

УДК: 581.143.5

Original Article

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* БОЯРЫШНИКА СОМНИТЕЛЬНОГО (*CRATAEGUS AMBIGUA*) И ОСОБЕННОСТИ СРЕДНЕСРОЧНОГО ДЕПОНИРОВАНИЯРахимжанова А.О.¹ , Қали Б.Р.¹ , Манабаева Ш.А.^{1,2*} ¹ Национальный центр биотехнологии, 010000, Казахстан, г. Астана, Кургальжинское шоссе, 13/5² Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, 010000, Казахстан, г. Астана, ул. К. Сатпаева, 2

*manabayeva@biocenter.kz

АБСТРАКТ

Боярышник сомнительный (*Crataegus ambigua*) представляет собой ценный вид, используемый в озеленении, медицине и селекции. Однако сокращение природных популяций этого растения подчёркивает необходимость разработки эффективных методов его микрклонального размножения и сохранения. В ходе исследования проведён сравнительный анализ эффективности методов стерилизации семян и получены стерильные семена и микрклоны. Изучены влияния регуляторов роста, таких как 6-БАП, ГАЗ, ИУК и ИМК на процесс микрклонального размножения и ризогенеза. Оптимизированы условия замедленного роста, что имеет важное значение для среднесрочного хранения и устойчивого использования данного вида. Полученные результаты могут быть использованы при разработке эффективных протоколов клонального микроразмножения *C. ambigua*, что особенно важно для его сохранения, интродукции и применения в селекционных и реинтродукционных программах.

Ключевые слова: *Crataegus ambigua*, *in vitro*, микрклональное размножение, фитогормоны, замедленный рост

ВВЕДЕНИЕ

Боярышник (*Crataegus L.*) - род листопадных кустарников или небольших деревьев семейства *Rosaceae* (Розовые), включающий от 200 до 300 видов, распространённых в умеренном поясе Северного полушария. На территории Казахстана насчитывается около 15 видов боярышника, среди которых есть редкие, эндемичные и занесённые в Красную книгу виды. В Красную книгу Казахстана занесены следующие виды боярышника: боярышник сомнительный (*Crataegus ambigua* C.A. Mey. ex A. Beck.), являющийся эндемиком Мангышлака, встречается только на полуострове Мангышлак (горы Каратау и Северный Актау) и охраняемый как редкий вид с ограниченным ареалом, а также боярышник туркестанский (*Crataegus turkestanica*), произрастающий на юге страны. Эти виды обладают научной и природоохранной ценностью и включены в программы по сохранению биоразнообразия Казахстана [1-3].

Особый интерес представляют эндемичные и редкие виды, такие как *C. ambigua*, охраняемый государством и встречающийся исключительно на полуострове Мангышлак [4,5]. Многие виды *Crataegus* обладают ценными лекарственными свойствами и широко используются в народной медицине. Они известны благодаря кардиотоническому и гипотензивному действию, высокой декоративности (эффектное цветение, яркая осенняя окраска листвы), а также пищевой ценности плодов. Плоды и листья содержат биологически активные соединения, такие как флавоноиды, полифенолы и тритерпеновые кислоты, что делает его перспективным для фармацевтической и пищевой промышленности [6, 7]. Однако естественное размножение боярышника затруднено из-за низкой всхожести семян, длительного периода покоя и высокой гетерогенности потомства [8]. В этой связи особый интерес представляют методы микрклонального размножения *in vitro*, применяемые для сохранения генофонда редких и эндемичных видов, таких как *C. sinaica* и *C. ambigua*, а также для ускоренного получения генетически однород-

ного посадочного материала [9, 10].

Актуальность введения редких видов растений в культуру *in vitro* обусловлена необходимостью сохранения биоразнообразия и интродукции ценных генотипов в растениеводство и сельское хозяйство. Некоторые виды, такие как *C. pinnatifida* и *C. monogyna* обладают значительным экономическим потенциалом благодаря своим лечебным свойствам и устойчивости к неблагоприятным условиям среды [11, 12]. Однако процесс введения боярышника в культуру *in vitro* сопряжено с рядом трудностей, включая низкую регенерационную способность эксплантов, риск бактериального и грибкового заражения, а также необходимость подбора оптимальных эндогенных регуляторов роста [13].

В последние годы достигнут значительный прогресс в разработке протоколов микрклонального размножения представителей рода *Crataegus*. Показана эффективность использования цитокининов (6-бензиламинопурин (БАП) и кинетин (Кн)) и ауксинов (индолилуксусная кислота (ИУК), индолилмасляная кислота (ИМК) и α-нафтилуксусная кислота (НУК)) для индукции морфогенеза [8]. Также перспективным направлением является применение новых регуляторов роста, таких как мелатонин и брассиностероиды, способствующих укоренению микропобегов [12]. Важную роль играет оптимизация состава питательных сред, включая добавление антиоксидантов, что позволяет снизить окислительный стресс и повысить выживаемость эксплантов [9].

Среднесрочное депонирование *C. ambigua* является важной стратегией хранения данного вида. Эта технология реализуется за счёт добавления ингибиторов роста, таких как абцизовая кислота (АБК), хлорхолинхлорид (ССС) и маннит, в питательную среду. Такой подход позволяет сохранять жизнеспособность растений на протяжении нескольких месяцев без необходимости частых пересадок, что удобно при хранении коллекционных образцов и для последующего восстановления культуры.

Целью данной работы является введение в культуру

Таблица 1. Варианты питательных сред для микроклонального размножения *C. ambigua*

№	Состав:	Варианты питательных сред				
		МСБ, мг/л	МС-1, мг/л	МС-2, мг/л	МС-3, мг/л	МСР-4, мг/л
1	БАП		0,5	1,0	1,0	-
2	Кинетин	0,2	-	-	-	-
3	ГАЗ	-	-	-	0,5	-
4	ИМК	-	-	-	-	0,5

in vitro боярышника сомнительного (*Crataegus ambigua*), определение факторов, влияющих на регенерационную способность семян, и оценка перспектив использования биотехнологических методов для сохранения и размножения данного редкого и ценного вида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Объектом исследования являлись семена *C. ambigua*, собранные в Мангышлакском экспериментальном ботаническом саду.

Стерилизация и получение асептических проростков

Для получения асептических проростков *C. ambigua* использовали семена, подвергнутые поэтапной стерилизации. Первоначально семена обрабатывали 70% этанолом в течение одной минуты, а затем 10% раствором гипохлорита натрия с добавлением Твина-20 в течение 5, 15 и 30 минут (в зависимости от варианта обработки). После стерилизации семена промывали стерильной дистиллированной водой. Не менее трех раз.

Условия культивирования

Культивирование проводили при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 16-часовом фотопериоде и освещенности 2000-3000 лк. Пересадку эксплантов на свежую питательную среду осуществляли каждые 25-30 суток.

Питательные среды

В качестве питательной среды использовали минеральную основу по прописи Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением витаминов [14]. В качестве источника углерода использовали сахарозу в концентрации 20 г/л, pH- 5,8.

В качестве регуляторов роста в питательную среду добавляли следующие цитокинины: Кн в концентрации - 0,2 мг/л; БАП в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л, и гибберелловую кислоту (GA_3) в концентрации 0,5 мг/л, и ауксин: - ИМК в концентрации 0,5 мг/л. Все комбинации регуляторов роста приведены в таблице 1.

Условия среднесрочного депонирования

Для среднесрочного депонирования *C. ambigua* использовали питательную среду МС разбавленной вдвое (1/2 МС) без добавления фитогормонов. Обе среды дополняли сахарозой в концентрации 2%. В качестве ингибитора роста применялись CCC, АБК и маннит в различных концентрациях (таблица 2). Культивирование осуществляли при температуре $+10^\circ\text{C}$, освещенности 1200–1500 лк и фотопериоде 16 часов света /8 часов темноты. Продолжительность хранения составляла до 12 месяцев. Каждые три месяца проводили контрольные наблюдения: растения временно переносили в стандартные условия культивирования для оценки их жизнеспособности и регенерационного потенциала.

Таблица 2. Состав питательных сред для оптимизации условий культивирования в режиме замедленного роста

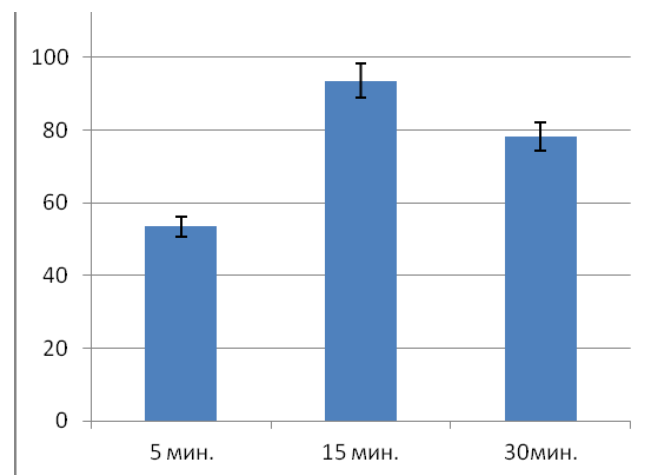
Среды	АБК, г/л	Маннит, мг/л	CCC, мг/л
МСХ-1	2.0	–	–
МСХ-2	5.0	–	–
МСХ-3	–	5.0	–
МСХ-4	–	8.0	–
МСХ-5	–	–	0.2
МСХ-6	–	–	0.5

Для анализа данных использовали средние значения $\pm$ стандартное отклонение, рассчитанные по результатам повторных экспериментов. Статистическая обработка проводилась с использованием программного обеспечения MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оптимизация условий стерилизации и получения микропобегов *C. ambigua* в культуре *in vitro*

Ключевым этапом в разработке методики микроразмножения *C. ambigua* стало получение асептических проростков из семенного материала.

Рисунок 1 - Эффективность стерилизации семян *C. ambigua*

Как показано на рисунке 1, 5-минутная экспозиция в стерилизующем растворе оказалась недостаточной, что проявилось высоким уровнем контаминации (53,4%). В то же время увеличение времени обработки до 30 минут, наоборот, приводило к значительному снижению жизнеспособности эксплантов. Оптимальные результаты (93,6% стерильных образцов) были достигнуты при 15-минутной обработке 5% раствором NaOCl с добавлением Твина-20.

После стерилизации семена высевали на питательную среду МС содержащие 0,2 мг/л Кн и инкубировали в течение 7-10 дней до размягчения семенной оболочки (рис.

1а). По истечении этого срока осуществляли извлечение зародышей (рис. 1б, в), которые затем переносили на свежую питательную среду МС с тем же содержанием Кн для дальнейшего роста и развития *in vitro*. Получение асептических проростков с высокой жизнеспособностью позволило приступить к последующим этапам микроклонального размножения *C. ambigua*.

Микроклональное размножение растений *C. ambigua*

В ходе изучения регенерационного потенциала зародышей *C. ambigua* установлено, что культивирование на среде МСБ, содержащей 0,2 мг/л Кн, стимулировало интенсивное удлинение гипокотили. Уже через две недели наблюдалось формирование основного побега длиной 1,5-2,5 см (рисунок 2).

На 15-й день культивирования все микропобеги были пассированы на 3 варианта питательной среды (МС-1, МС-2 и МС-3) для оптимизации роста побегов.

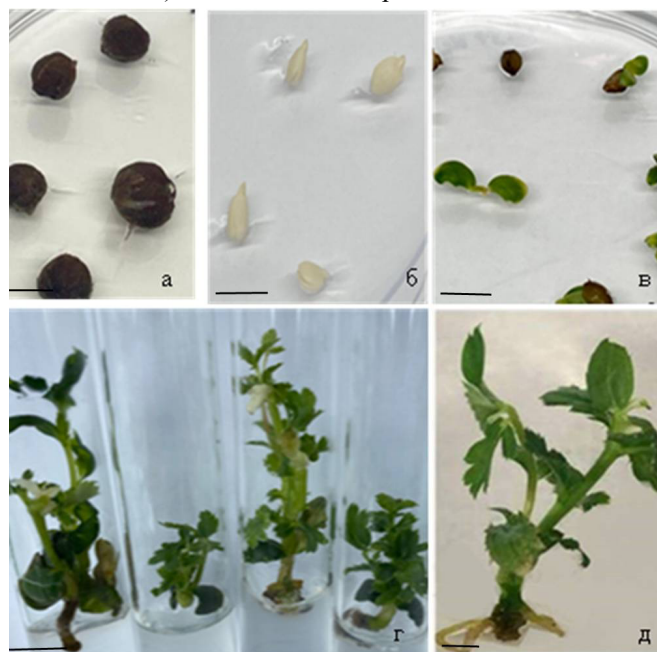


Рисунок 2 - Размножение *C. ambigua* из семян в условиях *in vitro*:

а- семена; б- извлеченные зародыши, в - 7 дневные семядоли; г- микропобеги; д- корнеобразование

Удлинение побегов *C. ambigua* эффективно стимулировалось добавлением в среду GA_3 в концентрации 0,5 мг/л. Наиболее высокие показатели роста (78,5%) достиг-

Таблица 3. Влияние регуляторов роста на регенерацию *C. ambigua* в культуре *in vitro*

№	Минеральная основа и регуляторы роста (мг/л)	Частота регенерации (%)
1	МС-1 (0,5 БАП)	46,5±3,5
2	МС-2 (1,0 БАП)	55,4±4,2
3	МС-3 (1,0 БАП+0,5 GA_3)	78,5±2,8

нуты при использовании питательной среды МС-3, содержащей 1,0 мг/л БАП в сочетании с 0,5 мг/л GA_3 . Варианты среды, содержащие только БАП, обеспечивали более низкие частоты регенерации - 46,5% и 55,4%, что указывает на синергетический эффект при совместном применении БАП с GA_3 (таблица 3).

Для укоренения микропобегов использовалась модифицированная среда МСП-4 с половинной концентрацией минеральных солей, дополненная 20 г/л сахарозы и 0,5 мг/л ИМК.

Согласно данным таблицы 4, в ходе двух последовательных пассажей наблюдалось статистически достоверное увеличение морфометрических показателей микропобегов *Crataegus ambigua* в условиях культуры *in vitro*. Средняя длина побегов возросла с 4,875 см на первом пассаже до 5,652 см на втором пассаже ($p < 0,05$), что указывает на улучшение ростовых характеристик культуры при повторном культивировании. Одновременно с этим увеличилось среднее количество побегов на эксплант - с 2,625 до 3,698, что свидетельствует о повышении пролиферативной активности и, соответственно, эффективности микроклонального размножения.

Рассчитанный коэффициент размножения, составивший 2,955, подтверждает высокую эффективность разработанной системы микроклонального размножения для данного вида. Следует отметить, что такой показатель считается удовлетворительным и перспективным для древесных растений.

Сохранение жизнеспособности *C. ambigua in vitro* методом среднесрочного депонирования

Анализ, представленный на рисунке 3, продемонстрировал эффективность использования различных ингибиторов роста для среднесрочного хранения растений *C. ambigua* в условиях *in vitro* на интервалах 3 и 6 месяцев. Результаты показали, что применение определённых ростретагдантов позволяет существенно продлить жизнеспособность растений без необходимости пересадки и ак-

Таблица 4. Коэффициент размножения и статистические показатели длины побегов при микрочеренковании *C. ambigua*

№		Пассаж 1		Пассаж 2	
		Среднее значение	Стандартная ошибка среднего	Среднее значение	Стандартная ошибка среднего
1	Средняя длина побега, см	4,875	1,246	5,652	0,853
2	Среднее количество побегов, шт	2,625	0,744	3,698	1,235
3	Коэффициент размножения	2,955			

тивного культивирования. Наиболее высокие показатели выживаемости были зафиксированы при использовании питательной среды MS, дополненной 0,5 мг/л CCC. Через 14 недель культивирования на данном варианте сохранялось до 93,8% жизнеспособных растений. Даже по прошествии 23 недель уровень выживаемости оставался относительно высоким (68,8%), что свидетельствует о высокой эффективности CCC в качестве ретарданта при замедленном росте.

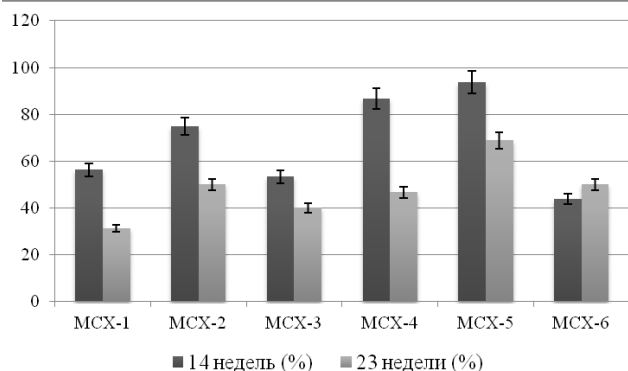


Рисунок 3 - Выживаемость растений *C. ambigua* при хранении в условиях замедленного депонирования

Для сравнения, применение других ингибиторов роста, таких как АБК и маннит, обеспечивало значительно более низкие показатели выживаемости. Через 23 недели на среде с АБК жизнеспособность растений составляла лишь 31%, а при использовании маннита - около 50%.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что применение хлорхолинхлорида в составе питательной среды является наиболее эффективной стратегией для среднесрочного депонирования *C. ambigua* в культуре *in vitro*, позволяя сохранять жизнеспособность образцов без существенного нарушения их физиологического состояния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование позволило разработать и оптимизировать ключевые этапы введения *C. ambigua* в культуру *in vitro*, а также определить эффективные условия для её среднесрочного хранения методом замедленного роста. Полученные результаты имеют важное прикладное значение как для биотехнологического размножения, так и для сохранения редких и ценных генотипов данного вида.

Установлено, что применение 5% раствора гипохлорита натрия (NaOCl) с добавлением поверхностно-активного вещества Твин-20 при экспозиции в течение 15 минут обеспечивает эффективную стерилизацию семенного материала, минимизируя уровень бактериальной и грибной контаминации. Это создало необходимые условия для получения асептических проростков и успешной инициации культур *in vitro*.

Эксперименты по регенерации показали, что добавление в питательную среду цитокинина БАП в концентрациях 0,5–1,0 мг/л в сочетании с ГАз стимулирует пробуждение пазушных почек, активное формирование побегов и значительно повышает частоту регенерации. Эти параметры подтверждают высокую эффективность выбран-

ных сочетаний фитогормонов для стимулирования морфогенетических процессов у *C. ambigua*.

Укоренение микропобегов наиболее эффективно происходило на модифицированной питательной среде с половинной концентрацией минеральных солей МС и добавлением 0,5 мг/л ИМК, что обеспечивало формирование жизнеспособной корневой системы и успешное развитие растений.

Для сохранения растений *C. ambigua* в условиях замедленного депонирования наиболее эффективной оказалась среда, содержащая 0,5 мг/л хлорхолинхлорида. Данный подход позволил сохранять жизнеспособность микрорастений до 23 недель без необходимости пересадки, что делает его перспективным инструментом для среднесрочного депонирования коллекционного материала.

Разработанный протокол микроклонального размножения и хранения *C. ambigua* может быть рекомендован для массового производства посадочного материала, а также для реализации программ по сохранению генофонда, интродукции и реинтродукции данного вида в природные и культурные экосистемы. Учитывая фармакологическую, экологическую и декоративную ценность *C. ambigua*, полученные данные открывают широкие перспективы для его использования в биотехнологии, медицине и ландшафтном озеленении.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках программы BR28713087 «Фундаментальные и прикладные аспекты получения и целенаправленного синтеза биологически активных веществ лекарственных растений в культуре *in vitro*» на 2025–2027 гг., поддержанной Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Красная книга Казахстана. Том 2: Растения. – 4-е изд. – Астана: Министерство экологии, геологии и природных ресурсов РК, 2021. – С. 145–147.
- 2 Иващенко А.А. Редкие и исчезающие растения Казахстана. – Алматы: Қазақ университеті, 2018. – 342 с.
- 3 Пяк А.И., Бельская Г.В. Эндемичные виды флоры Мангистауской области // Ботанический журнал. – 2019. – Т. 104, № 3. – С. 45–52.
- 4 Аралбай Н.К., Кудабасева Г.М., Иманбаева А.А. и др. Государственный кадастр растений Мангистауской области. Конспект высших сосудистых растений. – Актау, 2006. – 229 с.
- 5 Аралбай Н.К., Кудабасева Г.М., Иманбаева А.А. и др. Каталог редких и исчезающих видов растений Мангистауской области (Красная Книга). – Актау, 2006. – 32 с.
- 6 Li T. et al. Biological properties and potential application of hawthorn and its major functional components: A review // Journal of functional foods. – 2022. – Vol. 90. – P. 104988.
- 7 Nazhand A. et al. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An updated overview on its beneficial properties // Forests. – 2020. – Vol. 11. – №. 5. – P. 564.

8 Фирсова М. В., Набиева А. Ю. Особенности введения в культуру *in vitro* боярышника перстонадрезанного (*Crataegus pinnatifida* Bunge) // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – №. 1 (111). – С. 58-62.

9 Maharik N., Elgengaihi S., Taha H. IN VITRO MASS PROPAGATION OF THE ENDANGERED SINAI HAWTHORN CRATAEGUS SINAICA BOISS // International journal of academic research. – 2009. – Vol. 1. – №. 1.

10 Tuyakova A. T. et al. Anatomicheskie osobennosti nadzemnyh organov *Crataegus ambigua* CA Mey., proizrastayushchih v ushchel'yah Zapadnogo Karatau poluostrova Mangyshlak // Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya. – 2016. – Vol. 67. – №. 2. – P. 24-31.

11 Jia K. et al. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Hawthorn Vinegar // Microbiology Research. – 2024. – Vol. 15. – №. 4. – P. 2048-2055.

12 Kozlovskaya, O. V. (2023). Ispol'zovanie novogo regul'yatora rosta dlya mikrorazmnozheniya nekotoryh vidov roda *Crataegus*.

13 Aly H., Mahmoud S., El-Bakry A. Efficient in vitro germination of the endangered Sinai hawthorn (*Crataegus sinaica*) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2025. – Vol. 160. – №. 3. – P. 1-14.

14 Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497

REFERENCES

1 Red Book of Kazakhstan / Krasnaya kniga Kazakhstana // Rasteniya. – 4-th edition. – Astana: Ministerstvo ekologii, geologii i prirodnih resursov RK, 2021. – Vol. 2. – P. 145-147. [In Russian].

2 Ivaschenko A.A. Rare and endangered plants of Kazakhstan / Ivashchenko A.A. Redkie i ischezayushchie rasteniya Kazakhstana // – Almaty: Kazakh universities, 2018. – P. 342. [In Russian].

3 Pyak A.I., Belskaya G.V. Endemic species of flora of the Mangistau region / Pyak A.I., Bel'skaya G.V. Endemichnye vidy flory Mangistauskoj oblasti // Botanical journal. – 2019. – Vol. 104, No. 3. – P. 45-52. [In Russian].

4 Aralbay N.K., Kudabaeva G.M., Imanbaeva A.A. et al. State Plant Cadastre of Mangistau Region / Aralbay N.K., Kudabaeva G.M., Imanbaeva A.A. i dr. Gosudarstvennyj kadastr rastenij Mangistauskoj oblasti // Abstract of Higher Vascular Plants. – Aktau, 2006. – P. 229. [In Russian].

5 Aralbay N.K., Kudabaeva G.M., Imanbaeva A.A. et al. Catalogue of rare and endangered plant species of the Mangistau region (Red Book) / Aralbay N.K., Kudabaeva G.M., Imanbaeva A.A. i dr. Katalog redkih i ischezayushchih vidov rastenij Mangistauskoj oblasti (Krasnaya Kniga) // – Aktau, 2006. – P. 32. [In Russian].

6 Li T. et al. Biological properties and potential application of hawthorn and its major functional components: A review // Journal of functional foods. – 2022. – Vol. 90. – P. 104988.

7 Nazhand A. et al. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An updated overview on its beneficial properties // Forests. – 2020. – Vol. 11. – №. 5. – P. 564.

8 Firsova M. V., Nabieva A. Yu. Features of introduction into *in vitro* culture of (*Crataegus pinnatifida* Bunge) / Firsova M. V., Nabyeva A. YU. Osobennosti vvedeniya v kul'turu *in vitro* boyaryshnika perstonadrezannogo (*Crataegus pinnatifida* Bunge) // Bulletin of the Altai State Agrarian University. – 2014. – No. 1 (111). – P. 058-062. [In Russian].

9 Maharik N., Elgengaihi S., Taha H. IN VITRO MASS PROPAGATION OF THE ENDANGERED SINAI HAWTHORN CRATAEGUS SINAICA BOISS // International journal of academic research. – 2009. – Vol. 1. – №. 1.

10 Tuyakova A. T. et al. Anatomicheskie osobennosti nadzemnyh organov *Crataegus ambigua* CA Mey., proizrastayushchih v ushchel'yah Zapadnogo Karatau poluostrova Mangyshlak // Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya. – 2016. – Vol. 67. – №. 2. – P. 24-31.

11 Jia K. et al. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Hawthorn Vinegar // Microbiology Research. – 2024. – Vol. 15. – №. 4. – P. 2048-2055.

12 Kozlovskaya, O. V. (2023). Ispol'zovanie novogo regul'yatora rosta dlya mikrorazmnozheniya nekotoryh vidov roda *Crataegus*.

13 Aly H., Mahmoud S., El-Bakry A. Efficient in vitro germination of the endangered Sinai hawthorn (*Crataegus sinaica*) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2025. – Vol. 160. – №. 3. – P. 1-14.

14 Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497

CRATAEGUS AMBIGUA (КҮМӘНДІ ДОЛАНА) ӨСІМДІГІН *IN VITRO* КУЛЬТУРАСЫНА ЕНГІЗУ ЖӘНЕ ОРТА МЕРЗІМДІ САҚТАУ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ**Рахимжанова А.О.¹, Қали Б.Р.¹, Манабаева Ш.А.^{1,2*}**¹ Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын көшесі 13/5, Астана, 010000, Қазақстан² Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтбаев көшесі 2, Астана, 010000, Қазақстан

*manabayeva@biocenter.kz

АБСТРАКТ

Күмәнді долана (*Crataegus ambigua*) көгалдандыру, медицина және селекция үшін құнды түр болып табылады, бірақ оның табиғи популяциясы азайып, микроклональды көбейту әдістерін әзірлеу өзекті. *C. ambigua* өсімдігін *in vitro* культурасына енгізу және баяу өсу ерекшеліктерін зерттеу осы түрдің сақталуы мен көбеюіне үлкен қызығушылық тудырады. Экспланттарды зарарсыздандыру тиімділігіне салыстырмалы талдау жүргізілді және асептикалық дақылдарды бастау үшін оңтайлы жағдайлар таңдалды. 6-БА, ГАЗ, ИУК, ИМК сияқты өсу реттегіштерінің меристемалық тіндердің пролиферациясына, морфогенезге және ризогенезге әсері зерттелді. Алынған мәліметтер осы түрдің клондық микрокөбейтуінің тиімді хаттамаларын әзірлеу үшін пайдаланылуы мүмкін, бұл оны сақтау және селекциялық және реинтродукциялық бағдарламаларда пайдалану үшін маңызды.

Түйін сөздер: *Crataegus ambigua*, *in vitro*, микроклональды көбейту, фитогормондар, баяу өсу

INTRODUCTION TO *IN VITRO* CULTURE OF *CRATAEGUS AMBIGUA* AND FEATURES OF MEDIUM-TERM DEPOSIT**Rakhimzhanova A.O.¹, Kali B.R.¹, Manabayeva S.A.^{1,2*}**¹ National Center for Biotechnology, 13/5, Qorghalzhyn Hwy., Astana, 010000, Kazakhstan² L.N.Gumilyov Eurasian National University, Satpayev st. 2, Astana, 010000, Kazakhstan Corresponding author:

*manabayeva@biocenter.kz

ABSTRACT

The hawthorn (*Crataegus ambigua*) is a valuable species used for landscaping, medicinal purposes, and breeding. However, the decline of its natural populations underscores the need for effective microclonal propagation and preservation methods. This study conducted a comparative analysis of seed sterilization methods and obtained sterile seeds and micromasses. The influence of growth regulators, such as 6-BA, GA₃, IBA, and IAA, on microclonal propagation and rhizogenesis was also examined. Optimizing the conditions for slow growth is important for medium-term storage and the sustainable use of this species. These results can be used to develop effective protocols for the clonal micropropagation of *C. ambigua*, which is important for its conservation and introduction into breeding and reintroduction programs.

Keywords: *Crataegus ambigua*, *in vitro*, microclonal propagation, phytohormones, slow growth