

**ISSN 2518-1467 (Online),  
ISSN 1991-3494 (Print)**

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  
ҰЛТТЫҚ ФЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

# Х А Б А Р Ш Ы С Ы

---

---

---

**ВЕСТНИК**

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

**THE BULLETIN**

THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

PUBLISHED SINCE 1944

1

JANUARY – FEBRUARY 2020

---

---

ALMATY, NAS RK

---

---

*NAS RK is pleased to announce that Bulletin of NAS RK scientific journal has been accepted for indexing in the Emerging Sources Citation Index, a new edition of Web of Science. Content in this index is under consideration by Clarivate Analytics to be accepted in the Science Citation Index Expanded, the Social Sciences Citation Index, and the Arts & Humanities Citation Index. The quality and depth of content Web of Science offers to researchers, authors, publishers, and institutions sets it apart from other research databases. The inclusion of Bulletin of NAS RK in the Emerging Sources Citation Index demonstrates our dedication to providing the most relevant and influential multidiscipline content to our community.*

Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясы "ҚР ҰҒА Хабаршысы" ғылыми журналының Web of Science-тің жаңаланған нұсқасы Emerging Sources Citation Index-те индекстелуге қабылданғанын хабарлайды. Бұл индекстелу барысында Clarivate Analytics компаниясы журналды одан әрі the Science Citation Index Expanded, the Social Sciences Citation Index және the Arts & Humanities Citation Index-ке қабылдау мәселесін қарастыруды. Web of Science зерттеушілер, ақторлар, баспашилар мен мекемелерге контент тереңдігі мен сапасын ұсынады. ҚР ҰҒА Хабаршысының Emerging Sources Citation Index-ке енүі біздің қоғамдастық үшін ең өзекті және беделді мультидисциплинарлы контентке адалдығымызды білдіреді.

НАН РК сообщает, что научный журнал «Вестник НАН РК» был принят для индексирования в Emerging Sources CitationIndex, обновленной версии Web of Science. Содержание в этом индексировании находится в стадии рассмотрения компанией Clarivate Analytics для дальнейшего принятия журнала в the Science Citation Index Expanded, the Social Sciences Citation Index и the Arts & Humanities Citation Index. Web of Science предлагает качество и глубину контента для исследователей, авторов, издателей и учреждений. Включение Вестника НАН РК в Emerging Sources Citation Index демонстрирует нашу приверженность к наиболее актуальному и влиятельному мультидисциплинарному контенту для нашего сообщества.

---

**Б а с р е д а к т о р ы**

х.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі  
**М.Ж. Жұрынов**

**Р е д а к ц и я алқасы:**

**Абиев Р.Ш.** проф. (Ресей)  
**Абишев М.Е.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Аврамов К.В.** проф. (Украина)  
**Аппель Юрген** проф. (Германия)  
**Баймуқанов Д.А.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Байтулин И.О.** проф., академик (Қазақстан)  
**Банас Йозеф** проф. (Польша)  
**Берсимбаев Р.И.** проф., академик (Қазақстан)  
**Велесько С.** проф. (Германия)  
**Велихов Е.П.** проф., РҒА академигі (Ресей)  
**Гашимзаде Ф.** проф., академик (Әзірбайжан)  
**Гончарук В.В.** проф., академик (Украина)  
**Давлетов А.Е.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Джрабашян Р.Т.** проф., академик (Армения)  
**Қалимолдаев М.Н.** проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары  
**Лаверов Н.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Лупашку Ф.** проф., корр.-мүшесі (Молдова)  
**Мохд Хасан Селамат** проф. (Малайзия)  
**Мырхалықов Ж.У.** проф., академик (Қазақстан)  
**Новак Изабелла** проф. (Польша)  
**Огарь Н.П.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Полещук О.Х.** проф. (Ресей)  
**Поняев А.И.** проф. (Ресей)  
**Сагиян А.С.** проф., академик (Армения)  
**Сатубалдин С.С.** проф., академик (Қазақстан)  
**Таткеева Г.Г.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Үмбетаев И.** проф., академик (Қазақстан)  
**Хрипунов Г.С.** проф. (Украина)  
**Юлдашбаев Ю.А.** проф., РҒА академигі (Ресей)  
**Якубова М.М.** проф., академик (Тәжікстан)

**«Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясының Хабаршысы».**

**ISSN 2518-1467 (Online),  
ISSN 1991-3494 (Print)**

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РКБ (Алматы қ.).

Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде 01.06.2006 ж. берілген №5551-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Мерзімділігі: жылдан 6 рет.

Тиражы: 2000 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28, 219 бөл., 220, тел.: 272-13-19, 272-13-18,  
<http://www.bulletin-science.kz/index.php/en/>

---

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2020

Типографияның мекенжайы: «NurNaz GRACE», Алматы қ., Рысқұлов көш., 103.

Г л а в н ы й р е д а к т о р

д.х.н., проф. академик НАН РК

**М.Ж. Журинов**

Р е д а к ц и о н на я кол л е г и я:

**Абиев Р.Ш.** проф. (Россия)  
**Абишев М.Е.** проф., член-корр. (Казахстан)  
**Аврамов К.В.** проф. (Украина)  
**Аппель Юрген** проф. (Германия)  
**Баймukanов Д.А.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Байтулин И.О.** проф., академик (Казахстан)  
**Банас Иозеф** проф.(Польша)  
**Берсимбаев Р.И.**проф., академик (Казахстан)  
**Велесько С.** проф. (Германия)  
**Велихов Е.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Гашимзаде Ф.** проф., академик (Азербайджан)  
**Гончарук В.В.** проф., академик (Украина)  
**Давлетов А.Е.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Джрабашян Р.Т.** проф., академик (Армения)  
**Калимолдаев М.Н.** академик (Казахстан), зам. гл. ред.  
**Лаверов Н.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Лупашку Ф.** проф., чл.-корр. (Молдова)  
**Мохд Хасан Селамат** проф. (Малайзия)  
**Мырхалыков Ж.У.** проф., академик (Казахстан)  
**Новак Изабелла** проф. (Польша)  
**Огарь Н.П.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Полещук О.Х.** проф. (Россия)  
**ПоняевА.И.** проф. (Россия)  
**Сагиян А.С.** проф., академик (Армения)  
**Сатубалдин С.С.** проф., академик (Казахстан)  
**Таткеева Г.Г.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Умбетаев И.** проф., академик (Казахстан)  
**Хрипунов Г.С.** проф. (Украина)  
**Юлдашбаев Ю.А.** проф., академик РАН (Россия)  
**Якубова М.М.** проф., академик (Таджикистан)

«Вестник Национальной академии наук Республики Казахстан».

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы).

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5551-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год.

Тираж: 2000 экземпляров.

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18.  
www: nauka-nanrk.kz, bulletin-science.kz

---

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2020

Адрес типографии: «NurNazGRACE», г. Алматы, ул. Рыскулова, 103.

---

**E d i t o r i n c h i e f**

doctor of chemistry, professor, academician of NAS RK  
**M.Zh. Zhurinov**

**E d i t o r i a l b o a r d:**

**Abiyev R.Sh.** prof. (Russia)  
**Abishev M.Ye.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Avramov K.V.** prof. (Ukraine)  
**Appel Jurgen,** prof. (Germany)  
**Baimukanov D.A.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Baitullin I.O.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Joseph Banas,** prof. (Poland)  
**Bersimbayev R.I.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Velesco S.,** prof. (Germany)  
**Velikhov Ye.P.** prof., academician of RAS (Russia)  
**Gashimzade F.** prof., academician (Azerbaijan)  
**Goncharuk V.V.** prof., academician (Ukraine)  
**Davletov A.Ye.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Dzhrbashian R.T.** prof., academician (Armenia)  
**Kalimoldayev M.N.** prof., academician (Kazakhstan), deputy editor in chief  
**Laverov N.P.** prof., academician of RAS (Russia)  
**Lupashku F.** prof., corr. member. (Moldova)  
**Mohd Hassan Selamat,** prof. (Malaysia)  
**Myrkhalykov Zh.U.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Nowak Isabella,** prof. (Poland)  
**Ogar N.P.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Poleshchuk O.Kh.** prof. (Russia)  
**Ponyaev A.I.** prof. (Russia)  
**Sagyan A.S.** prof., academician (Armenia)  
**Satubaldin S.S.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Tatkeyeva G.G.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Umbetayev I.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Khripunov G.S.** prof. (Ukraine)  
**Yuldasbayev Y.A.,** prof., academician of RAS (Russia)  
**Yakubova M.M.** prof., academician (Tadzhikistan)

**Bulletin of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.**

**ISSN 2518-1467 (Online),**  
**ISSN 1991-3494 (Print)**

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty).

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of Information and Archives of the Ministry of Culture and Information of the Republic of Kazakhstan N 5551-Ж, issued 01.06.2006.

Periodicity: 6 times a year.

Circulation: 2000 copies.

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,  
<http://nauka-nanrk.kz/>, <http://bulletin-science.kz>

---

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2020

Address of printing house: «NurNaz GRACE», 103, Ryskulov str, Almaty.

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

ISSN 1991-3494

Volume 1, Number 383 (2020), 105 – 112

<https://doi.org/10.32014/2020.2518-1467.13>

UDC: 634.511

**T. K. Yegizbayeva<sup>1</sup>, T. V. Yausheva<sup>1</sup>, S. N. Oleichenko<sup>1</sup>, R. J. Licea-Moreno<sup>2</sup>**<sup>1</sup>RSE Issyk State Dendrological Park, Almaty region, Kazakhstan;<sup>2</sup>Bosques Naturales S. A., Madrid, Spain.

E-mail: togjan26@yandex.ru, yausheva\_tatyana@mail.ru, oleichenko@mail.ru, rjliceam@yahoo.es

**INFLUENCE OF NUTRITION COMPOSITIONS  
ON MICROCLONAL PROPAGATION DIFFERENT GENOTYPES  
OF THE WALNUT *JUGLANS REGIA L.***

**Abstract.** Walnut is one of the most common nuts in many countries of the world. It is used in cooking and in traditional medicine. Walnut cultivation on an industrial scale in Kazakhstan began only in 2016-2017, so Kazakhstan scientists in this field do not yet have any scientific experience.

The article presents the results of studies on the influence of the nutrient medium compositions Murashige-Skoog and Driver-Kunzhuki on the microclonal propagation of different genotypes of the walnut *Juglans regia L.* Two varieties were selected as mother plants: the Uzbek variety Ideal and the Chinese variety Liaohe-1, adapted in the southeast Kazakhstan. In the course of work, we compared the growth rate of walnut shoots of two varieties on nutrient media Murasige-Skoog (MS) and Driver-Kunzhuki (DKW) with a concentration of 6-benzylaminopurine (BAP) of 1 and 1.5 mg / l. After a month of cultivation of shoots, positive growth dynamics was observed only on MS medium. On plants of both varieties, the growth rate was slow on DKW medium, the plants had yellow leaves, some shoots blackened and perished. To obtain high-quality material, as well as to increase the growth rate of shoots, DKW medium was supplemented with FeEDDHA (119 mg / L) and phloroglucinol (50 mg / L).

As a result of phenological observations: the height of the main shoot, the number of internodes, the formation of additional shoots, and the state of the plants, it was found that the best nutrient medium for microclonal propagation of walnut Ideal and Liaohe-1 is a modified DKW medium. MS can only be used at the initial stage - an introduction to in vitro culture.

**Key words:** microclonal propagation, culture medium, MS, DKW, BAP, IMC, explants, microplants, FeEDDHA, phloroglucinol.

**Introduction.** Walnut *Juglans regia L.* is one of the most common nuts in many countries of the world. It has been known since ancient times for its nutritional and medicinal qualities. It contains a large amount of fats, proteins, minerals, vitamins A, C and group B.

Kazakhstan is located on the northernmost line of the nut growing range; therefore, walnut cultivation on an industrial scale is possible only in the South Kazakhstan, Zhambyl, Almaty and Kyzylorda regions. Walnut flowering in the Almaty region occurs during the period of return frosts in late spring. However, in Saryagash and Kazygurt districts, return frosts occur only one year out of ten, and in Panfilov and Uygur districts of the same Almaty region – two per decade. Therefore, here you can grow both European and Turkish, Chinese varieties of nuts [1]. Walnuts can be grown with seeds, as well as grafting. But these breeding methods cannot guarantee a uniform quality planting material [2]. Industrial cultivation of nuts in Kazakhstan began only in 2016-2017, therefore, Kazakhstan scientists in this field do not yet have any scientific developments. In the USA, China, Iran and some European countries, research has been ongoing for several decades on the microclonal propagation of walnut crops, in particular walnuts, and are successfully being introduced into the production of planting material [3].

This method of plant propagation is to obtain several thousand genetically identical plant microclones per year from one vegetative bud. Walnut in an in vitro tissue culture is a labor-intensive culture. One of the unresolved problems in walnut cultivations includes methods of accelerated reproduction. Microclonal

propagation of walnut is one such method. The results of research by a number of scientists [4–9] demonstrated the feasibility of using tissue culture for Paradox mass reproduction (*J. hindsii* x *J. regia*) and to apply this process on a larger scale to ensure commercial demand for walnut seedlings. They obtained good results on the microclonal propagation of walnuts using DKW growth medium with 1.0 mg / L benzyladenine (BA) and 0.001 mg / L Indolylbutyric acid (IBA).

Intensive walnut shoot proliferation rate was obtained using a modified MS nutrient medium with 1 mg / L BAP and 0.03 mg / L IBA [5–6]. Marques Silva et al. [7] obtained good results in accelerated shoot propagation using DKWC growth medium and 1 mg / L BAP. Navatel and Bourrain [8] used DKW medium with BA (0.2 mg / L) and IBA (0.05 mg / L) to obtain starting material for in vitro and further propagation. They increased the concentration of BAP to 1 mg / L and reduced the concentration of IBA to 0.01 mg / L.

Vahdati K. and others studied dwarf, early walnut genotypes, and DKW medium with 4.4  $\mu$ M BAP and 0.05  $\mu$ M IBA was used for microclonal propagation of shoots. In addition, they obtained good results in adaptation of walnut shoots in vitro. [9].

According to literature data, scientists K.Kepenek and Z. Kolagasi [10] from Turkey, Rodica Gotea [11] from Romania, as well as Ricardo J. Licea-Moreno [12] from Spain use two nutrient media for microclonal propagation of walnuts - Murashige-Skoog medium (Murashige and Skoog medium) [13] and Driver-Kunijuki Walnut medium [4] some scientists have used the WPM nutrient medium [14].

In particular, different varieties and forms of walnut behave differently on the same nutrient media. Therefore, for the industrial production of walnuts, optimization of nutrient media at all stages of micro-clonal propagation is required.

**Materials and methods.** Two varieties were selected as uterine plants: the Uzbek variety Ideal and the Chinese variety Liaohe-1. The Ideal variety has already established itself in Kazakhstan with high productivity, early maturity, stunting and increased frost resistance. The tree gives a good harvest: 120 kg (from a 12 year old plant). The average mass of the cores is 10 grams. Variety Liaohe-1 is just beginning to spread in Kazakhstan and has already shown itself as a promising variety for further propagation. This is a low-growing variety that does not need large areas. The fruits of the Liaohe-1 variety with an average weight of 20 g have a kernel yield of at least 50%, which is a high indicator.

The source material was taken from trees growing in open ground, visually free from disease, without frost damage, adapted in the conditions of southeast Kazakhstan (figure 1).



Figure 1 – Uterine Walnut Plant

The overgrown annual shoots were washed with soap in running water. Next, shoots were cut into segments 1.5 - 2 cm in size with 1 kidney. In a flask with a triclosan solution, the segments were incubated on a shaker-incubator at 200 rpm for 1 hour. Then it was washed under running water. Explants were sterilized under sterile conditions of a laminar box. Consistently: 30 seconds in 90% ethanol, 1.5-2 minutes in a 0.1% solution of a sterilizing agent, 10 minutes in 150 ml of sterile water with 2 drops of Tween-80, 2 times for 10 minutes in sterile water. At the end of sterilization, the explants were kept in a 0.3% solution of the ceftriaxone antibiotic before landing on culture media. As nutrient media, MS and DKW media with a concentration of BAP cytokinin in variations of 1 and 1.5 mg / L and auxin IMC at a concentration of 0.01 mg / L were selected (table 1). Before adding agar, the pH of the medium was adjusted to a value of 5.6. All media were autoclaved at 12 ° C for 20 minutes. Explants were cultivated in a light room under fluorescent lamps with a 16-hour lighting period at an air temperature of 24 - 25°C for one month.

Table 1 – The composition of nutrient media used for the propagation of walnuts

Components environment	The concentration in the medium, mg / l	
	Murasige and Skoog	DKW
NH4NO <sub>3</sub>	1650	1416
KNO <sub>3</sub>	1900	–
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	–	1968
CaCl <sub>2</sub> * 2H <sub>2</sub> O	440	149
MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	370	740
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	265
Na <sub>2</sub> EDTA * 2H <sub>2</sub> O	37,8	45,4
FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	27,8	33,8
MnSO <sub>4</sub> * H <sub>2</sub> O	22,3	33,5
ZnSO <sub>4</sub> * 6 H <sub>2</sub> O	8,6	17
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	4,8
CuSO <sub>4</sub> * 5 H <sub>2</sub> O	0,025	0,25
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	0,25	0,39
CoCl <sub>2</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	0,025	–
KI	0,83	–
NiSO <sub>4</sub> * 6 H <sub>2</sub> O	–	0,005
Мезо-инозит	100,0	100,0
Никотиновая кислота (РР)	0,5	1,0
Тиамин-HCl (В1)	0,1	2,0
Пиридоксин-HCl	0,5	–
Глицин	2,0	2,0
Сахароза	30000	30000
Агар-агар	8000	9000
pH = 5,6		

**Results and discussion.** The introduction of walnut explants into the culture in vitro and the production of plant material is considered the main stage for the successful cultivation of walnuts. In this regard, the main goal of our study is to obtain a sterile source of plant material and their further microclonal propagation.

At the first stage of the study, pure microshoots from walnut buds were obtained. To do this, kidneys from two varieties of walnuts were planted on a nutrient medium DKW and Murashige-Skoog with the addition of 1.0 mg / l BAP and 0.01 mg / l IMC. On two nutrient media, the growth rate of the meristem was the same; for 4–6 weeks of active growth, the shoots were 1–2 cm in size (figure 2). To increase shoot growth, the concentration of BAP was increased by 1.5 mg / L. Then the plants were transplanted onto fresh nutrient media for propagation. Each passage lasted one month.



Figure 2 – Microplants of walnut after 4 weeks of cultivation from the date of introduction into culture in vitro

Observations of propagated material on nutrient media MS and DKW with BAP at a concentration of 1.5 mg / L showed a significant difference in the quality of the obtained microplants. On the DKW medium, after 4–6 weeks of cultivation, the walnut micro-plants of both varieties had a pale leaf color, which indicates a lack of iron — chlorosis. The increased concentration of BAP 1.5 mg / l also negatively affected the quality of the material: vitrification of plants, slow growth, blackening of leaves and growth points. No additional shoots were formed on all nutrient media. In the Lyaohe-1 variety on the Murashige-Skoog medium, the growth rate was much higher than in the Ideal variety.

According to the literature of the Spanish scientist Ricardo Julian Licea Moreno [12], in vitro iron deficiency in walnut plants can be compensated for with a more active form of iron chelate FeEDDHA, the growth of additional shoots can be achieved with the addition of phloroglucinol in the DKW nutrient medium.

Thus, FeEDDHA at a concentration of 119 mg / L and phloroglucinol at a concentration of 50 mg / L were added to optimize DKW growth media (table 2). Already in the first weeks of cultivation of microplants, improvements in the condition of plants were noticeable: the leaves were saturated in green, the size of the internodes doubled and, accordingly, the height of the main shoot, additional shoots appeared (figure 3)



Figure 3 – Walnut microplants a) Liaohe-1 cultivar and b) Ideal cultivar on modified DKW medium

Table 2 – Dynamics of microclonal propagation of walnut varieties Ideal and Liaohe-1 depending on the composition of nutrient media

Culture medium	Conc. BAP, mg /1	The initial number of plants, pcs.	Number of plants		The height of the main shoot, cm	Amount additional. shoots, pcs.	Callus size, cm
			Passage I	Passage II			
Variety Ideal							
MS	1	20	24	29	1,5–2	–	1–1,5
	1,5	31	30	35	1,5–2	–	1–1,5
DKW	1	20	22	28	1,5–2	–	1–1,5
	1,5	23	20	24	1,5–2	–	1–1,5
DKW +FeEDDHA + phloroglucinol	1	25	38	55	3	2	1,5–2
	1,5	21	33	63	4–5	3	1,5–2
Variety Liaohe-1							
MS	1	21	34	51	2–3	–	1–1,5
	1,5	17	22	48	3–4	–	1,5–2
DKW	1	12	20	26	1,5–2	–	1–1,5
	1,5	15	19	23	2–3	–	1–1,5
DKW +FeEDDHA + phloroglucinol	1	22	30	43	3–4	2	1,5–2
	1,5	18	32	69	4–5	4	1,5–2

As can be seen from the table, according to the dynamics of growth and development of walnut, high results were obtained on a nutrient medium DKW + FeEDDHA + phloroglucinol. In the Ideal cultivar, the number of plants was 63, Liaohe-1 was 69, in both varieties the height of the main shoot was 5.0 cm and the number of additional shoots was Ideal-3, Liaohe – 4.

**Conclusion.** The data obtained as a result of research shows that the use of Murashige-Skoog nutrient medium with BAP cytokinin (1 mg / L) and IMA auxin (0.01 mg / L) is possible only for introduction into in vitro culture. DKW medium supplemented with FeEDDHA and phloroglucinol at a concentration of 119 and 50 mg / L, respectively, BAP (1.0 mg / L), IMA (0.01 mg / L), can be used in microclonal propagation of walnut varieties Ideal and Liaohe-1. The modified DKW medium leads to a significant increase in in vitro material not only due to an increase in the size of the main shoot, but also due to the formation of additional shoots.

**Funding.** This work was supported by grant funding for projects of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan on the topic: “Accelerated methods of creating a collection of highly adaptive varieties and forms of walnut (*Juglans regia L.*) in Kazakhstan.”

**Т. Қ. Егізбаева<sup>1</sup>, Т. В. Яушева<sup>1</sup>, С. Н. Олейченко<sup>1</sup>, R. J. Licea-Moreno<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>PMҚҚ «Есік мемлекеттік дендрологиялық саябагы», Алматы облысы, Қазақстан;

<sup>2</sup>Bosques Naturales S. A., Madrid, Spain

**ГРЕК ЖАҢҒАЫНЫң *JUGLANS REGIA L.*  
ӘРТҮРЛІ ГЕНОТИПТЕРИН МИКРОКЛООНДЫҚ ҚӨБЕЙТУГЕ  
ҚОРЕКТИК ОРТА ҚҰРАМЫНЫң ӘСЕРІ**

**Аннотация.** Грек жаңғағы – әлемнің көптеген елдерінде ең көп таралған жаңғақтың түрі. Ол тағам ретінде және халық медицинасында кеңінен қолданылады. Қазақстан жаңғақтың өсу ареалының ең солтүстік аумағында орналасқан, сондықтан өнеркәсіптік масштабта жаңғақ өсіру тек Оңтүстік Қазақстан, Жамбыл, Алматы және Қызылорда облыстарында мүмкін. Алматы облысында грек жаңғағының гүлденүі көктемнің аязды кезеңінде болады. Алайда, Сарыагаш және Қазығұрт аудандарында қайтып келетін аяз оннан бір жылдың ішінде, ал сол Алматы облысының Панфилов және Үйғыр аудандарында - он жылда екі рет болуы

мүмкін. Сондықтан, мұнда жаңғақтардың европалық және түрік, қытай сорттарын өсіруге болады. Қазақстанда грек жаңғағының өнеркәсіптік ауқымда өсіру тек 2016-2017 жалдардан бастап қолға алынды, сондықтан елімізде грек жаңғағының биотехнологиялық жолмен өсіру туралығының өзірлемелер жоқ.

Макалада Мурасиге-Скуг және Дривер-Кунжукі қоректік орталар құрамының грек жаңғағының *Juglans regia L.* әртүрлі генотиптерін микроклонды қебейту жағдайына тигізетін әсерін зерттеудің нәтижелері ұсынылған.

Бастапқы материал ретінде грек жаңғағының екі сортты алынды: өзбекстандық сорт Идеал және қытайлық сорт Ляохэ-1. Идеал сортты Қазақстанда жоғары өнімділігімен, ерте пісіп жетілуімен, аязға төзімділігімен ереешеленеді. Өнімділігі өте жоғары: 120 кг (12 жылдық өсімдіктен). Жемістердің орташа салмағы 10 грамм. Ляохэ-1 Қазақстанда енді ғана тарапа бастаған жаңа сорт болса да өзін әрі қарай қебейтуді қажет ететін перспективалық сорт ретінде көрсетті. Бұл үлкен аумақтарды қажет етпейтін, аласа өсетін сорт. Ляохэ-1 сорттының жемістерінің орташа салмағы 20 г, ядро шығымдылығы 50% -дан кем емес, бұл жоғары көрсеткіш.

*In vitro* жағдайына енгізуге қажетті материалды Қазақстанның оңтүстік шығысына бейімделген, ашық танапта өсіп түрган ағаштардан көзге көрінетін аурулары жоқ, үсікке шалдықпаған бұтактары алынды. Экспланттарды заразыздандыру ламинар-бокс жағдайында жүргізілді. Заразыздандыру осы ретпен жүргізілді: 30 сек 90% этанолда шайылды, 1,5-2 мин 0,1% заразыздандыратын ерітіндіде жуылып, 10 мин 150 мл 2 тамшы Твин-80 қосылғын заразыздандырылған суда сосын 2 рет 10 минуттан заразыздандырылған суда шайылды. Заразыздандырудың соңында эксплантты отырғызар алдында цефтриаксон антибиотигінің 0,3% ерітіндісінде ұсталды. Қоректік орта ретінде цитокинин БАП 1 және 1,5 мг/л концентрациясы және ауксин ИМК 0,01 мг/л концентрациясы қосылғын МС және DKW қоректік орталары алынды. Агар қосаардың алдында қоректік ортаның pH корсеткіші 5,6 жеткізілді. Қоректік орталар 121°C температурада 20 мин уақыт бойы автоклавта заразыздандырылды. Экспланттар жарық бөлмесінде люминесцентті лампаның астында 16 сағат жарықта, ауа температуrasesы 24 – 25°C жағдайда бір ай уақыт бойы өсірілді.

Грек жаңғағының экспланттарын *in vitro* жағдайына енгізу және заразыздандырылған өсімдік материалын алу грек жаңғағының ары қарай өсірудің алғашқы кезеңі болып табылады. Осыған байланысты біздің зерттеуіміздің негізгі мақсаты – микроклондық қебейтуге қажетті бастапқы заразыздандырылған өсімдік материалын алу. Зерттеудің алқашқы кезеңінде грек жаңғағының бүршіктеінен таза өркендер алынды. Ол үшін грек жаңғағының екі сорттыанан алынған бүршіктер БАП 1, мг/л және 0,01 мг/л ИМК қосылған Мурасиге-Скуг, DKW қоректік орталарына отырғызылды. Екі қоректік ортада да меристемалардың есу қарқындылығы бірдей деңгейде болды. Белсенді өсірдің 4-6 аптасынан кейін өркендердің биіктігі 1-2 см болды. Келесі тәжірибеде өркендердің бойының биіктігін арттыру мақсатында БАП концентрациясы 1,5 мг/л қебейтілді. Өсірдің бір ай уақытынан соң өркендер өсуі тек MS қоректік ортасында байқалды. DKW қоректік ортасында екі сорттың өсімдіктерінің де жапырақтары сарғыш түсті болып, өркендері қарайып, тіршілігін жойды. Сапалы ортырғызу материалын алу және өркендердің өсу жылдамдығын арттыру мақсатында DKW қоректік ортасы FeEDDA (119 мг/л) және фтороглюцинол (50 мг/л) қосу арқылы оңтайландырылды.

Фенологиялық бақылаулар нәтижесінде: негізгі сабактың ұзындығы, қосымша өркендердің түзілуі, бұынаралықтар саны және өсімдіктің өсу жағдайы бойынша, грек жаңғағының Идеал және Ляохэ-1 сорттарын микроклондық қебейтуге ен қолайлы қоректік орта болып модификацияланған DKW қоректік ортасы анықталды. MS қоректік ортасын экспланттарды *in vitro* жағдайына енгізу кезінде пайдалануга болатыны ұсынылды.

**Түйін сөздер:** микроклондық қебейту, қоректік орта, MS, DKW, БАП, ИМК, экспланттар, микроөсімдіктер, FeEDDA, фтороглюцинол.

Т. К. Егизбаева<sup>1</sup>, Т. В. Яушева<sup>1</sup>, С. Н. Олейченко<sup>1</sup>, R. J. Licea-Moreno<sup>2</sup>

<sup>1</sup>РГКП «Иссыкский государственный дендрологический парк», Алматинская область, Казахстан;

<sup>2</sup>Bosques Naturales S. A., Madrid, Spain

## ВЛИЯНИЕ СОСТАВОВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ГРЕЦКОГО ОРЕХА *JUGLANS REGIA L.*

**Аннотация.** Греческий орех – один из самых распространенных орехов во многих странах мира. Греческий орех применяется в кулинарии и в народной медицине. Казахстан находится на самой северной линии ареала произрастания орехов, поэтому выращивание греческого ореха в промышленных масштабах возможно только в Южно-Казахстанской, Жамбылской, Алматинской и Кызылординской областях. Цветение ореха в Алматинской области приходится на период возвратных заморозков в конце весны. Однако в Сарыагашском и Казыгуртском районах возвратные заморозки случаются всего лишь один год из десяти, а в Панфиловском и

Уйгурском районах той же Алматинской области – два на десятилетие. Поэтому здесь можно выращивать как европейские, так и турецкие, китайские сорта орехов.

Выращивание грецкого ореха в промышленных масштабах в Казахстане началось лишь в 2016-2017 гг., поэтому научных наработок по биотехнологическому размножению грецкого ореха у казахстанских ученых пока нет.

В статье изложены результаты исследований влияния составов питательных сред Мурасиге-Скуга и Дривер-Кунжуки на микроклональное размножение разных генотипов грецкого ореха *Juglans regia L.*

В качестве маточных растений выбраны два сорта: узбекский сорт Идеал и китайский сорт Ляохэ-1. Сорт Идеал уже зарекомендовал себя в Казахстане высокой урожайностью, скороспелостью, низкорослостью и повышенной морозустойчивостью. Дерево дает хороший урожай: 120 кг (с 12 летнего растения). Средняя масса ядер – 10 грамм. Сорт Ляохэ-1 только начинает распространение в Казахстане и уже показал себя как перспективный сорт для дальнейшего размножения. Это слаборослый сорт, не нуждающийся в больших площадях. Плоды сорта Ляохэ-1 при средней массе 20 г имеют выход ядра не менее 50%, что является высоким показателем.

Исходный материал для *in vitro* брали с деревьев, растущих в открытом грунте, визуально свободных от болезней, без морозных повреждений, адаптированных в условиях юго-востока Казахстана.

Стерилизацию эксплантов проводили в стерильных условиях ламинар-бокса. Последовательно: 30 сек в 90% этианоле, 1,5-2 мин в 0,1% растворе стерилизующего агента, 10 мин в 150 мл стерильной воды с 2 каплями Твин-80, 2 раза по 10 мин в стерильной воде. В конце стерилизации перед посадкой на питательные среды экспланты выдерживались в 0,3% растворе антибиотика цефтриаксон. В качестве питательных сред выбраны среды MS и DKW с концентрацией цитокинина БАП в вариациях 1 и 1,5 мг/л и ауксина ИМК в концентрации 0,01 мг/л. Перед добавлением агара pH среды доводили до значения 5,6. Все среды автоклавировались при 121°C в течение 20 мин. Экспланты культивировали в световой комнате под люми-несцентными лампами с 16 часовым периодом освещения при температуре воздуха 24 – 25°C в течение одного месяца.

Введение в культуру *in vitro* эксплантов грецкого ореха и получение растительного материала считается основным этапом для успешного культивирования грецкого ореха. В связи с этим основная цель нашего исследования – получение стерильного исходного растительного материала и дальнейшее их микроклональное размножение. На первом этапе исследований получены чистые микропобеги из почек грецкого ореха. Для этого почки из двух сортов грецкого ореха были посажены на питательную среду DKW и Мурасиге-Скуга с добавлением 1,0 мг/л БАП и 0,01 мг/л ИМК. На двух питательных средах скорость роста меристемы были одинаковы, за 4 – 6 недель активного роста побеги имели размеры 1 – 2 см. Для увеличения роста побегов концентрация БАП было увеличено на 1,5 мг/л. Далее растения пересаживались на свежие питательные среды для размножения. Каждый пассаж длился один месяц. В ходе работы сравнивали интенсивность роста побегов грецкого ореха двух сортов на питательных средах Мурасиге-Скуга (MS) и Дривер-Кунжуки (DKW) с концентрацией 6-бензиламинопурина (БАП) 1 и 1,5 мг/л. Через месяц культивирования побегов положительная динамика роста наблюдалась только на среде MS. На среде DKW у растений обоих сортов скорость роста была медленной, растения имели желтый цвет листьев, некоторые побеги чернели и погибали. Для получения качественного материала, а также увеличения скорости роста побегов среда DKW была дополнена FeEDDHA (119 мг/л) и фтороглюцином (50 мг/л).

В результате фенологических наблюдений: высота основного побега, образование дополнительных побегов, количество междуузлей и по состоянию растений установлено, что лучшей питательной средой для микроклонального размножения грецкого ореха Идеал и Ляохэ-1 является модифицированная среда DKW. Среду MS можно использовать только на начальном этапе – введении в культуру *in vitro*.

**Ключевые слова:** микроклональное размножение, питательная среда, MS, DKW, БАП, ИМК, экспланты, микrorастения, FeEDDHA, фтороглюциномол.

#### Information about authors:

Egizbaeva Togzhan Kadyrbekovna, senior researcher in the Issyk arboretum state Park; togjan26@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3333-8839>

Yausheva Tatyana Viktorovna-research associate of the Issyk state arboretum Park; yausheva\_tatyana@mail.ru

Oleychenko Sergey Nikolaevich, doctor of agricultural Sciences, Professor of the Department of "fruit and vegetable Growing and nut growing" of the NAO of the Kazakh national agrarian University; oleichenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0611-8267>

Ricardo Julian Licea-Moreno, PhD, director of Biotechnology Department Bosques Naturales S.A.

## REFERENCES

- [1] Oleichenko S.N. Bookmark walnut plantations in the south of Kazakhstan. // Collection of materials of the international scientific and practical seminar "Providing the walnut industry in Kazakhstan with quality planting stock of promising forms and varieties." (Zakladka plantatsiy gretskogo orekha na yuge Kazakhstana. // Sbornik materialov mezhdunarodnogo nauchno-prakticheskogo seminara «Obespecheniye orekhovodcheskoy otrassli Kazakhstana kachestvennym posadochnym materialom perspektivnykh form i sortov».) 2018, P. 10-13 (in Russ.).
- [2] Shyntasov T. Noise groves rustle. (Zashumyat orekhovyye roshchi). Newspaper Kazakhstanskaya Pravda. 2018. Issue. 6. P. 3-4 (in Russ.).
- [3] www.orehovod.com. A large analysis of the global walnut market, 2016-2017.
- [4] Driver J.A. and Kuniyuki A.H. In vitro propagation of paradox walnut rootstock / // Hortscience. 1984. Vol. 19. P. 507–509.
- [5] Gruselle R., N. Badia and P. Boxus (1987). "Walnut micropropagation: first results." Acta Horticulturae 212: 511-515.
- [6] Gruselle, R. and P. Boxus (1990). "Walnut Micropagation." First International Symposium on Walnut Production 284:45-52.
- [7] Marques Silva, D.J. and J.S.D. Dias (1997). "In vitro shoot culture on *Juglans regia* L.: repeated subculturing on juvenile and adult material." Proceedings of the 3rd Intern. Walnut Congress: 251-256.
- [8] Navatet, J.C. and Bourrain L. (2001). "Plant production of walnut *Juglans regia* L. by *in vitro* multiplication." Proceedings of the Fourth International Walnut Symposium (544): 465-471. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.544.64>
- [9] Vahdati K., Najafian E., Ebrahimzade H. and M. Mirmasoumi M. Acta horticulturae 839(839):117-124 · July 2009 Improved micropropagation of walnut (*Juglans regia* L.) on media optimized for growth based upon mineral content of walnut seed. DOI: 0.17660/ActaHortic.2009.839.13.
- [10] Kepeneka K, and Z. Kolagasi. Micropropagation of Walnut (*Juglans regia* L.) Special issue of the 2nd International Conference on Computational and Experimental Science and Engineering (ICCESEN 2015), Vol. 130 (2016), N 1, P. 150-156.
- [11] Rodica Gotea, Ionuț Gotea, Radu E. Sestars, Kourosh Vahdati. In vitro Propagation of Several Walnut Cultivars. Bulletin UASVM Horticulture, 69(1)/2012, P.167-171.
- [12] Ricardo J. Licea-Moreno, Angela Contreras, Ana V. Morales, Ignacio Urban, Marcos Daquinta, Luis Gomez. Improved walnut mass micropropagation through the combined use of phloroglucinol and FeEDDHA. //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC 2015), Vol. 123, Issue 1, P. 143-154. DOI: 10.1007 / s11240-015-0822-3
- [13] Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. 1962. N. 15. P. 473–497.
- [14] Shadenova E.A., Mamirova A.A., Sembekov M.T., Kaigermazova M.A. Restoration of perspective wood-brush genotypes. N e w s of the national academy of sciences of the republic of kazakhstan series of agricultural sciences ISSN 2224-526X, Vol. 1, N 49 (2019), 46–50. <https://doi.org/10.32014/2019.2224-526X.6>

## **Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct ([http://publicationethics.org/files/u2/New\\_Code.pdf](http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf)). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

[www:nauka-nanrk.kz](http://www.nauka-nanrk.kz)

**ISSN 2518-1467 (Online), ISSN 1991-3494 (Print)**

<http://www.bulletin-science.kz/index.php/en/>

Редакторы *M. С. Ахметова, Т. А. Апендиев, Д. С. Аленов*  
Верстка на компьютере *Д. А. Абдрахимовой*

Подписано в печать 10.02.2020.  
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.  
19,5 пл. Тираж 500. Заказ 1.