**ӘОЖ 634.26:581.52** **Зерттеу мақаласы**

# Бағалы дәрілік және жемдік өсімдік *Rhaponticum carthamoides* баяу өсу жағдайында *in vitro* сақтау

**Тагиманова Д.С.**[1,2], **Райзер О.Б.** [1], **Джатаев С.А.**[2], **Хапилина О.Н.**[1]

[1]«Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС, Астана, Қазақстан
[2]«С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті» КеАҚ, Астана, Қазақстан

**Корреспондент-автор:** Тагиманова Д.С.: tagds@mail.ru
**Бірлескен авторлар:** (2: ОР) 2008olesya@mail.ru; (3: СД) s.jatayev@kazatu.edu.kz, (4: ОХ) oksfur@mail.ru

**Қабылданған күні:** 28.04.2026 **Қабылданды:** 12.08.2026 **Жарияланды:** 30.09.2026

**Авторлық құқық:** Тагиманова Д.С. т.б. Бұл мақала ашық қолжетімділікте жарияланып, Creative Commons Attribution 4.0 халықаралық лицензиясының шарттарына сәйкес таратылады (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Түйін**

Алғышарттар мен мақсат. Сирек кездесетін және шаруашылық құнды өсімдіктерді, соның ішінде *Rhaponticum carthamoides* сақтау үшін *in vitro* жағдайында тиімді депонирлеу әдістерін әзірлеу қажет. Жұмыстың мақсаты биотехнология әдістерін қолдана отырып, марал тамырының асептикалық культураларын in vitro жағдайында орта мерзімді сақтау шарттарын оңтайландыру.

Материалдар мен әдістер. Адвентивті микроөскіндер 2–10 мг/л абсциз қышқылы мен 3–5 г/л маннит қосылған ½ МС ортасында өсірілді. Жасушалар қайта отырғызусыз 3–9 ай бойы 4 ± 1 °С температурада сақталды. Сақтаудан кейін морфометриялық сипаттамалары мен тіршілікке қабілеттілігі бағаланды. Аналық өсімдіктер мен регенерант өсімдіктердің генетикалық үйлесімділігін бағалау үшін iPBS талдауы қолданылды. Жұмыста сегіз праймер қолданылды.

Нәтижелер. Қоректік ортаны өзгертпей температураны төмендету орта мерзімді сақтауды қамтамасыз етпеді. Абсциз қышқылы өсуді тежеді, оның концентрациясы неғұрлым жоғары болса, бұл әсер соғұрлым айқын болды. Жоғары концентрацияда ол өсімдіктің қалпына келу процестерін баяулатты. Ең тиімдісі 3 г/л маннит болды, ол өсудің баяулауын қамтамасыз етіп, 9 ай бойы жоғары регенерациялық қабілеттің сақталуын қамтамасыз етті. iPBS-ПТР фрагменттерін талдау негізінде 9 ай сақтаудан кейін аналық өсімдіктер мен регенеранттардың генетикалық сәйкестігі анықталды.

Қорытынды. Орта мерзімді сақтаудың оңтайлы режимі 4 °С температурада, құрамында 3 г/л маннит бар ½ MS қоректік ортасында өсіру болып табылады. Бұл жағдайлар in vitro өсімдіктердің өміршеңдігін және морфогенетикалық әлеуетін сақтауға мүмкіндік береді.

**Кілт сөздер:** *Rhaponticum carthamoides; in vitro;* өсу тежегіштері; орта мерзімді сақтау; осмотикалық стресс.

## Кіріспе

Заманауи биотехнологияның негізгі міндеттерінің бірі – жойылып кету қаупі төнген сирек кездесетін өсімдік түрлерін, әсіресе әлеуметтік-экономикалық құндылығы бар өсімдіктерді сақтау. Оларға ең алдымен дәрілік шикізат алу үшін қарқынды жиналатын дәрілік өсімдіктер жатады, бұл олардың санының азаюына және популяциялардың толығымен жойылуына әкеледі. *Asteraceae* өсімдіктер тұқымдасы биоәртүрлілігін сақтау үшін ғылыми қоғамдастықтың қызығушылығын тудыратын эндемикалық және реликвиялық түрлерді қоса алғанда, көптеген дәрілік түрлерге ие. Солардың бірі саны тез азайып бара жатқан сирек кездесетін және құнды дәрілік түр *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) [1].

Қазіргі заманғы биотехнологиялық әдістер, атап айтқанда, in vitro микрокөбейту әдісі, *R.carthamoides* көбеюінің тиімді шешімдерін ұсынады, бұл генетикалық сипаттамаларын сақтай отырып, өсімдіктердің көбею мәселесін шешуге, сондай-ақ отырғызу материалын қысқа мерзімде әзірлеуге мүмкіндік береді. Биотехнологиялық әдістердің өсімдік түрлерін сақтаудың дәстүрлі әдістерімен салыстырғанда бірқатар артықшылықтары бар: аналық және көбейтілген өсімдіктер алып жатқан үлкен аумақтардың қажеті жоқ, оларға үнемі күтіп ұстаудың қажеті жоқ,


**Дәйексөз үшін:** Тагиманова, Д.С., Райзер, О.Б., Джатаев, С.А., Хапилина, О.Н. (2026). Бағалы дәрілік және жемдік өсімдік *Rhaponticum carthamoides* баяу өсу жағдайында in vitro сақтау. Еуразиялық агротехникалық журнал, 3(131), 18-27. DOI: https://doi.org/10.51452/eaj.2026.3(131).2227

өсімдік аурулары шектеліп, нәтижесінде материалдың жоғалуы болмайды. Сонымен қатар, *in vitro* көбею әдістерін қолдану табиғи мекен ету ортасына айтарлықтай зиян келтірмей, жабайы флора өкілдерінің генетикалық әлеуетін сақтау және қалпына келтіру үшін жаңа мүмкіндіктер береді [2, 3].

Түрді сақтау және *ex situ* плантацияларын құру үшін жоғары сапалы отырғызу материалын тез алу ғана емес, сонымен қатар оны оңтайлы уақытта отырғызу да маңызды. Бұған өсімдіктердің ұзақ мерзімді тіршілік етуін қамтамасыз ететін ұзақ мерзімді сақтау және криоконсервация әдістері қолданылады. Өсуді баяулату температураны, жарықты және фотопериодты өзгерту, сондай-ақ қоректік ортаның құрамын (сахароза, минералдар, гормондар, осмореттегіштер мен өсу тежегіштерін) реттеу арқылы жүзеге асады [4, 5].

*R. carthamoides* асептикалық культураларын ұзақ мерзімді сақтау бойынша алдыңғы зерттеулерімізде біз өсу ингибиторы ретінде хлорхолин хлоридін (ССС) сәтті қолдандық. Бұл тәсіл бізге пассаждар арасындағы аралықтарды ұзартуға және дақылдың регенеративті әлеуетін сақтауға мүмкіндік берді [6]. Дегенмен, осы оң нәтижелерге қарамастан, қайта отырғызу кезеңін одан әрі ұзарту үшін ССС әлеуеті шектеулі болды.

*In vitro* консервациялаудың заманауи әдістері төмен температура, төмен жарық және өсу реттегіштерін, ингибиторларын және осмотикалық агенттерді қолдану арқылы өсімдіктердің метаболикалық белсенділігін кешенді түрде төмендетуге негізделген. Абсциз қышқылы өсімдіктердің стрестік реакцияларын имитациялай отырып, тыныштықты тудыру және метаболикалық белсенділікті төмендету қабілетімен танымал. Маннит сияқты осмотикалық агенттер қоршаған ортаның осмотикалық әлеуетін арттырады, жасушаларға судың енуін шектейді және осылайша өсуді баяулатады [7, 8, 9].

Бұл зерттеу жұмысы *R. carthamoides* асептикалық өсімдіктерін орта мерзімді сақтау әдістерін одан әрі жетілдіруге бағытталған. Сақтаудың тиімділігін арттыру мақсатында бұл жұмыста абсциз қышқылы мен маннитті пайдалана отырып, өсімдіктерді өсірудің оңтайлы шарттарымен, атап айтқанда, төмен температура мен әлсіз жарықпен үйлестірдік.

Жұмыстың мақсаты – биотехнология әдістерін пайдалана отырып, марал тамырының асептикалық культураларын *in vitro* жағдайында орта мерзімді сақтау шарттарын оңтайландыру.

## Материалдар мен әдістер

Депонирлеу үшін *in vitro* жағдайында көбейтілген, ұзындығы 20–25 мм болатын *R. carthamoides* адвентивті өркендері пайдаланылды. Әр нұсқада 10 өркеннен үш мәрте қайталыммен алынып, олар өсу ингибиторларымен толықтырылған ½ МС қоректік ортасына орналастырылды. Өсу ингибиторлары ретінде АБҚ 2–10 мг/л және маннит 3–5 г/л қолданылды.

Бақылау ретінде құрамында өсу реттегіштері жоқ, 60 г/л сахароза қосылған ½ МС қоректік ортасы қолданылды. *In vitro* сақтау 4 ± 1 °С температурада 500 люкс жарықтандыру және 16 сағаттық фотопериодта жүргізілді [6]. Депонирлеуден кейін, экспланттар 0,5 мг/л БАП қосылған МС қоректік ортасына отырғызылды. Орта мерзімді сақтаудың тиімділігі жаңа өскіндердің пайда болу қарқындылығына және оңтайлы *in vitro* жағдайларында өсуді қалпына келтіру мүмкіндігіне негізделіп, өсірудің 3, 6 және 9 айынан кейін бағаланды.

Орта мерзімді сақтаудан кейін өсімдіктердің біртектілігін бағалау үшін толық қалыптасқан регенеранттар таңдалып алынды, ал бақылау ретінде популяцияның бастапқы өсімдіктері пайдаланылды. ДНҚ экстракциясы CTAB-буферін қолдану арқылы жүргізілді [10]. ДНҚ концентрациясы спектрофотометриялық әдіспен NanoDrop 1000 (Thermo Scientific) спектрофотометрын пайдаланып сандық түрде анықталды.

Зерттеуде орта мерзімді сақтаудан кейінгі *R. carthamoides* өсімдіктерінің генетикалық тұрақтылық деңгейін анықтау үшін iPBS праймерлері қолданылды. Бақылау ретінде түрдің табиғи популяцияларынан алынған өсімдіктер пайдаланылды. ПТР 10 мкл көлемде, оның ішінде 2 мкл ДНҚ, 5 мкл Master Mix Plan Direct, 1 мкл праймер (5 мМ) және 1 мкл MQ қамтылды. Амплификация 98 °С температурада (3 мин) алдын ала денатурациялауды, содан кейін 15 сек бойы 98 °С температурада 35 циклды, 52–60 °С температурада 30 сек жабысуы, 72 °С температурада 1 мин ұзартуды және 72 °С температурада 2 мин бойы соңғы қадамды қамтыды. ПТР өнімдері 1×TBE ерітіндісіндегі 1,5% агарозды гелде талданды [11].

Деректерді статистикалық өңдеу R статистикалық ортасында (4.5.1 нұсқасы; R Core Team, Вена, Австрия) RStudio бағдарламасын пайдалану арқылы жүргізілді. Өсу ингибиторының концентрациясы мен сақтау ұзақтығының өсімдіктердің морфометриялық көрсеткіштеріне әсері екі факторлы дисперсиялық талдау (two-way ANOVA) әдісімен бағаланды. Факторлардың әсер ету мөлшері ішінара эта-квадрат (partial eta squared, η2p) көрсеткіші арқылы анықталды. Айырмашылықтардың статистикалық мәнділігі анықталған жағдайда, қоректік орталар арасындағы жұптық салыстырулар Тьюкидің HSD (Honestly Significant Difference) пост-хок тесті көмегімен жүргізілді. Статистикалық мәнділік деңгейі $p < 0,05$ деп қабылданды [12].

## Нәтижелер

Тәжірибе барысында *R.carthamoides* микроөркендерін АБҚ мен маннитің әртүрлі концентрациялары қосылған ½ MS ортасында орта мерзімді сақтаудың тиімділігі зерттелді. Өсіру 4 ± 1 °C температурада және әлсіз жарықтандыру жағдайында жүргізілді (1-кесте).

**1-кесте.** Микроөсімдіктердің морфометриялық параметрлерінің өзгеруі

| Қоректік орта нұсқасы | Биіктігі, см | | | | Жапырақ саны | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Бастапқы мәндер | 3 айдан соң | 6 айдан соң | 9 айдан соң | Бастапқы мәндер | 3 айдан соң | 6 айдан соң | 9 айдан соң |
| АБҚ 2 мг/л | 14,2 ± 1,4 | 13,9 ± 1,3 | 13,1 ± 1,2 | 10,8 ± 1,7 | 5,8 ± 0,7 | 5,6 ± 0,8 | 5,2 ± 0,7 | 3,9 ± 0,5 |
| АБҚ 5 мг/л | 13,8 ± 1,3 | 13,0 ± 1,4 | 12,0 ± 1,5 | 9,6 ± 1,8 | 5,7 ± 0,6 | 5,3 ± 0,7 | 4,8 ± 0,8 | 3,4 ± 0,6 |
| АБҚ 10 мг/л | 13,6 ± 1,5 | 12,5 ± 1,6 | 11,2 ± 1,7 | 8,7 ± 1,9 | 5,5 ± 0,7 | 4,9 ± 0,8 | 4,2 ± 0,9 | 2,8 ± 0,4 |
| Маннит 3 г/л | 14,0 ± 1,2 | 13,8 ± 1,1 | 13,5 ± 1,2 | 12,6 ± 1,3 | 6,3 ± 0,8 | 6,2 ± 0,7 | 6,0 ± 0,8 | 5,2 ± 0,6 |
| Маннит 5 г/л | 13,9 ± 1,3 | 13,1 ± 1,4 | 12,2 ± 1,5 | 10,2 ± 1,6 | 6,0 ± 0,7 | 5,7 ± 0,8 | 5,1 ± 0,9 | 4,0 ± 0,5 |
| Бақылау | 13,2 ± 1,2 | 13,5 ± 1,1 | 12,8 ± 1,3 | 11,4 ± 1,5 | 6,2 ± 0,8 | 6,1 ± 0,7 | 5,8 ± 0,9 | 4,3 ± 0,6 |

Бақылау нұсқасында өсімдік биіктігінің 13,2-ден 11,4 см дейін азайғаны байқалды, жапырақтар саны 6,2-ден 4,3-ке дейін төмендеді.

Қоректік орта құрамына АБҚ қосқан кезде өсімдіктер өсуінің тежелуі айқын көрінді. Құрамында 2 мг/л АБҚ концентрациясы бар ортада өсімдіктер биіктігі 14,2 см 10,8 см дейін қысқарды, концентрацияны одан әрі арттырған кезде бұл көрсеткіш 8,7 см төмендеді. Сол сияқты, 10 мг/л АБҚ концентрациясы бар қоректік ортада жапырақтың саны 5,5-тен 2,8-ге дейін төмендеді.

АБҚ-мен салыстырғанда 3 г/л концентрациядағы маннит өсімдіктердің өсуін айтарлықтай тежемеді, өсімдіктердің биіктігі мен жапырақ саны салыстырмалы түрде тұрақты сақталып, биіктігі 13,8 см 12,6 см ғана, ал жапырақ саны 6,3-тен 5,2-ге дейін аздап төмендеді. Ал маннит концентрациясын 5 г/л арттырған кезде өсімдіктердің биіктігі 13,9 см 10,2 см дейін, ал жапырақ саны 6,0-ден 4,0-ге дейін төмендеді.

Өсу ингибиторының концентрациясы мен сақтау ұзақтығының өсімдіктердің морфометриялық көрсеткіштеріне әсерін бағалау мақсатында екі факторлы дисперсиялық талдау (ANOVA) жүргізілді. Сонымен қатар, аталған факторлардың өзара әрекеттесуі де зерттелді, әрбір көрсеткіш жеке талданды. Екі факторлы дисперсиялық талдау қоректік ортаның құрамы, депонирлеу мерзімі және олардың өзара әрекеттесуі өркен биіктігіне статистикалық тұрғыдан маңызды әсер ететінін көрсетті (2-кесте). Бұл көрсеткішке сақтау ұзақтығы ең үлкен әсер көрсетті ($F = 436,28$; $p < 0,001$), қоректік орта құрамының да әсері де айтарлықтай дәрежеде сенімді болды ($F = 69,25$; $p < 0,001$). Депонирлеу мерзімінің ұлғаюымен өркендердің биіктігі біртіндеп төмендейтіні анықталды. Ең айқын төмендеу сақтау мерзімінің 9-айында байқалды. Зерттелген орта нұсқаларының ішінде өркендердің ең жоғары биіктігі маннитің 3 г/л концентрациясында тіркелсе, ең төмен көрсеткіштер АБҚ-ның 10 мг/л концентрациясы қолданылған ортада байқалды.

**2-кесте.** Қоректік орта құрамы мен депонирлеудің өркен биіктігіне әсерін бағалауға арналған екі факторлы дисперсиялық талдау (ANOVA) нәтижелері

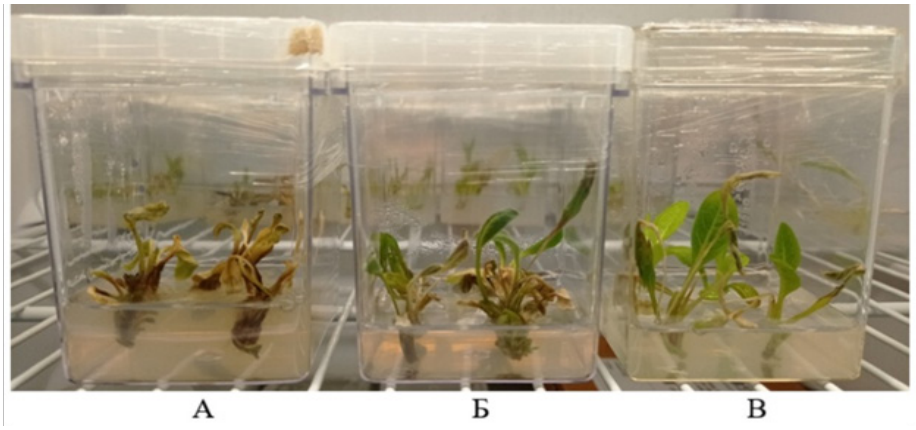
| Вариация көзі | df | Квадраттар қосындысы (SS) | Орташа квадрат (MS) | F | p-мәні |
|---|---|---|---|---|---|
| Ретардант түрі | 5 | 97,7 | 19.53 | 69.25 | <0,001 |
| Депонирлеу мерзімі | 3 | 369,2 | 123.06 | 436.28 | <0,001 |
| Ретардант× депонирлеу мерзімі | 15 | 53,7 | 3.58 | 12.7 | <0,001 |
| Қалдық қате | 216 | 60,9 | 0.28 | – | – |

Жапырақтар санына жүргізіген талдау да ұқсас заңдылықты көрсетті (3-кесте). Қоректік орта құрамы ($F = 107,63$; $p<0,001$), депонирлеу ұзақтығы ($F = 394,83$; $p<0,001$) және олардың өзара әрекеттесуі ($F = 5,25$; $p<0,001$) жапырақтың қалыптасуына сенімді әсер етті. Сақтау мерзімі ұзарған сайын жапырақ саны статистикалық тұрғыдан маңызды түрде азайды. Ең көп жапырақ саны манниттің 3 г/л концентрациясы қосылған ортада өсірілген өсімдіктерде сақталса, ең төмен көрсеткіштер АБҚ-ның 10 мг/л концентрациясы қолданылған нұсқада анықталды.

**3-кесте.** Қоректік орта құрамы мен депонирлеудің жапырақ санына әсерін бағалауға арналған екі факторлы дисперсиялық талдау (ANOVA) нәтижелері

| Вариация көзі | df | Квадраттар қосындысы (SS) | Орташа квадрат (MS) | F | p-мәні |
|---|---|---|---|---|---|
| Ретардант түрі | 5 | 62,99 | 12,6 | 107,625 | <0,001 |
| Депонирлеу мерзімі | 3 | 138,66 | 46,22 | 394,83 | <0,001 |
| Ретардант × депонирлеу мерзімі | 15 | 9,22 | 0,61 | 5,251 | <0,001 |
| Қалдық қате | 216 | 25,28 | 0,12 | | – |

Алтыншы айдан кейін *R. carthamoides* өсімдіктерінде морфологиялық өзгерістер байқалды. Әсіресе, бақылау нұсқасындағы өсімдіктердің өсуі айтарлықтай тежеліп, жапырағы сарғайып, құрай бастады. Құрамына 2 мг/л АБҚ қосылған ортадағы өсімдіктер жапырағының түсі қоңырланып, солуы мен некрозануы анық көрінді. Ал құрамына 3 г/л маннит қосылған қоректік ортада өсімдіктердің тіршілікке қабілеттілігі салыстырмалы түрде жақсы сақталып, некроз белгілері байқалмады, жапырақтарының түсі жасыл болды (1-сурет).

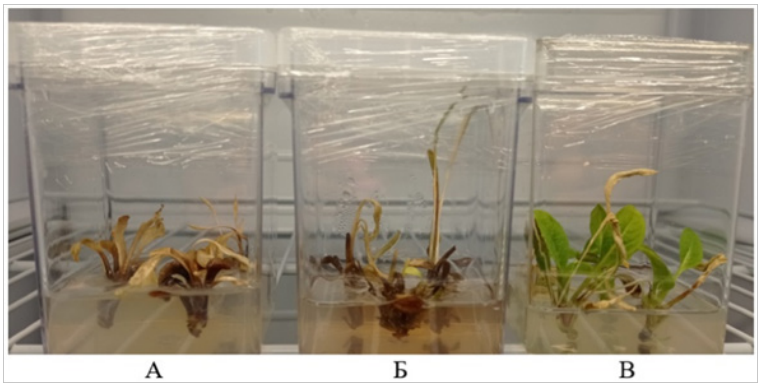



А – ½ МС қоректік ортасы (бақылау нұсқасы), Б – ½ МС +2 мг/л АБҚ, В – ½ МС 3 г/л маннит

**1-сурет.** *R. carthamoides* өсімдіктерін баяу өсу жағдайында 6 ай бойы өсіру

*R. carthamoides* өсімдіктердің баяу өсу жағдайындағы 9 айлық сақтау мерзімі сақтау жағдайларының тиімділігін бағалау үшін маңызды болды. Бақылау нұсқасындағы өсімдіктердің тіршілікке қабілеттілігі толықтай жойылып, жапырағы сарғайып кетті. Қоректік орта құрамына 2 мг/л концентрациясындағы АБҚ қосқан кезде, жеке эксплантардың өсуі тежеліп, тіршілікке қабілетінің ішінара жоғалуы байқалды, бұл орта ресурстарының қарқынды пайдаланылуын

көрсетеді. Ал 3 г/л концентрациядағы маннит қосылған ортада өсімдіктер өсуінің аздап тежелуі және ішінара хлороз белгілері байқалды, жаңа өскіндер пайда болмады (2-сурет).




А - ½ МС қоректік ортасы (бақылау нұсқасы), Б - ½ МС +2 мг/л АБҚ, В - ½ МС +3 г/л маннит

**2-сурет.** *R. carthamoides* өсімдіктерін баяу өсу жағдайында 9 ай бойы өсіру

Орта мерзімді сақтаудан кейінгі тіршілікке қабілеттілік эксплантарды 0,5 мг/л БАП қосылған МС ортасына ауыстыру арқылы бағаланды. Бақылау нұсқасында ұлпалардың физиологиялық жағынан әлсіреуіне байланысты регенеративті потенциал төмен болды. Құрамына 3 г/л маннит қосылған ортада өсірілген эксплантар 10–12 күн ішінде өсуін қалпына келтірді, олардың регенеративті потенциалы жоғары болды. Екі айлық өсіруден кейін жаңа жапырақтардың пайда болуы байқалды (3-сурет). Ал манниттің концентрациясы 5 г/л бар қоректік ортада өскен өсімдіктердің қалпына келуі ұзағырақ болды, 16–18 күн құрады, жаңа жапырақтар пайда болмады.



**3-сурет.** *R. carthamoides өсімдіктерін МС+0,5 мг/л БАП қосылған ортада өсіру*

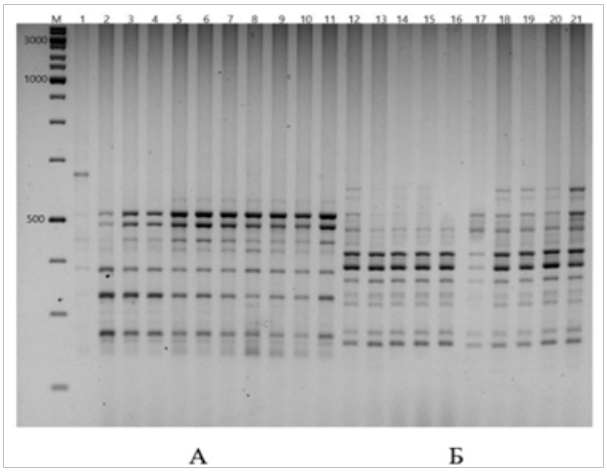
Құрамында 2 мг/л АБҚ бар қоректік ортада өскен эксплантардың қалпына келуі 20 күнге созылып, нәтижесінде бір ғана жаңа жапырақ пайда болды, ал концентрацияны 5–10 мг/л арттырған кезде, өсімдіктердің өсуі тежеліп, жаңа жапырақтардың пайда болуы байқалмады.

Орта мерзімді сақтаудан кейінгі өсімдіктердің генетикалық тұрақтылығын анықтау үшін аналық өсімдіктер мен регенерант өсімдіктердің геномдық ДНҚ-ң iPBS аймақтарының салыстырмалы талдауы жүргізілді. Жалпы 8 праймер қолданылды (4-кесте) [11].

**4-кесте.** *R. carthamoides* өсімдіктерінің генетикалық тұрақтылығын анықтау үшін қолданылған iPBS праймерлері

| Нөмірі | Тізбегі | Температура, °C | CG құрамы, % |
|---|---|---|---|
| 2221 | ACCTAGCTCACGATGCCA | 58,0 | 55,6 |
| 2224 | ATCCTGGCAATGGAACCA | 56,6 | 50,0 |
| 2228 | CATTGGCTCTTGATACCA | 51,9 | 44,4 |
| 2230 | TCTAGGCGTCTGATACCA | 54,0 | 50,0 |
| 2232 | AGAGAGGCTCGGATACCA | 56,6 | 55,6 |
| 2237 | CCCCTACCTGGCGTGCCA | 65,0 | 72,2 |
| 2240 | AACCTGGCTCAGATGCCA | 58,9 | 55,6 |
| 2241 | ACCTAGCTCATCATGCCA | 55,5 | 50,0 |

ПТР амплификациясы нәтижесінде өлшемі 200-ден 500 н.т. дейінгі 15-тен 25-ке дейін амплификацияланған фрагменттер алынды. Матрицаларды талдаған кезде амплификацияланған iPBS-ПТР фрагменттерінің полиморфизмі анықталмады (4-сурет).




М-молекулалық маркер, А – iPBS 2240, Б – iPBS 2224

**4-сурет.** iPBS праймерлерімен ДНҚ амплификациясының нәтижелері

Тоғыз ай сақтаудан кейінгі регенерант-өсімдіктер мен аналық өсімдіктердің генетикалық сәйкестігі iPBS талдауымен расталды. Амплификацияланған фрагменттерде полиморфизмнің болмауы сомаклональды өзгергіштіктің жоқтығын көрсетіп, яғни регенеранттар мен аналық өсімдіктер арасындағы толық генетикалық сәйкестікті дәлелдеді. Ұқсас нәтижелер басқа авторлардың жұмыстарында да көрсетілді, бұл *in vitro* ұзақ мерзімді сақтау жағдайында болған өсімдік-регенеранттардың жоғары генетикалық тұрақтылығын растайды [13, 14].

## Талқылау

*Rhaponticum carthamoides* орта мерзімді сақтау коллекцияларын жасау ауыл шаруашылығы үшін, әсіресе климаттың өзгеруі және биоәртүрліліктің төмендеуі жағдайында өте маңызды. Мұндай коллекциялар өсімдіктің құнды гендік қорын сақтауға және оны болашақта селекцияда, ауыл шаруашылығында және фармацевтикада пайдалануға мүмкіндік береді. Бұл тәсіл әсіресе сирек кездесетін, дәрілік және шаруашылыққа құнды өсімдіктердің генқорын сақтауда үлкен маңызға ие [15, 16, 17]. Ең кең қолданылатын тәсілдердің бірі баяу өсу әдісі (slow-growth storage). Әдетте бұл қоректік ортадағы макро- және микроэлементтердің концентрациясын төмендету немесе осмотикалық агенттерді қосу арқылы жүзеге асырылады.

Осы зерттеуде өсімдіктердің тіршілікке қабілеттілігі қоректік ортаның модификациясына байланысты өзгеріп тұратыны көрсетілді. Зерттеу нәтижесінде алынған мәліметтер басқа авторларың нәтижелеріне сәйкес келеді [18, 19, 20].

Бақылау нұсқасында өсірілген өсімдіктердің тіршілікке қабілеттілігі бастапқыда салыстырмалы түрде тұрақты болғанымен, 6 ай орта мерзімді өсіруден кейін өсімдіктерде некроз және хлороз белгілері көріне бастады. Ал тоғыз айдан кейін жапырақтар сарғайып, құрап кетті.

Қоректік орта құрамына АБҚ қосқан кезде *R.carthamoides* өсімдіктерінің тіршілікке қабілетінің айқын тежелуі байқалды, 2 мг/л концентрациясы бар қоректік ортада өсімдік биіктігі 24% қысқарды, ал жапырақтар саны 32% азайды. АБҚ концентрациясын 10 мг/л жоғарылатқан кезде, бұл көрсеткіштер сәйкесінше 36% және 49% артты. Орта мерзімді сақтаудан кейін өсімдіктердің қалпына келуі баяу болды, 2 мг/л АБҚ концентрациясы қосылған қоректік орталарда ғана өскен өсімдіктерде жаңа жапырақтар пайда болды. Басқа авторлардың еңбектерінде де АБҚ-ның жоғары концентрациясы өсімдіктерде стресс туғызып, эксплантардың тіршілікке қабілеттілігінің төмендеуіне себеп болған [21].

Осмотик ретінде қоректік орта құрамына қосылған маннит *R.carthamoides* өсімдіктерінің сақталуына қанағаттарлықтай әсер етті. Маниттің 3 г/л концентрациясында өсірілген өсімдіктердің тіршілікті сақтау қабілеті жақсы деңгейде болды, ең бастысы 9 ай сақталғаннан кейін қоректік ортаға ауыстырылған кезде қалпына келу жылдамдығы да тез болды. Қоректік орта құрамына манниттің 5 г/л концентрациясын қосқан кезде, олардың қалпына келу процессі ұзаққа созылды, өсімдіктер әлсіз болды. Бұл маниттің қоректің ортаның осмотикалық қысымын арттырып, өсіп келе жатқан өсімдіктердің суға қолжетімділігін шектеуімен байланысты болуы мүмкін [22].

Орта мерзімді бойы баяу өсіру жағдайында өскен өсімдіктердің генетикалық тұрақтылығын сақтауы маңызды болып табылады. Бірқатар зерттеулерде депонирлеу өсімдік-регенеранттардың генетикалық гетерогенділігіне әкелмейтіні туралы атап өтілген [23, 24].

Біз жүргізген iPBS талдауы аналық өсімдіктер мен депонирлеуден кейін алынған өсімдік-регенеранттар арасындағы генетикалық сәйкестікті анықтады, бұл нәтижелер орта мерзімді баяу өсіру әдісі сомаклоналды өгергіштікті тудырмайтынын растады.

Қазіргі уақытта орта мерзімді өсу жағдайындағы *R. carthamoides in vitro* коллекциясы 40 үлгіден тұрады. Осы жұмыстың нәтижесінде үздіксіз өсіру кезеңін 9 айға дейін ұзарту мүмкін болды, ол үшін ең қолайлысы 3 г/л маннит қосылған ½ MS қоректік ортасы екені анықталды.

## Қорытынды

Қорыта айтқанда, *R. carthamoides* өсімдіктерін орта мерзімді баяу өсіру жағдайында сақтау үшін ең қолайлы қоректік орта құрамына 3 г/л қосылған маннит ½ МС ортасы екені анықталды. Бұл қоректік ортада өсімдіктер өсуін тоқтатып, 9 ай бойы тіршілік ету қабілетін сақтап қалды. Құрамына 0,5 мг/л БАП қосылған ортаға ауыстырғаннан кейін өсімдіктерде жаңадан жасыл түсті жапырақтар түзіле бастады. Сонымен қатар, жүргізілген iPBS талдауы аналық өсімдіктер мен ұзақ мерзімді баяу өсіру жағдайынан кейін алынған өсімдік-регенеранттар арасындағы генетикалық сәйкестікті анықтады.

*R. carthamoides* орта мерзімді сақтау коллекциясын жасау құнды дәрілік және жемдік өсімдіктердің генетикалық ресурстарын сақтаудың маңызды бағыты болып табылады. Мұндай коллекциялар селекциялық және биотехнологиялық материалдың тұрақты көзін қамтамасыз етеді, ауыл шаруашылығын дамытуға және биоәртүрлілікті сақтауға ықпал етеді.

## Авторлардың қосқан үлесі

ДТ, ОР: зерттеу жұмыстарын жүргізіп, рәсімдеді, әдебиетті жан-жақты зерттеп, жинақталған деректерді талдады және қолжазбаны дайындады. СД, ОХ: қолжазбаның соңғы редакциясын жасап, тексерді. Барлық авторлар қолжазбаның соңғы редакциясын оқып, қарап шығып, мақұлдады.

## Қаржыландыру туралы ақпарат

Жұмыс 2025–2027 жылдарға арналған ҚР ҒЖБМ Ғылым комитеті бағдарламалық-мақсатты қаржыландыруы аясында BR28713087 «Дәрілік өсімдіктердің биологиялық белсенді заттарын *in vitro* жағдайында алудың және осы заттардың мақсатты түзілуінің іргелі және қолданбалы аспектілер» ғылыми-техникалық бағдарламасы бойынша жүргізілді.

## Әдебиеттер тізімі

1 Benelli, C., Tarraf, W., Izgu, T., De Carlo, A. (2022). In vitro conservation through slow growth storage technique of fruit species: An overview of the last 10 years. *Plants*, 11(23), 3188. DOI:10.3390/plants11233188.

2 Molkanova, O.I., Gorbunov, Y.N., Shirnina, I.V., Egorova, D.A. (2020). Primenenie biotehnologicheskih metodov dlja sohraneniya genofonda redkih vidov rastenii [Application of biotechnological methods for the conservation of the gene pool of rare plant species]. *Botanicheskii zhurnal*, 105(6), 610–619. DOI:10.31857/S00068136200300723. [*In Russian*].

3 Radomir, A., Stan, R., Florea, A., et al. (2023). Overview of the success of in vitro culture for ex situ conservation and sustainable utilization of endemic and subendemic native plants of Romania. *Sustainability*, 15, 2581. DOI:10.3390/su15032581.

4 Kumar, S., Shah, S., Vimala, Y. et al. (2022). Abscisic acid: Metabolism, transport, crosstalk with other plant growth regulators, and its role in heavy metal stress mitigation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 972856. DOI:10.3389/fpls.2022.972856.

5 Orlova, N. (2022). Osobennosti deponirovanija nekotoryh sortov Lonicera caerulea L. v kul'ture *in vitro* [Features of depositing some Lonicera caerulea L. cultivars in *in vitro* culture]. *AgroJekoInfo,* 2, 11–15. [*In Russian*].

6 Raiser, O., Tagimanova, D., Turzhanova, A. et al. (2025). Propagation and long-term storage of Rhaponticum carthamoides under in vitro conditions. *Horticulturae,* 11, 952. DOI:10.3390/horticulturae11080952.

7 Tarraf, W., De Carlo, A. (2024). *In vitro* biotechnology for conservation and sustainable use of plant genetic resources. *Plants*, 13, 1897. DOI:10.3390/plants13141897.

8 Singh, R.K., Chokheli, V.A. (2025). Plant biotechnology: Applications in in vitro plant conservation and micropropagation. *Horticulturae*, 11, 358. DOI:10.3390/horticulturae11040358.

9 Wang, Q.Y., Yang, L., Ge, N., et al. (2023). Exogenous abscisic acid prolongs the dormancy of recalcitrant seed of Panax notoginseng. F*rontiers in Plant Science,* 14, 1054736. DOI:10.3389/fpls.2023.1054736.

10 Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13–15.

11 Kalendar, R., Muterko, A., Boronnikova, S. (2021). *Retrotransposable elements: DNA fingerprinting and the assessment of genetic diversity. In P. Besse (Ed.)*, Molecular plant taxonomy (Vol. 2222). Humana Press.

12 R Core Team (2025). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/

13 Tang, H., Wang, X., Xie, Y., et al. (2026). Efficient in vitro regeneration and genetic fidelity assessment using ISSR of Ficus carica 'Xinjiang Zaohuang'. *Horticulturae*, 12, 70. DOI:10.3390/horticulturae12010070.

14 Parab, A.R., Lynn, C.B., Subramaniam, S. (2021). Assessment of genetic stability on in vitro and ex vitro plants of Ficus carica var. Black Jack using ISSR and DAMD markers. *Molecular Biology Reports,* 48(11), 7223–7231. DOI:10.1007/s11033-021-06714-1.

15 Cordeiro, S. (2014). In vitro conservation of Mandevilla moricandiana (Apocynaceae): Short-term storage and encapsulation–dehydration of nodal segments. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 50, 326–336. DOI:10.1007/s11627-014-9600-x.

16 Nazari, M., Kordrostami, M., Ghasemi-Soloklui, A.A. (2023). *Conservation of medicinal plants by tissue culture techniques.* In book: Medicinal plants: Biodiversity, biotechnology and conservation. Springer, 1–20. DOI:10.1007/978-981-19-9936-9_27.

17 Fang, L., Li, J., Zhou, J. et al. (2017). Isolation and purification of three ecdysteroids from the stems of Diploclisia glaucescens by high-speed countercurrent chromatography and their anti-inflammatory activities in vitro. *Molecules*, 22(8), 1310. DOI:10.3390/molecules22081310.

18 Arora, K., Rai, M.K., Sharma, A.K. (2022). Tissue culture mediated biotechnological interventions in medicinal trees: Recent progress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 150, 267–287. DOI:10.1007/s11240-022-02298-1.

19 Benelli, C. et al. (2024). Long-term conservation for the safeguard of Abies nebrodensis: An endemic and endangered species of Sicily. *Plants*, 13(12), 1682. DOI:10.3390/plants13121682.

20 Sano, N., Marion-Poll, A. (2021). ABA metabolism and homeostasis in seed dormancy and germination. *Int J Mol Sci*., 22(10), 5069. DOI:10.3390/ijms22105069.

21 Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R.K., Kumar, V., Verma, R., Upadhyay, R.G., Pandey, M., Sharma, S. (2017). Abscisic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: A review on current knowledge and future prospects. *Frontiers in Plant Science*, 8, 161. DOI:10.3389/fpls.2017.00161.

22 Engelmann F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cell Dev Biol.-Plant,* 47, 5–16. DOI:10.1007/s11627-010-9328-6.

23 Antonova, O.Ju. i dr. (2004). Analiz geneticheskoi stabil'nosti obrazcov kartofelya, sohranyaemyh v usloviyah *in vitro* [Analysis of the genetic stability of potato samples preserved in vitro]. *Agrarnaya Rossiya*, 6, 25-29. [*In Russian*].

24 Varshney, A., Lakshmikumaran, M., Srivastava, P.S., Dhawan, V. (2001). Establishment of genetic fidelity of in vitro-raised Lilium bulb lets through RAPD markers. *In Vitro Cell Dev Biol.-Plant,* 37, 227–231. DOI:10.1007/s11627-001-0040-z.

## Сохранение *in vitro* ценного лекарственного и кормового растения *Rhaponticum carthamoides* в условиях медленного роста

**Тагиманова Д.С.[1,2], Райзер О.Б.[1], Джатаев С.А.[2], Хапилина О.Н.[1]**

[1]НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина» Астана, Казахстан
[2]ТОО «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан

**Аннотация**

Предпосылки и цель. Сохранение редких и хозяйственно ценных растений, включая *Rhaponticum carthamoides,* требует разработки эффективных методов депонирования in vitro. Цель данной работы - оптимизация условий среднесрочного хранения асептических культур маральего корня с использованием биотехнологических подходов.

Материалы и методы. Адвентивные микрорастения культивировали на среде ½ МС, дополненной абсцизовой кислотой (2–10 мг/л) или маннитом (3–5 г/л). Культуры хранили без пересадки в течение 3–9 месяцев при температуре 4 ± 1 °С. После хранения оценивали морфометрические показатели и жизнеспособность. Для оценки генетической стабильности между материнскими и регенерированными растениями использовали анализ iPBS. В исследовании применяли восемь праймеров.

Результаты. Снижение температуры без изменения состава питательной среды не обеспечивало длительного сохранения. Абсцизовая кислота ингибировала рост, причём эффект усиливался с увеличением концентрации. При высоких концентрациях она замедляла процессы восстановления растений. Наиболее эффективным оказался маннит в концентрации 3 г/л, который обеспечивал замедление роста при сохранении высокой регенерационной способности до 9 месяцев. На основании анализа фрагментов iPBS-ПЦР была подтверждена генетическая идентичность материнских растений и регенерантов после 9 месяцев хранения.

Заключение. Оптимальным режимом среднесрочного хранения является культивирование при 4 °С на среде ½ МС с добавлением 3 г/л маннита, что позволяет сохранять жизнеспособность и морфогенетический потенциал растений *in vitro*.

**Ключевые слова:** *Rhaponticum carthamoides; in vitro;* ингибиторы роста; среднесрочное хранение; осмотический стресс.

# *In vitro* preservation of the valuable medicinal and forage plant *Rhaponticum carthamoides* under slow-growth conditions

**Damely S. Tagimanova[1,2], Olesya B. Raizer[1], Satyvaldy A. Jatayev[2], Oxsana N. Khapilina[1]**

[1]LLP "National Center for Biotechnology", Astana, Kazakhstan
[2]NJSC "S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University", Astana, Kazakhstan

**Abstract**

Background and Aim. The conservation of rare and economically valuable plants, including *Rhaponticum carthamoides*, requires the development of effective *in vitro* storage methods. The aim of this work is to optimize medium-term storage conditions for maral root cultures using biotechnological approaches.

Materials and Methods**.** Adventitious microshoots were cultured on ½ MS medium supplemented with abscisic acid (2–10 mg/L) or mannitol (3–5 g/L). The cultures were stored without subculturing for 3–9 months at a temperature of 4 ± 1 °C. After storage, morphometric characteristics and viability were assessed. iPBS analysis was used to evaluate genetic fidelity between the mother plants and regenerated plants. Eight primers were used in the study.

Results. Reducing the temperature without modifying the nutrient medium did not ensure long-term preservation. Abscisic acid inhibited growth, and this effect became more pronounced with increasing concentrations. At higher concentrations, it also delayed plant recovery processes. The most effective treatment was 3 g/L mannitol, which induced growth retardation while maintaining high regenerative capacity for up to 9 months. Based on iPBS-PCR fragment analysis, genetic fidelity between mother plants and regenerants was confirmed after 9 months of storage.

Conclusion. The optimal medium-term storage regime is cultivation at 4 °C on ½ MS medium supplemented with 3 g/L mannitol, which allows preservation of the viability and morphogenetic potential of *in vitro* plants.

**Keywords:** *Rhaponticum carthamoides; in vitro*; growth inhibitors; medium-term storage; osmotic stress.