PLODOVYH, YAGODNYH RASTENIJ, VINOGRADA I HMELYA V KUL'TURE IN VITRO.-Minsk.- izd. «Kolorgrad».- 2021.-397 s.
- 6 Min-Rui Wang, Zhen-Hua Cui, Jing-Wei Li, Xin-Yi Hao & Qiao-Chun Wang. IN VITRO THERMOTHERAPY- BASED METHODS FOR PLANT VIRUS ERADICATION//Plant Methods 14, 87.-2018
- 7 Barba M, Iardi V, Pasquini G. CONTROL OF POME AND STONE FRUIT VIRUS DISEASES. In: Loebenstein G, Katis NI, editors. Advances in virus research, vol.91. Burling ton: Academic Press, 2015. P.47-83.
- 8 EPPO Standards - Certification schemes -PM 4/27(1) Pathogen-tested material of Malus, Pyrus and Cydonia // EPPO Bulletin. - 1999. -Vol. 29, № 3. - P. 239-252.
- 9 Lukicheva L. A., Mitrofanova O. V., Lesnikova-Sedoshenko N. P. OZDOROVLENIE SORTOV VISHNI (PRUNUS CERASUS L.) I SLIVY (PRUNUS DOMESTICA L.) OT VIRUSOV S ISPOL'ZOVANIEM BIOTEKHNOLOGICHESKIH PRIEMOV //Biologiya rastenij i sadovodstvo: teoriya, innovacii. – 2007. – №. 127. – S. 27-34.
- 10 Dolgih S.G. Rekomendacii «TEKHNOLOGIYA PROIZVODSTVA BEZVIRUSNOGO POSADOCHNOGO MATERIALA PLODOVYH, YAGODNYH KUL'TUR I VINOGRADA».- 2020.- 57 s.
- 11 Upadyshev M. T. i dr. DIAGNOSTIKA VIRUSOV SEMECHKOVYH I KOSTOCHKOVYH KUL'TUR METODAMI IFA I PCR. – 2008.
- 12 Rwnih Al M., Turturo C., Minafra A. et al. MOLECULAR VARIABILITY OF APPLE CHLOROTIC LEAF SPOT VIRUS IN DIFFERENT HOSTS AND GEOGRAPHICAL REGIONS // J. Plant Pathol. – 2004. – Vol. 86, N2. – P.117-122.
- 13 Murashige T., Skoog F. A REVISED MEDIUM FOR RAPID GROWTH AND BIOSAYS WITH TOBACCO TISSUE CULTURES. Physiol. Plant. 1962, v.15, №13, P.473-497.
- 14 Nitsch J. P., Nitsch C. HAPLOID PLANTS FROM POLLEN GRAINS // Science. 1969. Vol. 163. P.85-87.
- 15 White P. R. THE CULTIVATION OF ANIMAL AND PLANT CELLS. 2nd ed. New York: Ronald. 1963
- 16 Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. NuTRIENT REQUIREMENTS OF SUSPENSION CULTURES OF SOYBEAN ROOT CELLS// Exp Cell Res.- 1968.- Vol.50.- P.157-158.
- 17 Anderson W. C. ROOTING OF TISSUE CULTURED RHODODENDRONS. Proceedings of the International Plant Propagator's Society28: 1978, p. 135–139.
- 18 Lloyd, G, McCown B. CommerCIALLY- FEASIBLE MICROPROPAGATION OF MOUNTAIN LAUREL, KALMIA LATIFOLIA, BY USE OF SHOOT TIP CULTURE// Comb. Proc.Int. Plant Prop. Soc.-1980.- Vol.30.-P.421-427.
- 19 Quoirin M., Lepoivre P. IMPROVED MEDIA FOR IN VITRO CULTURE OF PRUNUS SPECIES. Acta Horticulturae 78. 1977. P. 437–442.

С.Г. Долгих¹, М.Ж. Саршаева^{*1}, А.К. Ташкенбаева¹

¹«Казахский научно-исследовательский институт плодОВООВОЩЕВОДСТВА», г. Алматы, Казахстан, dolgikhsvet@mail.ru, moka-1993@mail.ru*, etashkenbayeva@mail.ru

ТЕРМОТЕРАПИЯНЫ ҚОЛДАНА ОТЫРЫП, ҰЛПА КУЛЬТУРАСЫНДА ҚАРА ӨРІК ПЕН ШИЕНІҢ КЛОНДЫҚ ТЕЛІТУШІСІ МЕН СОРТТАРЫН САУЫҚТЫРУ ЖӘНЕ КӨБЕЙТУ

Аңдатпа

Вирустық аурулар жеміс дақылдарына айтарлықтай зиян келтіреді, көбінесе көшеттерді пайдалануды экономикалық тұрғыдан тиімсіз етеді немесе аналық бақтар мен бақтарда өсімдіктердің өліміне әкеледі. Вирустық инфекциялардың алдын-алуға ең бастысы- өнеркәсіптік плантацияларды сауықтырылған отырғызу материалымен отырғызу. Сауықтырылған отырғызу материалын өндіру бірнеше кезеңнен тұрады. Бастапқы өсімдіктер ретінде жоғары өнімділікпен ерекшеленетін сорттарға тән өсімдіктер таңдалады. Бастапқы

өсімдіктерді таңдағаннан кейін оларды вирустық инфекцияға және сауықтыруға (егер тестілеу ауруды анықтаса) және көбеюге тестілеу жүргізіледі. Бастапқы өсімдіктерді сауықтыру термотерапия, *in vitro* культурасы, химиотерапия және оларды біріктіру әдістерімен жүзеге асырылады. Мақалада шөптік индикаторлар мен RT-ПТР әдісімен шырынды вирустарды диагностикалау, термотерапиямен бірге апикальды меристема культурасы әдісімен қара өрік пен шие сорттары мен телітушілерін сауықтыру туралы мәліметтер келтірілген. Культураға енгізілген апекс тіндерін зарарсыздандырудан, регенерациядан, пролиферациядан (көбеюден) және ризогенезден (*in vitro* тамырланудан) клондық микрокөбейту технологиясының кезеңдері пысықталды. Монохроматикалық жарықтың *in vitro* өсімдік тінінің регенерация процестеріне әсері көрсетілген. *In vitro* мәдениетіне қара өріктің екі сорты өсімдіктер мен телітушісі, шиенің екі сорты және телітушісі енгізілді. Сүйекті жемісті дақылдардың әр сорттары мен телітушілерінің формалары үшін тіндер культурасына енгізу кезінде экспланттарды зарарсыздандыру шарттары, культураға *in vitro* енгізу, микроклондалған өсімдіктерді микрокөбейту және тамырлау кезеңдеріндегі қоректік орталардың құрамы оңтайландырылды. Термотерапия режимі пысықталды. Қызыл және көк жарық диодты шамдардың сүйекті дақылдардың сорттары мен телітушілерінің көбеюіне оң әсері анықталды. *Ex vitro* культурасында ВЦ-13 және ВВА-1 клондық телітушілердің вируссыз прибазистік аналық өсімдіктері алынды.

Кілт сөздер: шие, қара өрік, вирустық диагностика, апикальды меристема культурасы, термотерапия, клондық микрокөбейту, монохроматикалық жарық, *ex vitro* бейімделу.

S.G. Dolgikh¹, M. Zh.Sarshaeva^{*1}, A.K. Tashkenbayeva¹

¹Kazakh Research Institute of Horticulture, c. Almaty, Kazakhstan, dolgikhsvet@mail.ru,
moka-1993@mail.ru*, etashkenbayeva@mail.ru

HEALING AND PROPAGATION OF CLONAL ROOTSTOCKS AND VARIETIES OF PLUM AND CHERRIES IN TISSUE CULTURE IN COMBINATION WITH THERMOTHERAPY

Abstract

Viral diseases cause significant harm to fruit crops, often making it economically unprofitable to operate plantations or causing the death of plants in the nursery and gardens. The main thing in the prevention of viral infections is the planting of industrial plantations with cured planting material. The production of improved planting material consists of several stages. Initial plants choose plants, typical for the variety, characterized by high productivity. After the selection of the original plants, they are tested for viral infection and recovery (if testing revealed diseases) and reproduction. Healing of the initial plants is carried out by the method of apical meristem culture, thermotherapy methods, chemotherapy and their combination. The article presents data on the diagnosis of juice-carrying viruses by the method of herbaceous indicators and RT-PCR, the improvement of varieties and rootstocks of plums and cherries by the method of culture of apical meristem in combination with thermotherapy. The stages of clonal micropropagation technology from sterilization of apex tissues introduced into the culture, regeneration, proliferation (reproduction) and rhizogenesis (rooting *in vitro*) have been worked out. The influence of monochromatic light on the processes of regeneration of plant tissue is shown *in vitro*. In culture *in vitro* introduced plants two varieties and two rootstocks of plum, two varieties and two rootstocks of cherry. For each varieties and rootstocks optimized conditions for sterilization of explants introduction to tissue culture. The composition of nutrients in stages introduction *in vitro*, micropropagation and rooting microcloned plants. Thermotherapy regimen worked out. Established by positive effect of red and blue LED lamps on the proliferation of apex varieties and rootstocks of stone crops. In culture *ex vitro* obtained virus-free pre-basic uterine plants of clone rootstocks WC-13 and BBA-1.

Key words: Cherry, plum, virus diagnostics, apical meristem culture, thermotherapy, clonal micropropagation, monochromatic light, adaptation *ex vitro*

Вклад авторов

Долгих С.Г. Концептуализация (выбор направления исследований, цели, задачи) Курирование данных (решения поставленных задач и постановки научных опытов). Методология, Надзор, Проверка (Анализ полученных результатов, математическая обработка данных) Написание статьи - литературный обзор, результаты исследований, заключение.

Саршаева М. Методология (постановка научных опытов согласно методологии исследований) Проведение технических работ приготовления питательной среды, пассирования растительных тканей в культуре *in vitro* и ухода за базисными и базовыми растениями *ex vitro*. Анализ полученных результатов, редактирование научной статьи.

Ташкенбаева А. Методология (постановка научных опытов согласно методологии исследований). Проведение технических работ приготовления питательной среды, пассирования растительных тканей в культуре *in vitro* и ухода за базисными и базовыми растениями *ex vitro*.

МРНТИ 68.35.29

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2025/12>

О.О. Крадецкая, Е. В. Мамыкин, С.М. Дашкевич, М.У. Утебаев, И.В. Чилимова*

*ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И. Бараева»,
Казахстан, п. Научный, oksana_cwr@mail.ru*, mamykin_ev@mail.ru, vetka-da@mail.ru,
chemplant@mail.ru, coronela@mail.ru*

ВЛИЯНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА В МЯГКОЙ ПШЕНИЦЕ НА УРОЖАЙНОСТЬ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕХНОЛОГИИ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ И ВНЕСЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

Аннотация

Исследования, представленные в статье направлены на изучение накопления хлорофилла и каротиноидов в зеленой массе яровой мягкой пшеницы сорта Шортандинская 95 улучшенная в различные фазы роста и развития растения в зависимости от внесения минеральных удобрений и технологии возделывания. Выбор технологии возделывания, норм внесения удобрений, сортов и предшествующих культур должен обеспечивать оптимальные условия для полноценного развития растения. Изучение хлорофилла в мягкой пшенице необходимо для оценки ее физиологического состояния, уровня фотосинтеза и способности формировать высокий и качественный урожай. В результате исследований было определено содержание хлорофилла а и b, а также каротиноидов в зеленой массе мягкой пшеницы в фазу кущения и в фазу выхода в трубку. Данные исследования позволят установить влияние накопления хлорофилла в мягкой пшенице на урожайность в зависимости от технологий возделывания и доз внесения удобрений в условиях Акмолинской области. В ходе исследований выделены варианты с внесением Р₆₀ аф. в пар при традиционной системе земледелия в зернопаровом севообороте, Р₈₀ аф.+ N aa в рядки по диагностике в плодосменном севообороте. При нулевой технологии возделывания в зернопаровом севообороте лучшим отмечен вариант с внесением Р₂₀ N₂₀ наф. в рядки, вариант Р₂₀ аф.+ N₃₀ aa осенью поверхностно – в плодосменном. По урожайности зерна яровой пшеницы в зависимости от способа и времени внесения аммиачной селитры в азотно-фосфорных вариантах не отмечено. Корреляционный анализ определил среднюю корреляцию по суммарному содержанию хлорофилла а и b и урожайностью не зависимо от севооборота и системы земледелия от 0,68 ед до 0,70 ед. Очень слабая корреляция получена между показателями каротиноиды и урожайность от 0,2 ед. до 0,3 ед.