

**REPORTS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

ISSN 2224-5227

Volume 6, Number 310 (2016), 151 – 160

UDC 58.085

**A.B. Myrzagaliyeva, A.A. Tuktassinova, T.N. Samarkhanov, A.M. Akzambek**

Sarsen Amanzholov East Kazakhstan State University, Ust-Kamenogorsk, the Republic of Kazakhstan

\*e-mail: anara\_vkgu@mail.ru

**IN VITRO INTRODUCTION OF *DAPHNE ALTAICA PALL***

**Abstract.** The purpose of this work was the study of the special features of introduction in vitro of *Daphne altaica Pall* from the family *Thymelaeaceae Juss* into the culture. Two forms of *Daphne* are encountered in the flora of East Kazakhstan: *Daphnealtaica Pall.* and *D. mezereum L.* *Daphne altaica* – endemik of the Altai, is relict, rare form of plant, which is located under the threat of disappearance in the Republic of Kazakhstan. In the time of field operation in 2015-2016 we have noted two populations of *Daphne altaica*: Naryn and Kalbinsky. In this article the choice of various options of sterilization of explants is discussed, conditions for introduction of *Daphne altaica* into the sterile culture in vitro are determined. The mineral composition of nutrient medium is optimized. The received researches showed that the technique of sterilization influences on percent of infection and further development of explants. It is revealed that when using seeds for introduction to culture of *Daphne altaica* it is necessary to carry out a scarification. The greatest interest of shoots was drawn at addition of gibberellic acid in structure of a nutrient medium.

**Keywords:** *Daphne altaica Pall.*, in vitro introduction, explant, sterilization.

УДК 58.085

**А.Б. Мырзагалиева, А.А. Туктасинова, Т.Н. Самарханов, А.М. Акзамбек**

Восточно-Казахстанский государственный университет им. С.Аманжолова,

г. Усть-Каменогорск, Республика Казахстан,

\*E-mail: anara\_vkgu@mail.ru

**ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *INVITRO* ВОЛЧЕЯГОДНИКА  
АЛТАЙСКОГО (*DAPHNEALTAICAPALL*)**

**Аннотация.** Целью настоящей работы являлось изучение особенностей введения в культуру *in vitro* волчегодника алтайского – *DaphnealtaicaPall.* из семейства *ThymelaeaceaeJuss*. Во флоре Восточного Казахстана встречаются два вида волчегодника: *DaphnealtaicaPall.* и *D. mezereumL.* Волчегодник алтайский – эндемик Алтая, реликт, редкий и находящийся под угрозой исчезновения в Республике Казахстан вид растения. За время полевых работ в 2015-2016 гг. нами отмечены две популяции волчегодника алтайского: нарынская и калбинская. В статье обсуждается выбор различных вариантов стерилизации эксплантов, подобраны условия для введения волчегодника алтайского в стерильную культуру *invitro*. Оптимизирован минеральный состав питательной среды. Полученные исследования показали, что методика стерилизации влияет на процент заражения и дальнейшее развитие эксплантов. Выявлено, что при использовании семян для введения в культуру волчегодника алтайского необходимо проводить скарификацию. Наибольший процент всходов был получен при добавлении гиббереллиновой кислоты в состав питательной среды.

**Ключевые слова:** *Daphnealtaica Pall.*, введение *invitro*, эксплант, стерилизация.

**Введение**

В настоящее время разработаны различные методы и техника микроклонального размножения. Они отличаются исходным биологическим материалом, особенностью экспланта, который

используется для получения микроклонов, и прохождением основных процессов, ведущих к получению регенеранта и посадочного материала. Теория и принцип микроклонального размножения определяются тотипотентностью, т.е. способностью растения структурно и функционально полностью восстанавливаться из части, органа и отдельной клетки.

Для большого числа растений клональное размножение производится с использованием верхушечных меристем. При культивировании апикальных меристем и прилегающей части верхушки стебля происходит пробуждение пазушных почек, усиливается побегообразование. Одновременно при использовании первичного экспланта соответствующего размера этим методом можно получить растения, свободные от вирусной или бактериальной инфекции [1].

Культура зародышей разных этапов формирования позволяет расширить получение межвидовых и межродовых гибридов, является хорошим объектом для изучения временной реализации генетической информации в раннем половом эмбриогенезе по сравнению с соматическим органогенезом [2].

Метод культуры изолированных тканей начал широко применяться в последнее время для массового размножения редких и исчезающих видов природной флоры в целях сохранения их генофонда. Особую актуальность приобретают исследования по разработке методов клонального микроразмножения растений, ареалы и численность которых резко снижается. Применение этих методов позволит получить необходимое количество посадочного материала для интродукции в природные условия [1].

Объектом исследования был выбран волчегондик алтайский – *Daphnealtaica*Pall.. Волчегондик алтайский (*Daphne altaica* Pall.) – вид кустарников рода Волчегондик (*Daphne*) семейства Волчниковые (*Thymelaeaceae*). Во флоре Восточного Казахстана родом *Daphne* L. представлен двумя видами: *Daphnealtaica* Pall. и *D. mezereum* L.

*D. altaica*Pall. - кустарник 40-80 см высотой, с бурой, снизу темно-серой корой, вильчато-ветвистый, молодые ветви густо опушены прижатыми волосками, более старые боковые голые; листья ланцетные, удлинённые, эллиптические или почти яйцевидные, 2,5-6 см длиной и 0,7-1,5 см шириной, коротко заостренные или туповатые, суженные в короткий черешок, сверху зеленые, снизу сизоватые, голые, редко при основании слегка опушенные, листья вегетативных побегов продолговато-эллиптические, с немного оттянутой, остроконечной верхушкой; цветки белые, душистые, сидят по 3-7 на концах укороченных ветвей, околоцветник гвоздевидный, трубка 10 мм длиной, рассеянно прижато-волосистая, с эллиптическими лопастями, на верхушке закругленными, 6,5-8 мм длиной и 4,25-5 мм шириной, в 1,5 раза короче трубки, тычинки верхнего ряда выставляются из трубки, пестик маленький, помещается в нижней трети трубки, рыльце головчатое, сидячее, завязь голая; костянка черная, с грушевидной твердой косточкой. Размножается семенами. Цветёт в мае-июне, плодоносит в июне-июле [5].

На хребте Нарын у подножья горы Суыкшаты встречаются крупные заросли волчегондика алтайского.

Восточные и юго-восточные склоны горы Суыкшаты, по ущельям Апак, Кудас, с координатами N 49° 05.505'; E 084° 29.143' покрыты густой кустарниковой растительностью из *Spiraeatrilobata* L., *S. media*Schmidt., *Rosaacicularis*Lindl., *Rosaalberti*Regel., *Loniceratatarica* L., *Cotoneastermelanocarpa*Lodd., *Rubusidaeus* L., *Daphnealtaica*Pall., *Amygdalusledebouriana*Schlecht. Под пологом кустарников развито богатое видовое разнообразие травянистой растительности.

Кустарниковые густые заросли тянутся по юго-восточному склону до высоты 1300-1500 м. На уровне 1200 м на склонах северо-западной экспозиций появляются осиновые рощи в первом ярусе, во втором ярусе преобладают кустарники *Spiraeatrilobata* L., *S. media*Schmidt., *Rosaacicularis*, *Rosaalberti*Regel., *Loniceratatarica* L., *L. altaica* L., *Cotoneastermelanocarpa*Lodd., *Daphnealtaica*Pall., *R. idaeus* L. Из травянистой растительности встречаются *Artemisiaabsintium* L., *A. vulgare* L., *Thalictrumcollinum*Wallr., *Lilium pilosiusculum* (Freun) Miscz., *Origanumvulgare* L., *Medicagovalcata* L., *Aconitumvolubile*Pall. ExKoelle, *Thermopsis lanceolata* R. Br., *Campanulaglomerata* L., *Hypericum perforatum* L., *Rubus saxatilis* L., *Crepissibirica* L., *Centaurearuthenica*Lam., *Orobushluteus* L., *Delphiniumelatatum* L., *Aconitumleucostomum*Worosch[3].

Вторая популяция волчегондика алтайского обнаружена в восточной части Калбинского хребта в урочище Сандыктас (рис. 1). Популяция размещена на юго-восточном склоне на

высоте 1056-1062 м над уровнем моря. Общая площадь популяции 0,2 га, координаты N 49°17.908'; E 082°29.819'. Заросли Волчегонника алтайского находится среди густой кустарниковой растительности из *Lonicera tatarica* L., *Caragana arborescens* Lam., *R. spinosissima* L., *Rosa acicularis* Lindl., *Rosa alberti* Regel., *Cotoneaster melanocarpa* Lodd., *Daphne altaica* Pall. Среди кустарников произрастают некоторые травянистые виды, *Clematis integrifolia* L., *Dictamnus angustifolius* G. Don ex Sweet., *Delphinium cyananthum* Nevski., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston, *Trifolium lupinaster* L., *Filipendula vulgaris* Moench., *Potentilla recta* L., *Phlomis tuberosa* (L.) Moench., *Galium verum* L. и др.



Рисунок 1 – Цветущий куст волчегонника алтайского калбинской популяции

Волчегонник алтайский (*Daphne altaica* Pall.) был выбран объектом исследования, так как вид является узким эндемиком Алтая и прилегающих гор южнее Зайсанской котловины (Саур, Тарбагатай), реликт. Вид занесён в Красную книгу Казахстана (Постановление Правительства РК от 31 октября 2006 года №1034), поэтому проведённые исследования необходимы для сохранения волчегонника алтайского и получения необходимого количества посадочного материала для интродукции в природные условия. Также имеются данные, что волчегонник содержит различные соединения (включая биологически активные вещества), которые находят широкое применение в фармакологии [4].

В результате литературного обзора не было обнаружено работ по микроклональному размножению волчегонника алтайского, несмотря на то, что вид интродуцирован в ботанических садах Алматы. Ранее проводившиеся исследования на волчегоннике бороном (*Daphne genkwa* L.) установили оптимальный вариант стерилизации в виде кратковременного погружения растений в 96%-й спирт, при котором растения давали 100%-ю выживаемость и полное отсутствие витрификации. В данных исследованиях для введения в культуру *in vitro* волчегонника боронового были использованы питательные среды Мурасиге и Скуга, различающихся по количественному составу солей и гормонов, среди которых лучший результат показали низкосолевые питательные среды [4].

**Целью** настоящего исследования явилось изучение особенностей введения в культуру *in vitro* волчегонника алтайского (*Daphne altaica* Pall.). Для достижения поставленной цели необходимо было выбрать эффективный вариант стерилизации и оптимальный состав питательных сред.

#### Материалы и методы исследования

Исследования проводили на растительном материале, собранном авторами в первой декаде июля 2016 г. на хребте Нарыну подножья горы Суыкшаты Катон-Карагайского района Восточно-Казахстанской области (волчегонник алтайский нарынской популяции). На момент сбора сырья

растение находилось в фазе плодоношения. В качестве эксплантов были использованы апикальная часть стеблей как в проведённых исследованиях по волчегоднику борovому (Семёнова В.А. и др., 2012), и семена, так как в природных условиях волчегодник алтайский размножается семенами (рис. 2). Отмечено, что при использовании апикальной части стеблей в качестве экспланта можно получить растения, свободные от вирусной или бактериальной инфекции [1]. Семена являются хорошим объектом для изучения временной реализации генетической информации в раннем половом эмбриогенезе по сравнению с соматическим органогенезом [2].

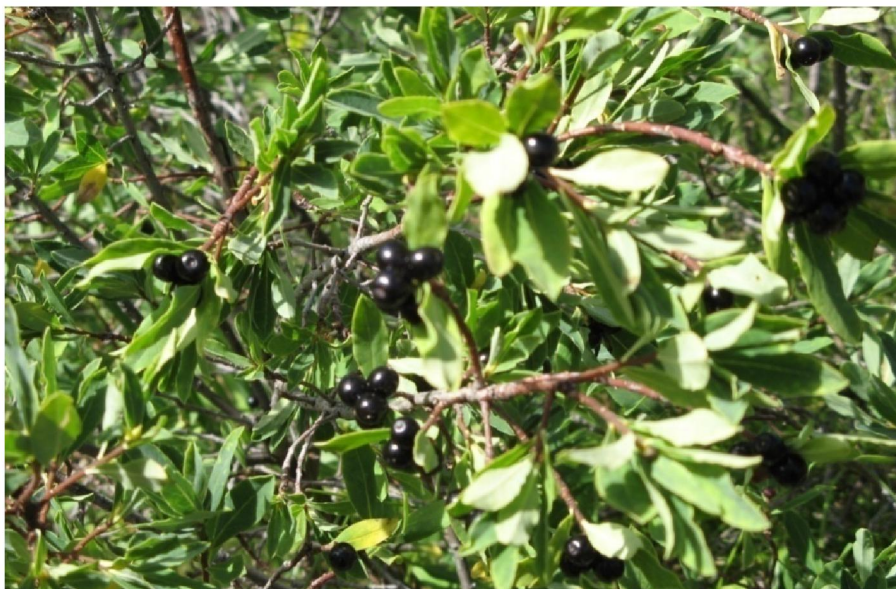


Рисунок 2 – Плодоносящие кусты волчегодника алтайского нарынской популяции

Были вычислены размерно-массовые характеристики семян волчегодника алтайского на 20 шт. Среднее значение длины семян составляет 0,39 см, ширины – 0,26 см, веса – 0,013 г (таб. 1).

Таблица 1 – Размерно-массовые характеристики семян волчегодника алтайского

№	Длина, см	Ширина, см	Вес, г
1	0,4	0,3	0,015
2	0,4	0,3	0,009
3	0,4	0,3	0,013
4	0,4	0,2	0,013
5	0,4	0,3	0,015
6	0,35	0,3	0,014
7	0,4	0,25	0,013
8	0,4	0,3	0,015
9	0,4	0,3	0,014
10	0,4	0,25	0,012
11	0,3	0,3	0,011
12	0,3	0,25	0,016
13	0,4	0,25	0,03
14	0,4	0,2	0,014
15	0,4	0,2	0,012
16	0,35	0,2	0,013
17	0,4	0,25	0,013
18	0,4	0,25	0,012
19	0,4	0,25	0,015
20	0,4	0,3	0,011
Среднее значение	0,39	0,26	0,013

При микроклональном размножении волчегонника серьезной проблемой является витрификация растительного материала как на начальных, так и на более поздних этапах клонирования. Было предположено, что явление связано со стерилизацией первичных эксплантов [4]. Поэтому основной задачей начального этапа работы было исследование различных вариантов стерилизации эксплантов.

Для поверхностной стерилизации растительных тканей применяют большой набор химических веществ. Наиболее часто употребляют соединения, содержащие активный хлор, перекись водорода и этиловый спирт. Гипохлорит натрия обладает бактерицидным свойством, перекись водорода используют в основном для стерилизации семян, реже – для стеблей и листьев, этиловый спирт улучшает действие других стерилизующих средств [2]. В ранних исследованиях было установлено, что при стерилизации верхушечных участков стеблей мертиолятами, бытовым отбеливателем «Белизной» наблюдается 100%-я витрификация растений – отмечается угнетение роста и гибель растений. Положительный результат показала стерилизация в виде кратковременного погружения растений в 96%-й спирт [4]. Таким образом, были использованы два варианта обработки эксплантов, отличающиеся концентрацией этилового спирта, и вариант, исключающий использование гипохлорита натрия и перекиси водорода.

Начальная стадия всех трёх вариантов – промывка в проточной воде (20 минут). Последующие стадии включали: в первом варианте стерилизации обработку мыльным раствором, гипохлоритом натрия (5%), перекисью водорода и этиловым спиртом (90%); во втором варианте – мыльным раствором, гипохлоритом натрия (5%), перекисью водорода и этиловым спиртом (70%); в третьем варианте - этиловым спиртом (70%). После стерилизации экспланты промывали в дистиллированной воде в трёх равных порциях.

Питательная среда – основной фактор, обуславливающий успех клонового микро размножения. Основой всех питательных сред являются минеральные соли, необходимые растению: макроэлементы – азот, фосфор, калий, кальций, магний; микроэлементы – бор, марганец, цинк, медь, кобальт, молибден, йод, железо. Кроме того, в состав питательных сред входят аминокислоты, витамины, регуляторы роста – ауксины, цитокинины, гиббереллины. Поскольку питание культивируемых тканей гетеротрофно, необходимо присутствие углеводов: сахарозы, глюкозы или фруктозы. Наиболее распространена среда Мурасиге и Скуга, которая содержит хорошо сбалансированный состав питательных веществ, благоприятный для роста изолированных тканей многих растений [1].

Для введения в культуру *in vitro* были использованы варианты среды Мурасиге и Скуга (MS) с различными концентрациями и сочетаниями макросолей, сахарозы и фитогормонов: 6-бензиламинопуридин (БАП), индолилуксусная кислота (ИУК), кинетин, гиббереллиновая кислота (ГАЗ). На питательные среды в стерильные пробирки помещали апикальную часть стеблей, семена, а также семена, прошедшие скарификацию.

Таблица 2 – Состав питательных сред по Мурасиге и Скуга для введения в культуру *invitro* волчегонника алтайского

Компоненты питательной среды	Концентрация, мг/л			
	MS1	MS2	MS3	SMS
МакросолиI	50,0	50,0	50,0	25,0
МакросолиII	50,0	50,0	50,0	25,0
Микросоли	1,0	1,0	1,0	0,5
Fe-хелат	5,0	5,0	5,0	5,0
Гидролизат казеина	40,0	40,0	40,0	40,0
V <sub>1</sub>	0,2	0,2	0,2	0,2
V <sub>6</sub>	0,1	0,1	0,1	0,1
C	0,2	0,2	0,2	0,2
ИУК	1,0	1,0	1,0	1,0
Кинетин	0,04	0,04	0,04	-
БАП	-	0,1	-	-
ГАЗ	-	-	0,04	0,04
Сахароза	20	20	20	15

Стандартная методика микроклонального размножения требует использования гормонов роста на стадии введения эксплантов в условия *in vitro* [1]. Таким образом, была использована питательная среда Мурасиге и Скуга (MS) в следующих вариантах:

1. Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК и 0,04 мг/л кинетина (MS1);
  2. Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,1 мг/л БАП (MS2);
  3. Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,04 мг/л ГА3 (MS3);
  4. S минерального состава по MS с добавлением 1 мг/л ИУК и 0,04 мг/л ГА3 (SMS).
- Состав питательных сред приведён в таблице 2.

### Результаты исследования и их обсуждение

Настоящее исследование показало, что при первом варианте стерилизации, использованном для обработки апикальной части стеблей, наблюдается низкий процент заражения (таб. 3). Для обработки семян использовались первый и второй варианты стерилизации, эффективным оказался первый вариант, так как при втором варианте наблюдается высокий процент заражения среди всех высаженных эксплантов (таб. 3). При втором и третьем вариантах стерилизации, использованных для обработки семян, прошедших скарификацию, эффективным оказался второй вариант с нулевым процентом заражения (таб. 3).

Таблица 3 – Эффективность вариантов стерилизации эксплантов при введении в культуру *invitro* волчегонника алтайского

Вариант стерилизации эксплантов	Исходное количество высаженных эксплантов, шт	Процент заражения эксплантов, %
<b>Апикальная часть стеблей</b>		
1) Мыльный раствор; 2) Гипохлорит натрия (5%); 3) Перекись водорода; 4) Этиловый спирт (90%).	20	5
1) Мыльный раствор; 2) Гипохлорит натрия (5%); 3) Перекись водорода; 4) Этиловый спирт (70%).	-	-
Этиловый спирт (70%)	-	-
<b>Семена</b>		
1) Мыльный раствор; 2) Гипохлорит натрия (5%); 3) Перекись водорода; 4) Этиловый спирт (90%).	38	5,3
1) Мыльный раствор; 2) Гипохлорит натрия (5%); 3) Перекись водорода; 4) Этиловый спирт (70%).	20	35
Этиловый спирт (70%)	20	50
Этиловый спирт (70%)	-	-
<b>Семена, прошедшие скарификацию</b>		
1) Мыльный раствор; 2) Гипохлорит натрия (5%); 3) Перекись водорода; 4) Этиловый спирт (90%).	-	-
1) Мыльный раствор; 2) Гипохлорит натрия (5%); 3) Перекись водорода; 4) Этиловый спирт (70%).	20	10
Этиловый спирт (70%)	27	18,5

Несмотря на низкий процент заражения апикальной части стеблей при первом варианте стерилизации, 50% эксплантов было потеряно в течение 3-х дней. На 7-й день количество живых стерильных эксплантов составляло 10%.

Апикальную часть стеблей помещали на MS2, семена – на MS2, MS3 и SMS, семена, прошедшие скарификацию – на MS1 и MS3. Результаты исследования занесены в таблицу 4.

Таблица 4 – Эффективность вариантов питательной среды при введении в культуру *invitro* волчегородника алтайского

№	Вариант питательной среды	Исходное количество высаженных эксплантов, шт	Количество стерильных эксплантов, шт	Процент всходов, %
Апикальная часть стеблей				
1	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,1 мг/л БАП(MS2)	20	19	0
Семена				
1	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,1 мг/л БАП(MS2)	38	18	5
2	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,04 мг/л ГА3(MS3)	20	13	0
3	S минерального состава по MS с добавлением 1 мг/л ИУК и 0,04 мг/л ГА3 (SMS)	20	10	0
Семена, прошедшие скарификацию				
1	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,04 мг/л ГА3 (MS3)	20	18	50
2	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК и 0,04 мг/л кинетина (MS1)	27	22	33

Настоящее исследование показало, что среди апикальной части стеблей наблюдается образование каллусной ткани на 16-й день после высадки (рис. 3).



Рисунок 3 – Каллусная ткань, образованная на апикальной части стебля

Семена, помещённые на MS2, начали прорастать на 18-й день после высадки, в то время как семена, помещённые на MS3 и SMS, результатов не дали (рис. 4). Среди семян, прошедших скарификацию, процент всходов значительно выше среди всех используемых эксплантов. Наилучший результат наблюдается у семян, помещённых на MS3 (рис. 4).

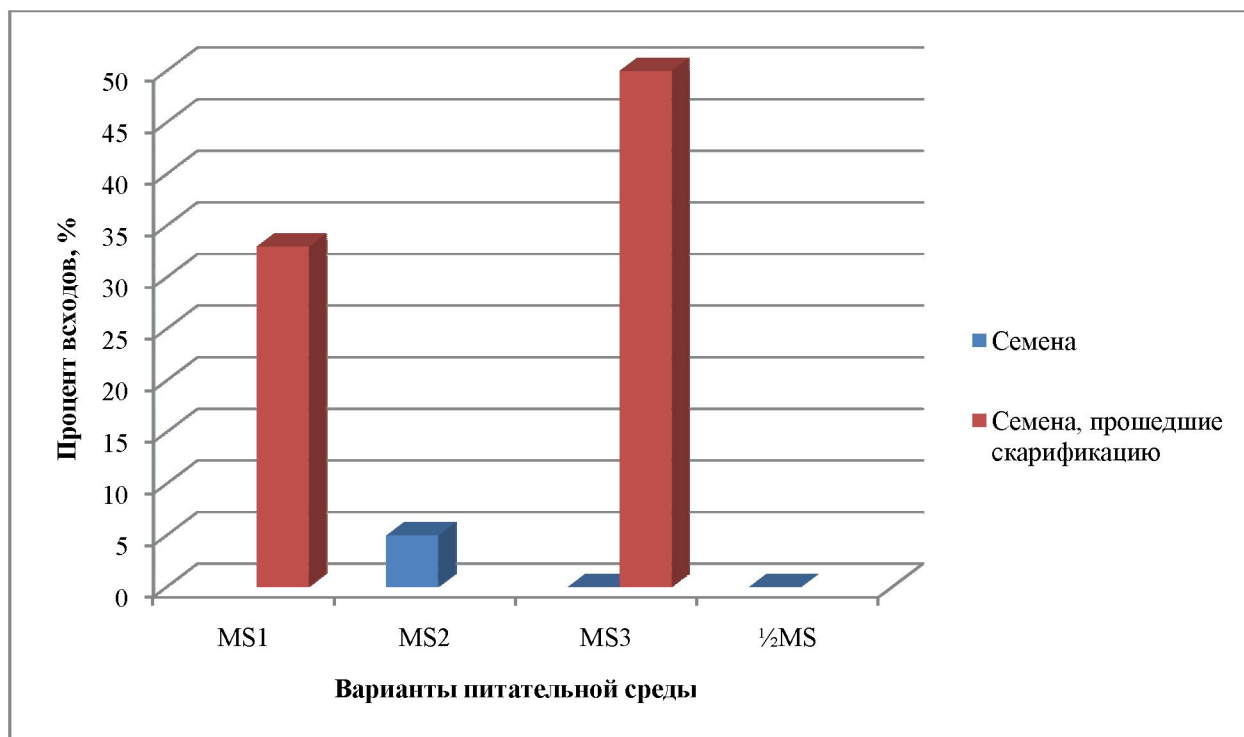


Рисунок 4 – Процент всходов семян волчегонника алтайского

Стоит отметить, что среди семян, прошедших скарификацию, наблюдается прорастание на следующий день после высадки, когда среди семян с оболочкой первые результаты были зафиксированы на 18-й день после высадки. Однако из семян, помещённых на MS3, были получены всходы на 4 дня раньше, процент которых значительно выше среди всех используемых эксплантов (таб. 5, рисунок 5).

Таблица 5 – Эффективность вариантов питательной среды на всходы семян, прошедших скарификацию

День	Варианты питательной среды	
	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК, 0,04 мг/л кинетина и 0,04 мг/л ГА3 (MS3)	Полный минеральный состав по MS с добавлением 1 мг/л ИУК и 0,04 мг/л кинетина (MS1)
2	80% пророщенных семян	92,5% пророщенных семян
6	50% всходов	Наблюдается медленный рост
10	Наблюдается интенсивный рост	29,6% всходов

В результате исследования изучены особенности введения в культуру *invitro* редкого реликтового вида – волчегонника алтайского (*DaphnealtaicaPall.*). При введении в культуру *invitro* волчегонника алтайского (*DaphnealtaicaPall.*) в качестве эксплантов были использованы апикальная часть стеблей и семена. Были исследованы различные варианты стерилизации эксплантов и комбинации питательной среды Мурасиге и Скуга с регуляторами роста. Планируется исследование влияния состава питательных сред, в том числе и регуляторов роста, а также использование безгормональной среды при микроклональном размножении волчегонника алтайского (*DaphnealtaicaPall.*).





Рисунок 5 - Всходы волчегородника алтайского

Работа выполнена в рамках фундаментальных научных исследований по приоритетам развития науки на 2015-2017 годы на тему «Разработка биотехнологических способов сохранения эндемичных и лекарственных растений в условиях *in vitro*», при поддержке проекта «Молекулярная систематика эндемичных, редких и хозяйственно ценных видов растений Западного, Центрального и Восточного Казахстана» по ПЦФ «Изучение генетического разнообразия и сохранение генетических ресурсов эндемичных, редких и хозяйственно ценных видов растений в Республике Казахстан» на 2015-2017 гг.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Калинин Ф.Л. Технология микроклонального размножения растений / Ф.Л.Калинин, Г.П.Кушпир, В.В.Сарнацкая. – Киев: Наук. Думка. – 1992. – 232 с.
- [2] Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л.Калинин, В.В.Сарнацкая, В.Е.Полищук. – Киев: Наук. Думка. – 1980. – 488 с.
- [3] Мырзагалиева А.Б. Дикорастущие плодовые растения Нарымского хребта // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук. – Душанбе, 2008. – №3(164). – С.30-35.
- [4] Семёнова В.А. Особенности размножения волчегородника бороваго (*Daphnesneorum L.*) в культуре *in vitro*/ В.А. Семёнова [и др.]. - Фундаментальные исследования. – 2012. – №5 (часть 1). – С. 185-188.
- [5] Флора Казахстана. - Алма-Ата: изд-во АН Каз ССР, 1963. – Т. 6. – С 216.

#### REFERENCES

- [1] Kalinin F.L. Tekhnologiya mikroklonal'nogo razmnozheniya rastenij / F.L.Kalinin, G.P. Kushnir, V.V. Sarnackaya. – Kiev: Nauk. Dumka. – 1992. – 232 s.
- [2] Kalinin F.L. Metody kul'tury tkanejv fiziologii i biohimii rastenij / F.L.Kalinin, V.V. Sarnackaya, V.E. Polishchuk. – Kiev: Nauk. Dumka. – 1980. – 488 s.
- [3] Myrzagalijeva A.B. Dikorastushchie plodovye rasteniya Narymskogo hrehta // Izvestiya Akademii nauk Respubliki Tadjhikistan. Otdelenie biologicheskikh i medicinskih nauk. – Dushanbe, 2008. – №3(164). – S.30-35.

- [4] Semyonova V.A. Osobennosti razmnozheniya volcheyagodnika borovogo (*Daphnecneorum* L.) v kul'ture in vitro / V.A. Semyonova [idr.]. - Fundamental'nye issledovaniya. – 2012. – №5 (chast' 1). – S. 185-188.
- [5] Flora Kazahstana. - Alma-Ata: izd-vo AN Kaz SSR, 1963. – T. 6. – S 216.

**А.Б. Мырзағалиева, А.А. Туктасинова, Т.Н. Самарханова, А.М. Акзамбек**

С. Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан мемлекеттік университеті,  
Өскемен қ.Қазақстан Республикасы

**АЛТАЙ ҚАСҚЫРЖИДЕГІН (*DAPHNEALTAICAPALL.*)  
IN VITRO МӘДЕНИЕТІНЕ ЕНГІЗУ**

**Аннотация.** *Thymelaeaceae* Juss тұқымдасынан Алтай қасқыржидегін– *Daphnealtaica* Pall.in vitro мәдениетіне енгізу ерекшеліктерін зерттеу болып табылады. Алтай қасқыржидегі – Алтай эндемигі, реликт, Қазақстан Республикасында сирек кездесетін және жойылу қаупі бар өсімдік түрі. 2015-2016 жж. далалық жұмыстар кезінде Алтай қасқыржидегінің екі популяциясы анықталды, нарын және қалба. Мақалада экспланттарды стерильдеудің әртүрлі нұсқаларын таңдау талданған, Алтай қасқыржидегін стерильденген in vitro мәдениетіне енгізу жағдайы таңдалған. Қоректік ортаның минералдық құрамы онтайландырылған. Алынған зерттеулер стерильдеу әдістемесінің экспланттардың зақымдану және ары қарай даму мөлшеріне әсер ететіндігін көрсетті. Алтай қасқыржидегін in vitro мәдениетіне енгізу үшін тұқымды пайдалану кезінде скарификация жүргізу қажеттігі анықталды. Ең жоғары өнімділік қоректік орта құрамына гиббереллин қышқылын қосқан кезде алынды.

**Түйін сөздер:** *Daphnealtaica*Pall., in vitro енгізу, эксплант, стерильдеу.