



УДК 57.085.23

**МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ *SPIRAEA JAPONICA*
ДЛЯ ОЗЕЛЕНЕНИЯ**

***Каримова В.К., Магзумова Г.К., Есимсеитова А.К., Какимжанова А.А.**

Национальный центр биотехнологии,

Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, 010000, Казахстан

**veke1981vk@mail.ru*

АБСТРАКТ

Спирея японская (*Spiraea japonica*) - декоративный кустарник, широко используемый при озеленении. Был оптимизирован метод клонального микроразмножения *Spiraea japonica* для получения большого количества растений из нескольких побегов. Установлены оптимальные концентрации гормонов для увеличения мультипликации и корнеобразования. Среда QL (Quoigine&Lepoivre) с 0,5 мг/л бензил аминопурина (БАП) в сочетании с 1,0 мг/л гибберелловой кислоты (ГК), 0,01 и 1,0 мг/л индолил масляной кислоты (ИМК), 1,0 мг/л нафтил уксусной кислоты (НУК) были протестированы для мультипликации. Для индукции корней использовали НУК в пяти дозах в половинной концентрации среды QL и МС. Наибольшая мультипликация побегов и самый высокий прирост длины побегов были получены на среде QL с добавлением 0,5 мг/л БАП; 1,0 мг/л ГК и ИМК 0,01 мг/л. Наибольшее укоренение (100%), максимальное количество корней ($6,20 \pm 0,63$), длина самого длинного корня ($4,60 \pm 0,02$) наблюдались на среде $\frac{1}{2}$ QL, содержащей 0,1 мг/л НУК. Также для *Spiraea japonica* описан эффективный протокол с высокой скоростью укоренения, который можно использовать при массовом размножении.

Ключевые слова: микрочлonaльное размножение, мультипликация, укоренение, *in vitro*.

ВВЕДЕНИЕ

В последние 15-20 лет идет активное озеленение городских территорий, разработана концепция по созданию зеленого пояса столицы. В своём Послании народу Казахстана президентом была поставлена задача по масштабному озеленению территорий до 2025 года: высадка двух миллиардов деревьев в лесах и 15 миллионов –

городах. Согласно проекту, зеленый массив не только улучшит экологическую обстановку в стране, но и сделает Казахстан эстетически более привлекательным как для туристов, так и для самих граждан страны [1]. Для озеленения территории используются деревья, кустарники, однолетние и многолетние декоративные растения, что обуславливает необходимость значительного количества посадочного материала, который будет выдерживать суровый климат.

Представители рода *Spiraea L.* являются одними из наиболее популярных красивоцветущих кустарников, принадлежащих к семейству *Rosaceae Juss.* Этот род объединяет около 100 видов, которые распространены в Евразии и Северной Америке [2, 3]. Все они кустарники, род известен как декоративные растения с многими садовыми формами и сортами, широко используются при озеленении. Большинство декоративных растений были интродуцированы из Китая и Японии. Произрастает спирея, как в горных местностях, так и в степи, лесостепи и полупустыне. Спирея может достигать высоты до 2,5 м, ветки бывают как прямостоячие, так и стелющиеся, с темной до бледно-бурой окраски. Растение может быть использовано не только для создания живых изгородей, но также и для групповых посадок.

Широко используемый и популярный при озеленении вид – спирея японская (*Spiraea japonica*). Этот вид отличается устойчивостью к морозам и засухе, долговечностью, высокой декоративностью, временем цветения, также является и отличным медоносом. Этот кустарник высотой почти до 2 м имеет короткие скелетные ветки с плотно расположенными тонкими извилистыми побегами. Листья продолговатые, эллипсовидные, зубчатые. Цвет листвы носит сезонный характер и меняется от светло-зеленого до бурого. Спирея японская является летнецветущим кустарником с цветами розовых оттенков, собранными в щитковидные соцветия и размещёнными на побегах текущего года. Цветет с июня по сентябрь, в зависимости от сорта и условий произрастания [4].

Для использования при озеленении необходимо сохранить и получать в большом количестве этот вид для последующего выращивания. Одними из задач получения декоративных древесных пород являются максимальное сокращение сроков выращивания на основе современных достижений науки и создание технологий, которые будут обеспечивать выпуск посадочного материала в любой сезон года в готовом для посадки состоянии.

Хотя этот вид хорошо размножается семенами, на выращивание новых сеянцев затрачивается большое количество времени. Также возможно размножать спирею черенками. По сравнению с рассадой, вегетативно размножаемые культуры спиреи однородны материнскому растению и сохраняют свои генетические особенности. Но этот способ ограничивается небольшим выходом растений, является трудозатратным и требует много времени [5].

Данную задачу можно решить методом микрклонального размножения растений *in vitro*. Этот метод имеет экономическое превосходство с точки зрения времени, обеспечивает большую продуктивность, чем другие методы размножения. Также растения, размноженные этим методом, свободны от вирусной, грибной и бактериальной инфекций [6]. Метод микрклонального размножения, благодаря высокой частоте размножения, позволяет получить в нужном количестве вегетативное потомство растений, планировать выпуск растений к определенному времени при промышленном производстве [7, 8].

Таким образом, разработка протокола микрклонального размножения спиреи японской дает возможность круглогодичного получения большого количества растений в

последующем использовании их для озеленения. Целью данной работы являлось оптимизировать *in vitro* метод размножения спиреи японской.

Материалы и методы

Растительный материал. В качестве исходного материала использовали однолетние побеги *Spiraea japonica*, которые были собраны в городе Нур-Султан, Казахстан (51°07.648'N, 71°25.103'E), (Рисунок 1).



а

б

в

а – растения *Spiraea japonica*; б – срезанные побеги; в – пазушные почки

Рис. 1. Исходный материал спиреи японской для микроразмножения

Для микроклонального размножения спиреи японской были использованы следующие методы – введение в культуру *in vitro* эксплантов, мультипликация и укоренение микропобегов.

Введение в культуру *in vitro* эксплантов. Однолетние побеги длиной 10-15 см срезали, обрабатывали в мыльном растворе и промывали под проточной водой. Затем побеги делили на сегменты, содержащие одну почку. Стерилизация растительного материала проводилась в два этапа.

На первом этапе стерилизации пазушные почки промывали в растворе стирального порошка на магнитной мешалке. Данную процедуру повторяли до полного очищения от внешней пыли и грязи. Затем почки промывали в проточной воде в течение 30 минут. После этого почки помещали в раствор аскорбиновой и гибберелловой кислоты (1:1), в течении 5 мин, для снижения уровня выхода полифенольных соединений в питательной среде.

Второй этап стерилизации проводили в стерильных условиях. Для исследования эффективности стерилизации эксплантов использовали 70% этанол 2 секунды, затем промывали дистиллированной водой. Также, использовали детергент (перекись водорода (H_2O_2)) время экспозиции составило 8 мин. После стерилизации эксплантаты промывали трижды стерильной дистиллированной водой. Стерилизация растительного материала проводилась согласно протокола [9].

Для введения в культуру *in vitro* пазушных почек спиреи японской использовали питательную среду QL с добавлением гормонов БАП 0,5 мг/л, ГК 1,0 мг/л, ИМК 0,01 мг/л (Sigma-Aldrich, USA). Продолжительность данного этапа составляла 30-35 дней. pH питательной среды доводили до 5,8, далее автоклавировали при 121° С в течение 20 минут. Регуляторы роста растений добавляли непосредственно после автоклавирования питательной среды.



Мультипликация микропобегов. Следующим этапом была мультипликация микропобегов для размножения растений в больших количествах. Для мультипликации дополнительных микропобегов апекс культивировали на среде QL (Quoirine&Lepoivre) с добавлением гормонов БАП, ГК, ИМК и НУК. Было изучено 4 варианта различных концентраций регуляторов роста на среде QL: I вариант – безгормональная среда (контроль); II вариант – БАП 0,5 мг/л, ГК 1,0 мг/л и ИМК 0,01 мг/л; III вариант – БАП 0,5 мг/л и НУК 1,0 мг/л; VI вариант – БАП 0,5 мг/л и ИМК 1,0 мг/л. Для каждого варианта было высажено по 30 микропобегов спиреи японской. Данный этап длился 50 дней, после чего проводили фенологические наблюдения, которые включали такие показатели, как высота растений, количество листьев и количество побегов.

Укоренение микропобегов. Последним этапом в микроклональном размножении в культуре *in vitro* является укоренение микропобегов. Для укоренения микропобегов использовали 2 варианта питательных сред QL и MC. Для этого минеральный состав питательных сред QL и MC сократили вдвое с добавлением различных концентраций НУК. На этом этапе микропобеги высотой 1,5-2,0 см с несколькими листьями культивировали на среде, индуцирующей образование корней. Стадия укоренения микропобегов длилась 30 дней. Изучены следующие варианты: I вариант – ½ MC и ½ QL (без гормонов); II вариант – ½ MC и ½ QL с НУК 0,05 мг/л; III вариант – ½ MC и ½ QL с НУК 0,1 мг/л; IV вариант – ½ MC и ½ QL с НУК 0,25 мг/л; V вариант – ½ MC и ½ QL с НУК 1,0 мг/л; VI вариант – ½ MC и ½ QL с НУК 1,5 мг/л.

На этапе регенерации основного побега, мультипликации и укоренения микропобегов экспланты выращивали в оранжерее при температуре 24-26°C, освещенностью 4500 люкс, 16 часовым фотопериодом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение в культуру *in vitro* и размножение микропобегов. Оптимизация стадии мультипликации побегов очень важна для получения эффективного протокола микроклонального размножения. Выбор и использование подходящей питательной среды, а также типа и концентрации гормонов играет важную роль на данном этапе. Цитокинины необходимы на стадии пролиферации побегов [6].

Эффективная стерилизация пазушных почек *Spiraea japonica* составила 80%. Экспланты, имеющие признаки инфицирования, выбраковывали на 7-10 день культивирования. Экспланты начали индуцироваться через 8-12 дней после культивирования на среде QL, содержащей БАП 0,5 мг/л, ГК 1,0 мг/л, ИМК 0,01 мг/л.

Согласно исследованиям, более низкая концентрация ауксина с более высокой концентрацией цитокининов оказалась наиболее эффективна для индукции и образования побегов. Показано влияние генотипа на размножение побегов *in vitro*, а также важность соблюдения баланса между концентрациями различных регуляторов роста в питательной среде [10].

Выбор цитокинина БАП в качестве основного индуктора для мультипликации побегов объясняются многочисленными доказательствами эффективности гормона во время размножения кустарников семейства Розоцветных. Также выявлено, что его применение привело к устранению апикального доминирования и стимулировало развитие придаточных и пазушных побегов. Концентрация цитокинина в питательной среде выше 1,0 мМ угнетала образование побегов *Spiraea betulifolia* [11].

Апексы спиреи японской были вычленены и культивированы на среды для мультипликации побегов. Регуляторы роста по-разному влияли на мультипликацию побегов. Данные в таблице 1 показывают, что регуляторы роста оказали существенное влияние на коэффициент размножения растений. Установлено, что на среде QL, с добавлением БАП 0,5 мг/л; ГК 1,0 мг/л и ИМК 0,01 мг/л наибольший выход микропобегов, в среднем $14,02 \pm 1,39$ шт на эксплант, прирост по высоте у микропобегов – $6,39 \pm 0,81$ см, количество листьев на эксплант составило $97,48 \pm 1,72$ шт., что было значительно выше других двух комбинаций (таблица 1, рисунок 2). Культивирование на среде QL без гормонов и с добавлением БАП 0,5 мг/л и ИМК 1,0 мг/л приводили к наименьшему выходу микропобегов $2,23 \pm 0,44$ и $5,63 \pm 0,89$ побегов на эксплант.

Таблица 1. Влияние регуляторов роста на мультипликацию спиреи японской при использовании среды QL

Регуляторы роста (мг/л)				Высота растений, см	Количество листьев на эксплант, шт	Количество побегов на эксплант, шт
БАП	ГК	ИМК	НУК			
0	0	0	0	$2,23 \pm 0,03$	$13,70 \pm 1,24$	$2,23 \pm 0,44$
0,5	1,0	0,01	0	$6,39 \pm 0,81$	$97,48 \pm 1,72$	$14,02 \pm 1,39$
0,5	0	0	1,0	$4,20 \pm 0,17$	$54,89 \pm 1,01$	$8,50 \pm 0,90$
0,5	0	1,0	0	$2,84 \pm 0,35$	$25,47 \pm 2,74$	$5,63 \pm 0,89$



а

а – микропобеги на среде QL с БАП 0,5 и НУК 1,0 мг/л;



б

б – микропобеги на среде QL с БАП 0,5; ГК 1,0 и ИМК 0,01 мг/л

Рис. 2. Влияние регуляторов роста на мультипликацию *Spiraea japonica*

Таким образом, установили, что оптимальным вариантом для мультипликации микропобегов является среда QL с регуляторами роста БАП 0,5 мг/л; ГК 1,0 мг/л и ИМК 0,01 мг/л. Количество образовавшихся побегов составило $14,02$ шт на эксплант.

Следующим этапом микрклонального размножения в культуре *in vitro* было получение укорененных микропобегов.

Ауксины и цитокинины, безусловно, являются важными регуляторами роста в тканях растений и культурах органов и обычно составляют неотъемлемую часть питательных веществ в среде [12]. Слабое образование корней является одним из препятствий при обычном размножении и микроклональном размножении. Открытие гормонов ауксинового ряда позволило получить значительные успехи в улучшении укоренения и размножения растений. Корни играют важную роль в жизни и развитии растений, способствуя поставлению воды и питательных веществ для растений из окружающей среды [13].

Успешный протокол для укоренения был продемонстрирован при использовании НУК на *Solanum elaeagnifolium* D. Максимальное количество корней $3,4 \pm 0,84$ корня/побег наблюдали в среде, которая содержала 0,5 мг/л НУК. Корни были сформированы во всех вариантах использования НУК [14].

Микропобеги, регенерированные *in vitro*, после мультипликации были отделены от основного побега и высажены на среды $\frac{1}{2}$ QL и $\frac{1}{2}$ MC для укоренения, содержащие разные концентрации НУК (таблица 2, 3). На проанализированных вариантах питательной среды $\frac{1}{2}$ MC, была отмечена частота корнеобразования от 30 до 90 %. На III варианте – $\frac{1}{2}$ MC с НУК 0,1 мг/л наблюдали 90% корнеобразование, где в среднем сформировалось $4,53 \pm 0,48$ шт корней на побег, длина которых составила $1,61 \pm 0,09$ см (рисунок 3а). Также при использовании $\frac{1}{2}$ MC с НУК 0,05 мг/л наблюдали корнеобразования 66,7%, где в среднем сформировалось $2,30 \pm 0,73$ шт корней на побег, длина которых составила $1,28 \pm 0,08$ см. Следует отметить, что на среде $\frac{1}{2}$ MC с добавлением 0,25 мг/л и 1,0 мг/л, так и на без гормональной среде сформировано меньше корней на побег, по сравнению с контролем. Также, наблюдали пожелтение побегов и слабое развитие корневой системы. На высоких концентрациях НУК 1,5 мг/л образование корней не наблюдали (Таблица 2).

Таблица 2. Влияние состава среды MC на укоренение спиреи *in vitro*

Варианты	НУК	Количество корней	Длина корня, см	% укоренения
I – $\frac{1}{2}$ MC	0	$0,89 \pm 0,12$	$0,52 \pm 0,04$	40,0
II – $\frac{1}{2}$ MC	0,05	$2,30 \pm 0,73$	$1,28 \pm 0,08$	66,7
III – $\frac{1}{2}$ MC	0,1	$4,53 \pm 0,48$	$1,61 \pm 0,09$	90,0
IV – $\frac{1}{2}$ MC	0,25	$0,77 \pm 0,41$	$0,39 \pm 0,03$	33,3
V – $\frac{1}{2}$ MC	1,00	$0,37 \pm 0,07$	$0,03 \pm 0,01$	30,0
VI – $\frac{1}{2}$ MC	1,50	0,0	0,0	0,0

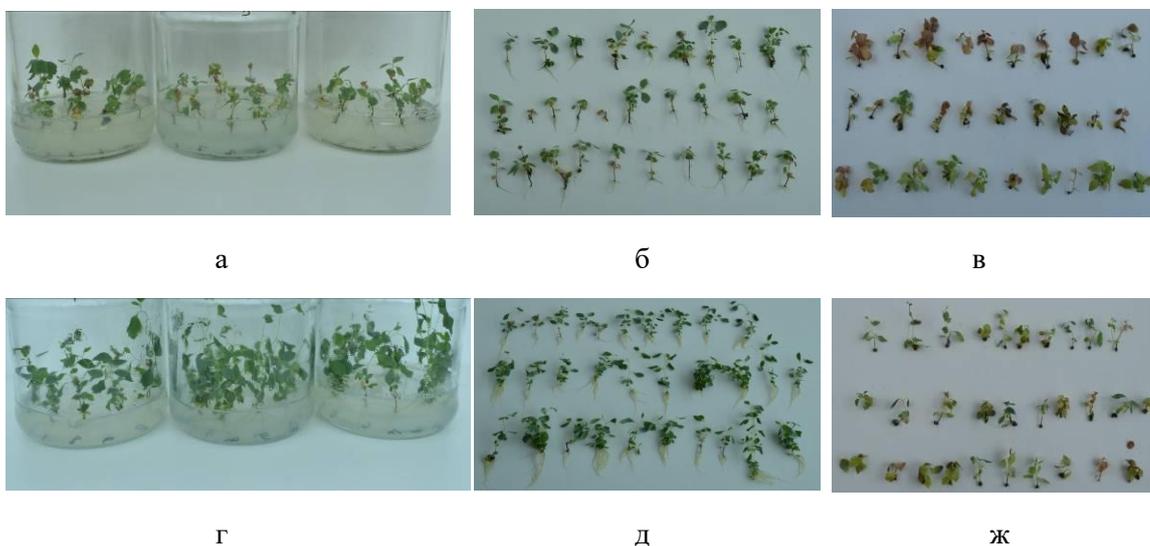
Наши результаты показали, что среда QL, обогащенная НУК создает лучшие условия для пролиферации корней, чем среда MC. Наибольшее количество корней $6,20 \pm 0,63$ наблюдали на среде QL с НУК 0,1 мг/л (Таблица 3, рисунок 3д). На среде MC с этой концентрацией гормона НУК 0,1 мг/л пролиферация корней была хуже, что составило $4,53 \pm 0,48$ (Таблица 2, рисунок 3б).

Также максимальный процент корнеобразования 100% получены при использовании среды $\frac{1}{2}$ QL, содержащий 0,1 мг/л и 0,25 мг/л НУК, где в среднем сформировалось по III варианту $6,20 \pm 0,63$ корней на побег, длина которых составила $4,60 \pm 0,02$ см (Таблица 3). На этом варианте также наблюдали растения темно-зеленого цвета, с хорошим развитием, как основного, так и боковых корней (Рисунок 3д). На IV варианте $\frac{1}{2}$ QL с НУК 0,25 мг/л наблюдали хорошее развитие основного корня, процент укоренения составил 100%, при этом

сформировалось $4,87 \pm 0,04$ корней на побеге, длина которых составила $2,75 \pm 0,04$ см. Как видно из таблицы 3, при использовании питательной среды $\frac{1}{2}$ QL, процент укоренения был выше, по сравнению питательной средой $\frac{1}{2}$ MC.

Таблица 3. Влияние состава среды QL на укоренение спиреи *in vitro*

Варианты	НУК	Количество корней	Длина корня, см	% укоренения
I – $\frac{1}{2}$ QL	0	$3,20 \pm 0,17$	$1,41 \pm 0,17$	60,0
II – $\frac{1}{2}$ QL	0,05	$3,60 \pm 0,08$	$2,00 \pm 0,07$	96,7
III – $\frac{1}{2}$ QL	0,1	$6,20 \pm 0,63$	$4,60 \pm 0,02$	100,0
IV – $\frac{1}{2}$ QL	0,25	$4,87 \pm 0,04$	$2,75 \pm 0,04$	100,0
V – $\frac{1}{2}$ QL	1,00	$4,33 \pm 0,29$	$0,45 \pm 0,01$	73,3
VI – $\frac{1}{2}$ MC	1,50	0,0	0,0	0,0



а – укорененные микропобеги на среде $\frac{1}{2}$ MC с 0,1 мг/л НУК; б – изолированные микропобеги; в – микропобеги на среде $\frac{1}{2}$ MC с 1,5 мг/л НУК; г – укорененные микропобеги на среде $\frac{1}{2}$ QL с 0,1 мг/л НУК; д – изолированные микропобеги; ж – микропобеги на среде $\frac{1}{2}$ QL с 1,5 мг/л НУК

Рис. 3. Укорененные микропобеги спиреи японской *in vitro*

Таким образом, установлено, что при микроклональном размножении спиреи японской целесообразно проводить укоренение микропобегов на питательной среде $\frac{1}{2}$ QL, дополненной 0,1 мг/л НУК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований мы достигли высокой скорости мультипликации и укоренения побегов, как надежного и воспроизводимого протокола для микроразмножения *Spiraea japonica*. Также наши результаты показали, что



максимальная скорость мультипликации ($14,02 \pm 1,39$) и самый высокий прирост длины побегов ($6,39 \pm 0,81$) была достигнута на среде QL с добавлениями 0,5 мг/л БАП, ГК 1,0 мг/л и 0,01 мг/л ИМК. $\frac{1}{2}$ QL среда с добавлением 0,1 мг/л НУК привело к 100% укоренению и максимальной скорости образования корней ($6,20 \pm 0,63$), длине самого длинного корня ($4,60 \pm 0,02$).

Финансирование

Работа выполнена в рамках научно-технической программы «Создание биобанка редких и исчезающих видов флоры и фауны Казахстана для сохранения биоразнообразия» на 2021-2022 годы при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Послание Главы государства Касым-Жомарта Токаева народу Казахстана «Казахстан в новой реальности: время действий» от 1 сентября 2020 // <http://www.akorda.kz>.
2. The Plant List (2013) Version 1.1. Published on the Internet; <https://www.theplantlist.org/>.
3. Павленкова Г.А., Емельянова О.Ю. Оценка перспективности красивоцветущих кустарников рода *Spiraea L.* генофонда дендрария ВНИИСПК по декоративным качествам // Селекция и сорторазведение садовых культур. - 2019. - Т.6, №2. - С. 59-63.
4. The Editors of Encyclopaedia Britannica. Spirea // *Encyclopedia Britannica*, 29 Apr. 2019, <https://www.britannica.com/plant/spirea>.
5. Lane W. D. *In vitro* propagation of *Spirea bumalda* and *Prunus cistena* from shoot apices // Canadian Journal of Plant Science. - 1979. - Vol. 59. - P. 1025-1029.
6. Mardani N., Ali Khadivi A., Vatanpour-Azghandi A. Micropropagation of Three Commercial Cultivars of Hazelnut (*Corylus avellana L.*) // *Gesunde Pflanzen*. - 2019.- P. 41-46.
7. Самарская В.О., Малаева Е.В., Постнова М.В., Аспекты клонального микроразмножения и сохранения растений *in vitro* // Биология и биотехнология. - 2019. - Т. 9, №3. - С. 13-22.
8. Gafitskaya I.V., Orlovskaya I. Yu, Nakonechnaya O.V., Nesterova S.V. Microclonal propagation of *Dasiphora fruticosa* (*Rosaceae*) *Botanica Pacifica* // A journal of plant science and conservation. - 2020. - Vol. 9, №1. -P. 85-90. <https://doi: 10.17581/bp.2020.09112>.
9. Nurtaza A.S., Magzumova G.K., Yessimseitova A.K., Dyussembekova D.A., Baktybay B., Turganbayeva A.K., Kakimzhanova A.A. Propagation and conservation of rare and endangered *Malus Niedzwetzkyana* by using micropropagation // *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. - 2019. - №2. - P.123-134.



10. Yadav K., Groach R., Aggarwal A., Singh N. A Reliable Protocol for Micropropagation of *Gloriosa superba* L. (*Colchicaceae*) // *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol.* - 2015.- Vol. 23, №1.- P. 243-252.
11. Muraseva D. S., Kostikova V. A. In vitro propagation of *Spiraea betulifolia* subsp. *Aemiliana* (*Rosaceae*) and comparative analysis of phenolic compounds of microclones and intact plants // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* . - 2021. - Vol. 144, № 3. - P. 493-504.
12. Machakova I., Zazimalova E., George E. F. Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors // *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd Edition. - 2008. - P. 175-204.
13. De Klerk, G-J. Rooting of microcuttings: Theory and practice // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* - 2002. - Vol. 38. - P.415-422.
14. Sarkar J., Banerjee N. Influence of different cytokinins on micropropagation of an important medicinal plant, *Solanum erianthum* D. Don, and assessment of the genetic fidelity of the regenerants // *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. - 2020. -Vol. 56, № 4. - P. 480-490.

REFERENCES

1. Poslanie Glavy gosudarstva Kasym-Zhomarta Tokaeva narodu Kazahstana «Kazahstan v novej real'nosti: vremja dejstvija» ot 1 sentjabrja 2020 // <http://www.akorda.kz>.
2. The Plant List (2013) Version 1.1. Published on the Internet; <https://www.theplantlist.org/>. (accessed 1st January).
3. Pavlenkova G.A., Emel'janova O.Ju. Ocenka perspektivnosti krasivocvetushhih kustarnikov roda *Spiraea* L. genofonda dendrarija VNIISPK po dekorativnym kachestvam. *Selekcija i sortorazvedenie sadovyh kul'tur*, 2019, t.6, no.2, c. 59-63
4. The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Spiraea*. *Encyclopedia Britannica*, 29 Apr. 2019, <https://www.britannica.com/plant/spirea>.
5. Lane W. D. In vitro propagation of *Spirea bumalda* and *Prunus cistena* from shoot apices. *Canadian Journal of Plant Science*, 1979, vol. 59, pp. 1025-1029.
6. Mardani N., Ali Khadivi A., Vatanpour-Azghandi A. Micropropagation of Three Commercial Cultivars of Hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Gesunde Pflanzen*, 2019, pp. 41-46.
7. Samarskaja V.O., Malaeva E.V., Postnova M.V., Aspekty klonal'nogo mikrorazmnozhenija i sohraneniya rastenij in vitro. *Natural Systems and Resources*, 2019, vol. 9, no. 3, pp. 13-22.
8. Gafitskaya I.V., Orlovskaya I. Yu, Nakonechnaya O.V., Nesterova S.V. Microclonal propagation of *Dasiphora fruticosa* (*Rosaceae*) *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation*, 2020, vol. 9, no.1, pp. 85-90. <https://doi: 10.17581/bp.2020.09112>.
9. Nurtaza A.S., Magzumova G.K., Yessimseitova A.K., Dyussebekova D.A., Baktybay B., Turganbayeva A.K., Kakimzhanova A.A. Propagation and conservation of rare and endangered *Malus Niedzwetzkyana* by using micropropagation. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, 2019, no 2, pp. 123-134.



10. Yadav K., Groach R., Aggarwal A., Singh N. A Reliable Protocol for Micropropagation of *Gloriosa superba* L. (*Colchicaceae*). *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 2015, vol. 23, no.1, pp. 243-252.

11. Muraseva D. S., Kostikova V. A. In vitro propagation of *Spiraea betulifolia* subsp. *Aaemiliana* (*Rosaceae*) and comparative analysis of phenolic compounds of microclones and intact plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2021, vol. 144, no 3, pp. 493-504.

12. Machakova I., Zazimalova E., George E. F. Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd Edition, 2008, pp. 175-204.

13. De Klerk, G-J. Rooting of microcuttings: Theory and practice. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 2002, vol. 38, pp. 415-422.

14. Sarkar J., Banerjee N. Influence of different cytokinins on micropropagation of an important medicinal plant, *Solanum erianthum* D. Don, and assessment of the genetic fidelity of the regenerants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 2020, vol. 56, no.4, pp. 480-490.

КӨГАЛДАНДЫРУ ҮШІН *SPIRAEA JAPONICA* ӨСІМДІГІН МИКРОКЛОНДЫ КӨБЕЙТУ

*Кәрімова В.Қ., Мағзұмова Г.К., Есимсеитова А.Қ., Кәкімжанова А.А.

Ұлттық биотехнология орталығы

Корғалжын тас жолы, 13/5, Нұр-Сұлтан, 010000, Қазақстан

*veke1981vk@mail.ru,

ТҮЙІН

Жапондық спирея (*Spiraea japonica*) — көгалдандыруда кеңінен қолданылатын сәндік бұта. Бірнеше өркеннен өсімдіктердің көп мөлшерін алу үшін *Spiraea japonica* микроклонды көбейту әдісі оңтайландырылды. Мультипликация және тамырдың пайда болуын арттыру үшін гормондардың оңтайлы концентрациясы белгіленді. Мультипликация үшін бензил аминопурин (БАП) 0,5 мг/л, гибберел қышқылымен (ГҚ) 1,0 мг/л, индолил май қышқылымен (ИМК) 0,01 және 1,0 мг/л, нафтил сірке қышқылымен (НСҚ) 1,0 мг/л үйлескен QL ортасы тестіленді. Тамырларды индукциялау үшін QL және MC ортасының жарты концентрациясында НСҚ бес дозада қолданылды. Өркендердің ең жоғары көбеюі (14,02±1,39) және өркеннің ең жоғары өсу ұзындығы (6,39) БАП 0,5 мг/л; ГҚ 1,0 мг/л және ИМК 0,01мг/л қосылған QL қоректік ортасында алынды. Ең жоғарғы тамырлану (100%), тамырлардың максималды саны (6,20±0,63), ең ұзын тамырдың ұзындығы (4,60±0,02), НСҚ 0,1 мг/л бар ½ QL қоректік ортасында байқалды. Қорытындылай келе, *Spiraea japonica* үшін жоғары таралу және тамырлану жылдамдығы бар тиімді хаттама сипатталды, оны жаппай көбейту үшін пайдалануға болады.

Негізгі сөздер: микроклонды көбейту, мультипликация, тамырлану, *in vitro*,



MICROCLONAL PROPAGATION OF *SPIRAEA JAPONICA* FOR LANDSCAPING

*Karimova V.K., Magzumova G.K., Yessimseitova A.K., Kakimzhanova A.A.

National Center for Biotechnology

13/5, Korgalzhyn road, Nur-Sultan, Kazakhstan

*veke1981vk@mail.ru

ABSTRACT

Japanese spiraea (*Spiraea japonica*) is an ornamental shrub widely used in landscaping. The method of clonal micropropagation of *Spiraea japonica* was optimized to obtain a large number of plants from several shoots. The optimal concentrations of hormones have been established to increase multiplication and root formation. QL medium with 0,5 mg/l benzyl aminopurine (BAP) in combination with 1,0 mg/l gibberelic acid (GA); 0,01 and 1,0 mg/l indolyl butyric acid (IBA); 1,0 mg/l of naphthyl acetic acid (NAA) were tested for multiplication. For root induction, naphthyl acetic acid (NAA) was used in five doses at half the concentration of QL and MS medium. The highest multiplication of shoots ($14,02 \pm 1,39$) and the highest increase in shoot length (6,39) was obtained on QL medium supplemented with 0,5 mg/l BAP; 1,0 mg/l GA and IBA 0,01 mg/l. The highest rooting (100%), the maximum number of roots ($6,20 \pm 0,63$), the length of the longest root ($4,60 \pm 0,02$) was observed on $\frac{1}{2}$ QL medium containing 0,1 mg/l NAA. In conclusion, for *Spiraea japonica*, an efficient high speed and rooting protocol is described that can be used in mass propagation.

Key words: micropropagation, multiplication, rooting, *in vitro*,