

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* КОМЕРЧЕСКИ ЦЕННЫХ СОРТОВ ЕЖЕВИКИ

Толеген Арман Болатханулы^{1,2}, Ромаданова Наталья Владимировна^{1,2},
Кушнарченко Светлана Вениаминовна¹

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан
tolegenarman7@gmail.com

Ежевика имеет важное хозяйственное и экономическое значение. Создание *in vitro* коллекций ежевики может послужить основой для широкого спектра научных исследований, в том числе и для создания генетических банков *in vitro*, криогенных банков, для разработки и совершенствования эффективных методов оздоровления растений от патогенов и получения элитных саженцев.

Цель данной работы заключалась в разработке технологии введения в культуру *in vitro* ежевики и создание асептической коллекции, для последующей диагностики на вирусные заболевания, создания криогенного банка и получения безвирусных саженцев.

Для экспериментов были использованы растения в контейнерной культуре, привезенные из питомника «Драган». Это 2 коммерчески ценных сорта: Натчез (Natchez) и Чачанска Бестрна (Čačanska Bestrna), характеризующиеся отсутствием колючек на побегах, что значительно облегчает сбор урожая и уход за культурой. Ежевика сорта Натчез является фаворитом в частном садоводстве и в промышленном выращивании стран США и Европы. Обладает восхитительным десертным вкусом и впечатляющим размером ягод – 4–6 см, весом 20–22 г. (рекордный весовой показатель). Сорт Чачанска Бестрна является декоративным, во время распускания крупных, нежно-розового тона с легким ароматом цветов кусты выглядят очень привлекательно.

Для введения в культуру *in vitro* использовали верхушки вегетативных побегов длиной 5–6 см, которые обрабатывали мыльным раствором и промывали в проточной воде, после чего поверхностно стерилизовали их в 0,1 % растворе HgCl₂ в течение 7 мин в условиях ламинарного бокса с последующим промыванием в стерильной воде.

Для введения в культуру *in vitro* использовали питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) с удвоенной концентрацией хелата железа, 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина, 0,01 мг/л индолилмасляной кислоты, 4,0 г/л агара, 1,25 г/л джелрайта, pH 5,7. Побеги культивировали в светокультуральной комнате при температуре 24 ± 1°С с интенсивностью света 40 μmol·m⁻²·с⁻¹, с 16 часовым фотопериодом.

В результате эксперимента все растения сорта Натчез были введены в культуру *in vitro*, жизнеспособность – 100%. У сорта Чачанска Бестрна жизнеспособность составила 75%, 25% побегов *in vitro* погибли в результате некроза.

Введённые в культуру *in vitro* экспланты были протестированы на отсутствие эндофитной инфекции на специализированной среде 523. В результате данного исследования выявлено, что все побеги сорта Натчез (100%) были асептическими, тогда как все побеги (100%) сорта Чачанска Бестрна были поражены эндофитной инфекцией. Для освобождения от эндофитной инфекции побеги *in vitro* сорта Чачанска Бестрна были пересажены питательную среду МС с добавлением бактерицида Plant Preservative Mixture™. Эксперимент продолжается.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках Программно-целевого финансирования OR11465424.

Ключевые слова: ежевика, микрклональное размножение, эндофитная контаминация, асептическая коллекция, специализированная среда 523.

CREATION OF AN *IN VITRO* COLLECTION OF COMMERCIALY VALUABLE BLACKBERRY VARIETIES

Tolegen Arman Bolatkhanuly^{1,2}, Romadanova Natalya Vladimirovna^{1,2}, Kushnarenko Svetlana Veniaminovna¹

¹*Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan*

²*Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan*

tolegenarman7@gmail.com

Blackberry is of great economic importance. The creation of *in vitro* blackberry collections can serve as the basis for a wide range of scientific research, including the establishment of *in vitro* genetic banks, and cryogenic banks, for the development and improvement of effective methods for recovery plants from pathogens and obtaining elite planting stocks.

The purpose of this work was to develop a technology of blackberry micropropagation and creating aseptic *in vitro* collection for subsequent diagnosis of viruses, creating a cryogenic bank, and obtaining virus-free planting stocks.

Plants in container culture brought from the "Dragan" nursery were used for the experiments. These are two commercially valuable varieties: Natchez and Cacanska Bestrna, characterized by the absence of thorns on the shoots, which greatly facilitates harvesting and caring for the crop. The Natchez blackberry is a favorite in private horticulture and industrial cultivation in the USA and Europe. It has a delicious dessert taste and an impressive size of berries – 4–6 cm, weighing 20–22 g (a record weight indicator). The variety Chachanska Bestrna is very decorative, during the blooming of large, soft pink tones with a slight aroma of flowers, the bushes look very attractive.

For *in vitro* introduction, the tips of vegetative shoots 5-6 cm long were used, which were treated with a soapy solution and washed in running water, after which they were surface sterilized in 0.1% HgCl₂ solution for 7 min under laminar box conditions, followed by washing in sterile water.

For micropropagation Murashige and Skoog medium (MS) was used with a double concentration of iron chelate, 30 g/l sucrose, 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine, 0.01 mg/l indolylbutyric acid, 4.0 g/l agar, 1.25 g/l gelrite, pH 5.7. The shoots were cultured in plant growth room at 24 ± 1°C with a light intensity of 40 μmol•m⁻²•s⁻¹, with a 16-hour photoperiod.

As a result of the experiment, all plants of the Natchez variety were introduced into *in vitro* culture, viability was 100 %. The viability of the Chachanska Bestrna variety was 75 %, 25 % of *in vitro* shoots died by necrosis.

In vitro shoots obtained were tested for the absence of endophytic contamination on 523detection medium. As a result of this study, it was revealed that all shoots of the Natchez variety (100 %) were aseptic, while all shoots (100 %) of the Chachanska Bestrna variety were affected by endophyte contamination. For elimination of the endophytic contamination, *in vitro* shoots of the Chachanska Bestrna variety were transplanted on MS medium with the addition of the Plant Preservative Mixture™ bactericide. The experiment continues.

This research was supported by the Ministry of Education and Science, Republic of Kazakhstan (Scientific and Technological Program OR11465424).

Keywords: blackberry, micropropagation, endophytic contamination, aseptic collection, 523 detection medium.