

А.С. Нұртаза^{1,2}, А.К. Есимсеитова¹, В.К. Каримова¹, Г.К. Магзумова¹,
Б.Н. Бақтыбай¹, С.Ж. Кабиева¹, А.А. Какимжанова^{1*}

¹Национальный центр биотехнологии, Нур-Султан, Казахстан

²Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

*Автор для корреспонденции: kakimzhanova@biocenter.kz

Оптимизация факторов, влияющих на адаптацию и рост растений в почвогрунте редкого вида *Malus niedzwetzkyana*

Аннотация. Для озеленения городов и населенных пунктов предусматривается посадка декоративного и редкого вида дикой яблони - *Malus niedzwetzkyana*. Для получения качественного посадочного материала широко используется метод микроклонального размножения. В этом исследовании были оптимизированы условия адаптации и активного роста микропобегов *Malus niedzwetzkyana* в условиях оранжереи и теплицы, полученные микроклональным размножением. Для адаптации, укорененные микропобеги высаживали в почву с разным рН. Результаты показали, что оптимальным условием для адаптации микропобегов является нейтрализованный торф с перлитом, а для полива оптимальным раствором является KNO₃, где приживаемость составила 95%. Для дальнейшего роста в условиях теплицы были изучены 3 вида удобрения для полива: карбамид (азот), суперфосфат (фосфор), сульфат калия (калий).

Высокая приживаемость и наибольший прирост по всем параметрам у *Malus niedzwetzkyana* были получены при поливе удобрением с фосфором. Также был проведен анализ генетической идентичности между материнским деревом и полученными клонами. SSR-анализ с использованием маркеров Hi04a08, CN444542, Aj000761 показал полную идентичность между исходным деревом и полученными клонами. Это подтверждает, что микроклональное размножение *Malus niedzwetzkyana* является эффективным методом для получения генетически стабильного, здорового посадочного материала для озеленения.

Ключевые слова: микроклональное размножение, *Malus niedzwetzkyana*, торф, удобрения, SSR маркеры.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-70-85

Введение

Промышленное развитие городов является основной причиной разрушения и деградации природных ресурсов по всему миру. Урбанизация манипулирует видовым составом растений, атмосферой и почвенным покровом. Вследствие ухудшения биоразнообразия усиливается нагрузка на окружающую среду, и, соответственно, на человека. По этой причине актуальность поиска решений задач по улучшению экологического состояния городов только возрастает [1].

Один из главных методов по улучшению экологической ситуации в городах - это зеленые насаждения. Озеленение городов несет в себе экологическую и эстетическую составляющие. Так, растения очищают и увлажняют воздух, снижают уровень шума, задерживают большую часть пыли и газа [2, 3, 4].

Одним из главных инструментов в озеленении является посадка деревьев. Посадки деревьев - один из механизмов стабилизации экологической ситуации в городах. Деревья очищают окружающую среду от негативных компонентов и формируют микроклимат [5]. Однако при озеленении важно осуществить правильный подбор ассортимента. Необходимо учитывать географические и климатические условия местности, а также высаживать посадочный материал, адаптированный к местным условиям [6].

Так, для озеленения неблагоприятных почвенно-климатических условий предусматривают посадку и размножение яблони Недзвецкого, которая обладает устойчивостью к высокой и низкой температурам, болезням, загазованности и запылённости воздуха [7]. *Malus niedzwetzkyana* – декоративный вид мелкоплодной яблони [8]. Высота достигает 6 метров, бутоны пурпурно-красные. Осенняя окраска листьев коричнево-красная с пурпурной [9, 10, 11]. *Malus niedzwetzkyana* – родственник домашней яблони, является важным компонентом орехово-плодовых лесов в Средней Азии [12.]. Это дерево богато полифенолами, флавоноидами и полисахаридами, которые поддерживают здоровье и уменьшают частоту хронических заболеваний благодаря антиоксидантным свойствам [13]. На сегодняшний день яблоня Недзвецкого является видом, занесенным в Красную книгу Казахстана [14] и в Международный Красный лист в статусе исчезающего вида [15].

Помимо декоративности и редкости вида, массовая высадка яблони имеет ряд других преимуществ. Яблони способствуют сохранению почвенной влаги, улучшают водный режим почвогрунтов и создают благоприятные микроклиматические и почвенные условия. Более того, благоприятно влияют на плодородие почвы. В опаде яблоневых фитоценозов содержание СаО (5,2%), MgO (0,4%), SiO₂ (2,1%), Fe₂O₃ (0,3%) и Al₂O₃ (0,3%) больше, чем в зеленых листьях. Так, плодовые культуры возвращают в почву гораздо больше СаО, MgO, P₂O₅, чем открытые участки, поэтому и в почве под плодовыми насаждениями эти элементы накапливаются в большем количестве. Также установлена закономерность улучшения микроклимата территории и увеличения плодородия горных черноземов [16]. Более того, яблоня Недзвецкого является эндемичным видом. Ареалом произрастания является Казахстан, Кыргызстан и Китай. Она приспособлена к росту в горных местностях и к местному климату [9, 17].

Таким образом, посадка яблони Недзвецкого для озеленения городов является распространенной практикой. Благодаря устойчивости к неблагоприятным условиям, декоративности вида в течение всего года яблоня Недзвецкого позволяет создавать эстетически красивые композиции и улучшать облик территории [18, 19, 20].

Однако, несмотря на все преимущества, существуют проблемы при получении посадочного материала. Например, размножение черенками зависит от времени года и ограниченным количеством. Размножение семенами напрямую зависит от сезона и очень трудоёмко. Более того, у яблони Недзвецкого происходит расщепление фенотипических признаков при размножении семенами, а черенки трудно укореняются [21, 22].

В связи с этим желательно использовать микроклональное размножение для массового размножения и улучшения посадочного материала. Микроклональное размножение имеет много плюсов: получение большого объема размноженного материала; улучшение посадочного материала; независимость от времени года; поддержка ценных видов в культуре *in vitro*; получение однородное потомство клонов от исходных деревьев [23, 24, 25].

Целью настоящей работы являлась оптимизация условий адаптации и активного роста сеянцев яблони Недзвецкого в почвогрунте для получения качественного и оздоровленного посадочного материала.

Материалы и методы

В качестве материала исследования были использованы укорененные микрорастения, полученные с помощью микроклонального размножения. Для получения укорененных микропобегов использовали однолетние побеги яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana*), произрастающей в парке «Времена года» города Нур-Султан.

Микропобеги были размножены в Национальном центре биотехнологии по разработанному нами протоколу по микроклональному размножению. Для введения в культуру *in vitro* и

мультипликации микропобегов была использована питательная среда *Quoirin&Lepoivre* (Q&L) с добавлением гормонов 0,5 мг/л бензиламинопурина (БАП) и 0,01 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК). Укоренение проводили на 1/2 Q&L с 10 мг/л сахарозы и 1,0 мг/л ИМК.

Адаптация микропобегов

Для адаптации использовали укорененные микрорастения яблони Недзвецкого высотой 3-6 см с несколькими основными корнями. Перед высадкой в почвенный субстрат корни микрорастений промывали от остатков агара в слабом растворе марганцовокислого калия. Для подбора условий адаптации микрорастения высаживали в грунт универсальный (рН 5.5), торф нейтрализованный (рН 6.5) и перлит. Так, были изучены следующие варианты почвенного субстрата: I - грунт; II - грунт с перлитом (2:1); III - торф; IV - торф с перлитом (2:1).

Кроме того, для лучшей адаптации подбирали растворы для полива сеянцев. Было изучено 4 варианта полива для адаптации и ускорения роста сеянцев: I вариант – вода (контроль); II вариант - раствор питательной среды 1/2QL; III вариант - раствор KNO₃ (0,9 г/л); IV вариант - коммерческое удобрение «Биосок». «Биосок» - микробиологический биостимулятор роста, защиты и развития гуминовых органо-минеральных удобрений инсталляции. Экстракт биогумуса, обогащенный азотом и калием, содержит гумин, фульвокислоты, фитогормоны, соединения антибиотиков, микроэлементы.

Сеянцы выращивали в оранжерее при температуре 24-26°C, освещенности 4500 люкс, 16-часовым фотопериодом в течение 15 дней с момента высадки в почву под пленкой для поддержания оптимальной влажности, а затем через 15 дней пленку снимали и дальше выращивали в оранжерее. Морфометрические показатели сеянцев были сняты в первый день и 30-й день адаптации в почвогрунте.

Изучение влияния удобрений на активный рост сеянцев в условиях теплицы

Адаптированные сеянцы в почвогрунте были перенесены в условия пленочной теплицы. Затем было изучено влияние удобрений на рост и развитие сеянцев в условиях теплицы. Использовали три вида удобрений: карбамид (N 46,2%), суперфосфат гуминизированный (P₂O₅ 26%) и сульфат калия (K₂O 50%).

Эксперимент проводили на 4-х вариантах опыта: I вариант - контроль (вода), II вариант – карбамид (азот), III вариант – суперфосфат (фосфор), IV вариант – сульфат калия (калий). В промежутках между поливом удобрениями поливали водой. Удобрения предварительно растворяли в воде и поливали каждые 15 дней. Морфометрические замеры проводили по высоте побега, количеству листьев и диаметру кроны. Растения выращивали в условиях пленочной теплицы, где температура поддерживалась в пределах 23-27°C. По истечении 75 дней посадочный материал был пересажен в открытый грунт.

Идентификация сеянцев с помощью SSR-маркеров

Для генетической идентификации исходного дерева и полученных сеянцев *M. niedzwetzkyana* были использованы 3 SSR маркера: Ni04a08, CN444542, Aj000761-SSR. Листья для выделения ДНК отбирали у исходного дерева и сеянцев, растущих в почвогрунте теплицы.

Листья 10 сеянцев с теплицы независимых случайных растений были отобраны с использованием стерильного скальпеля. ДНК экстрагировали с использованием модифицированного метода СТАВ. Качество и количество экстрагированной ДНК проверяли с помощью ультрафиолетового спектрофотометра (NanoDrop1000, Thermo Fisher Scientific, США) и каждый образец разбавляли до 30 нг/мкл в стерильной дистиллированной воде. ПЦР-амплификацию проводили при температуре отжига 60°C (95°C в течение 2 мин; 10 циклов по 95°C в течение 30 с, 60°C в течение 1 мин, 72°C в течение 1 мин; 20 циклов по 90°C в течение 30 с,

60° С в течение 1 минуты, 72°С в течение 1 минуты и 72°С в течение 30 минут). Фрагменты разделяли с использованием автоматического генетического анализатора ABI3730xl (Applied Biosystems), используя полимер POP7 и стандарт размера GeneScan™ 500LIZ®; их размер был проанализирован с помощью программного обеспечения GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems). Программное обеспечение GeneMarker® v 2.2.0 использовали для определения размера амплифицированного фрагмента.

Статистический анализ

Результаты исследований были подвергнуты дисперсионному анализу и значимые различия были выбраны с использованием апостериорного теста Тьюки с помощью пакета SPSS 23.0. (IBM Inc., New York, USA). Данные выражены в среднем значении ± стандартная ошибка трех независимых экспериментов.

Результаты и обсуждение

Адаптация микропобегов

Одним из стрессовых этапов микроклонального размножения является адаптация к нестерильным условиям. Растения в культуре *in vitro* выращиваются на искусственных средах, богатых неорганическими и органическими питательными веществами, сахарозой и регуляторами роста. Растения поддерживаются при высокой влажности в культуральных сосудах, где происходит слабый газообмен. В этих неестественных условиях растения хорошо растут и размножаются, но имеют анатомические, цитологические и физиологические изменения, которые требуют тщательного подбора условий акклиматизации [23].

Нашей задачей было получить здоровый и физиологически развитый посадочный материал. В свою очередь оздоровление посадочного материала осуществляется благодаря микроклональному размножению. В то время как хороший рост в почве зависит от условий выращивания. Так, для оптимизации условий адаптации было изучено 4 варианта субстрата в условиях оранжереи. Было изучено 2 субстрата с разными рН показателями и с/без добавления перлита. рН почвы является наиболее информативным измерением, которое можно сделать для почвы. От кислотности или щелочности почвы зависит доступность питательных веществ для растений [26, 27].

Как показали результаты, успех адаптации растений зависит от условий роста. Так, для яблони Недзвецкого комфортной почвой является нейтрализованный торф с перлитом, где приживаемость составила 90%. Использование торфа без перлита показало приживаемость 78%, почва быстро просыхала и требовала более частого полива. При использовании грунта была получена низкая приживаемость только 20% и 34% (таблица 1, рисунок 1). Такие результаты могут быть связаны с уровнем рН почвы. Известно, что в большинстве случаев нейтрализованный торф является наиболее благоприятным для роста растений. Так, для выращивания саженцев *M.prunifolia*, *M.robusta* и *M.hupehensis* авторы рекомендуют рН от 5.5 до 7.0 [28].

Таблица 1

Приживаемость сеянцев *M.niedzwetzkyana* на этапе адаптации

Вариант	Приживаемость, %
I - Грунт	20%
II - Грунт с перлитом (2:1)	34%
III - Торф	78%*
IV - Торф с перлитом (2:1)	90%*

* Средняя разница значима на уровне 0,05. Менее значимая разница не показана.



Рисунок 1. Адаптация микропобегов *M.niedzwetzkyana* в торфе с перлитом

Также были изучены условия полива сеянцев для адаптации и роста растений в условиях оранжереи. Растения нуждаются в микро- и макроэлементах. Отсутствие или недостаток любого макроэлемента или микроэлемента приводит к снижению роста, болезням или гибели. В связи с этим главная задача – обеспечить растения всеми необходимыми веществами для их полноценного роста и развития. Так, было исследовано 4 варианта полива: I – вода (контроль); II – ½QL; III – раствор KNO₃; IV – коммерческое удобрение «Биосок».

Высокая приживаемость и наибольший прирост по всем показателям были получены при поливе сеянцев яблони Недзвецкого раствором KNO₃. Приживаемость составила 95%. Средний прирост в высоте побега 4,48 см, в диаметре крона 4,12 см и количество листьев увеличилось на 5,67 шт и сеянцы имели сочно-зеленый цвет. Эти показатели демонстрируют положительную динамику в физиологическом развитии растений. Наблюдалось вытягивание побега в высоту, увеличение размера листовой пластины (таблица 2, рисунок 2).

Так, можно заключить, что на этапе адаптации сеянцем яблони Недзвецкого необходимы калий и азот. В литературе нитраты определены как подземная сигнальная молекула, контролирующая структуру ветвления корней. Из чего следует, что нитраты крайне необходимы для развития и ветвления боковых корней [29, 30]. Калий является важным элементом в тургорном давлении и регуляции устьиц. Он поглощается растениями в крупных количествах, после азота. Например, калий отмечают как важное вещество для роста сельскохозяйственных культур [31, 32]. Его роль в фотосинтезе хорошо известна – увеличение ферментативной активности, улучшение синтеза белков, углеводов и жиров, в результате чего происходит перемещение фотосинтетических веществ, повышение урожайности, а также общего здоровья и жизнеспособности растений [33]. Более того, калий особенно важен для адаптации растений к стрессам окружающей среды, таким как засуха, зимостойкость, устойчивость к болезням, насекомым-вредителям и морозостойкость [34]. Он также участвует в активации ферментов, важных для использования энергии, синтеза крахмала, метаболизма азота и дыхания [32].

Таблица 2

Подбор раствора для полива сеянцев *M.niedzwetzkyana* в оранжерее

Вариант	Приживаемость, %	День 30			Прирост		
		Длина, см	Листья, шт	Крон, см	Длина, см	Листья, шт	Крон, см
I – вода (контроль)	60	3,24±0,02*	7,44±0,14*	4,70±0,04*	2,08	3,04	2,37

II - ½QL	76	4,23±0,07*	8,62±0,02*	6,32±0,02*	3,05	4,18	3,98
III - раствор KNO ₃	95	5,64±0,02*	9,83±0,02*	6,44±0,03*	4,48	5,67	4,12
IV - удобрение «Биосок»	80	3,57±0,03*	7,02±0,15*	5,26±0,03*	2,39	2,84	2,90

* Средняя разница значима на уровне 0,05. Менее значимая разница не показана.



а – Сеянцы в день высадки

б – Сеянцы на 30-ый день после высадки

Рисунок 2. Рост сеянцев *M.niedzwetzkyana*, политые раствором KNO₃

60% приживаемости получено на контрольном варианте, где отсутствовала подкормка и сеянцы поливали водой. В приросте по морфометрическим параметрам контрольный вариант показал положительную динамику, однако большой выпад является экономически не выгодным (таблица 2).

Комплексные удобрения в виде раствора питательной среды и коммерческого удобрения показали схожие результаты. Приживаемость растений составила 76% и 80%. Прирост был похож с контрольным вариантом. Так, можно заключить, что влияние макро и микроэлементов различно. Например, марганец, благодаря ингибирующему эффекту на укоренение следует использовать в минимальных концентрациях. Исключение бора позволило улучшить укоренение черенков *Eucalyptus globulus* на 10% [35]. Противоположно, цинк необходим для укоренения растений, он увеличивает эндогенное содержание ауксинов [36, 37]. Кальций, который входит состав комплекса, играет важную роль в процессе укоренения, главным образом потому, что он действует как активатор роста корней [38]. Укоренение черенков *Populus*, выращенных *in vitro*, ингибировалось из-за удаления кальция [39].

Таким образом, влияние макро и микроэлементов на развитие растений является очевидным и задокументированным, однако остается неоспоримым, что для разных генотипов на разных этапах развития растений необходимо подбирать элементы индивидуально [36, 38, 40, 41, 42].

Изучение влияния удобрений на активный рост сеянцев в условиях теплицы

После адаптации и закалывания растений в условиях оранжереи сеянцы перевели в условия пленочной теплицы. Для активного роста и развития в условиях теплицы были исследованы 3 основных элемента, необходимые растениям: азот, фосфор и калий.

Подкормки, содержащие азот, фосфор и калий, используются во всем мире для повышения роста и урожайности сельскохозяйственных культур [43]. Например, при выращивании манго использование калия положительно влияет на увеличение площади листьев, а также на содержание минеральных веществ и повышение урожайности [44]. А при использовании только азота и фосфора, наблюдается серьезное снижение урожая [45].

В результате исследований наилучшие результаты эксперимента наблюдали при использовании суперфосфата (фосфор) у сеянцев яблони Недзвецкого, где на 75-й день прирост растений составил 25,50 см, по количеству листьев 13,32 шт и диаметру кроны 12,38 см (таблица 3, рисунок 3). Фосфор является вторым важным макроэлементом для роста растений после азота. У *Arabidopsis* увеличение уровня фосфата стимулировало первичное удлинение корня [46].

Сравнительный прирост наблюдали при подкормке сульфатом калия (калий). В высоту побега наблюдали прирост в 14,81 см, в диаметре крона 10,05 см и количество листьев увеличилось на 11,42 шт. При использовании карбамида (азот) значительных изменений не наблюдали. В целом умеренный дефицит азота может улучшить укоренение [38], но с другой стороны, дефицит азота может снизить укоренение, поскольку он необходим для синтеза нуклеиновых кислот и белка [38, 41].

Однако нужно учитывать, что в рамках нашей работы при адаптации сеянцы яблони Недзвецкого поливались нитратом калия. Это помогает растениям адаптироваться к новым условиям и увеличить физиологические показатели. И при выращивании в теплице сеянцы нуждаются в другом элементе. Так, было установлено, что лучше всего растения яблони Недзвецкого развиваются при использовании в качестве удобрения суперфосфата.

Таблица 3

Подбор удобрений для быстрого роста сеянцев в теплице

Вариант	День 75			Прирост		
	Длина, см	Листья, шт	Крон, см	Длина, см	Листья, шт	Крон, см
I – Вода (контроль)	10,93±0,04*	12,86±0,02*	9,65±0,01*	7,69	5,46	4,91
II – карбамид (азот)	16,53±0,02*	18,51±0,05*	14,42±0,02*	12,31	9,89	8,09
III – суперфосфат (фосфор)	31,13±0,09*	23,10±0,08*	18,78±0,02*	25,50	13,32	12,38
IV – сульфат калия (калий)	18,39±0,03*	18,46±0,16*	15,30±0,03*	14,81	11,42	10,05

* Средняя разница значима на уровне 0,05. Менее значимая разница не показана.



а – сеянцы, политые водой (контроль)



б – сеянцы, политые суперфосфатом (фосфор)

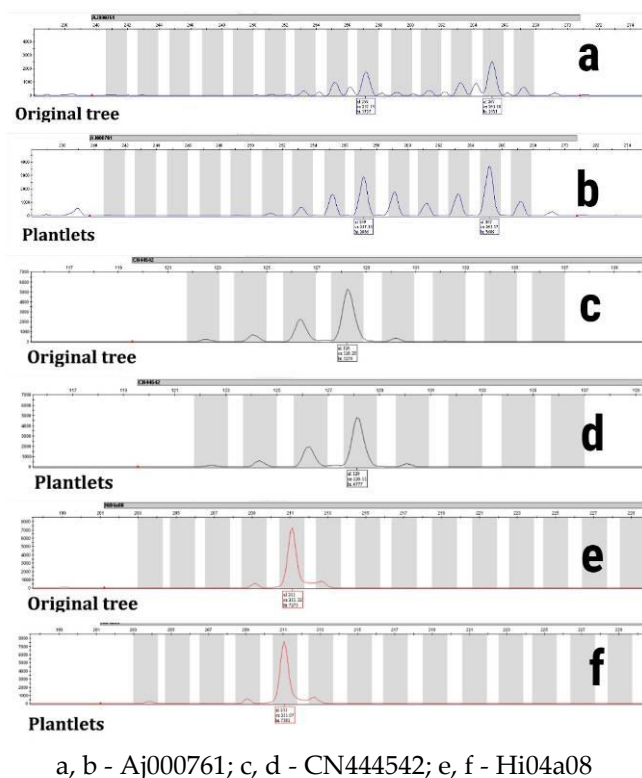
Рисунок 3. Влияние удобрений на рост сеянцев яблони Недзвецкого

Сеянцы выращивались в условиях теплицы в течение 4 месяцев. Далее сеянцы пересадили в открытый грунт в питомник РПП «Жасыл Аймак». Так, было высажено 1018 сеянцев, высотой от 20 см. В течение двух лет сеянцы показали хороший рост, приживаемость составила 85%.

Идентификация сеянцев с помощью SSR-маркеров

Эффективность SSR маркеров обуславливается широкой сферой применения. SSR-маркеры были использованы для филогенетического анализа дикой и домашней яблони [47]. В другом исследовании восемь SSR-локусов яблони были использованы для определения генотипов коллекции одомашненных яблок [48, 49]. SSR успешно использованы для характеристики сортов яблони, для определения отношений между родителями и потомками [50]. Также авторами подтверждена эффективность использования SSR-локусов для определения степени сходства коммерческих сорта *M. domestica*, у которых было амплифицировано 84 полиморфных аллеля [51].

С помощью SSR-маркеров Hi04a08, CN444542, Aj000761-SSR изучили генетическую идентичность между исходным деревом и сеянцами этого исходного дерева, полученные с помощью микроклонального размножения. SSR-анализ показал отсутствие генетических отличий между исходным деревом и сеянцами (рисунок 4). Результаты идентификации показывают одинаковые размеры аллеля в локусах. Так, в локусе Hi04g05 размер составил 239, 259 п.н.; CN444542 128 п.н.; Aj000761 257 и 265 п.н.



a, b - Aj000761; c, d - CN444542; e, f - Hi04a08

Рисунок 4. Результаты SSR- анализа

Таким образом, SSR- анализ генетической идентичности между материнским растением и размноженными сеянцами показал полную идентичность между образцами. Это подтверждает, что микроклональное размножение *M. niedzwetzkyana* является эффективным методом для получения генетически стабильного посадочного материала.

Выводы

Таким образом, были подобраны условия адаптации стерильных микропобегов *Malus niedzwetzkyana* для получения посадочного материала. Так, в условиях оранжереи, высокий процент приживаемости был получен при использовании нейтрализованного торфа с перлитом, а для полива оптимальным раствором является KNO_3 , где приживаемость составила 95%. Для индукции роста в условиях теплицы наилучшим раствором для полива является суперфосфат. При поливе данным раствором была отмечена положительная динамика по всем исследуемым параметрам. Также был проведен анализ генетической идентичности между материнским деревом и полученными клонами. Результаты показали, что полученные клоны являются полностью идентичными с материнским деревом.

Финансирование. Работа была выполнена в рамках проекта AP09563185 «Разработка криобиотехнологии исчезающих видов растений яблони Сиверса (*Malus sieversii*) и яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana*) для сохранения и воспроизводства» на 2021 г., финансируемого МОН РК.

Список литературы

1. Imam A.U.K., Banerjee U.K. Urbanisation and greening of Indian cities: Problems, practices, and policies // *Ambio*. – 2016. – Vol.45. – №. 4. – P. 442-457.
2. Jim C.Y. Sustainable urban greening strategies for compact cities in developing and developed economies // *Urban Ecosystems*. – 2013. – Vol.16. – №. 4. – P. 741-761.
3. Carinanos P., Calaza-Martínez P., O'Brien L., Calfapietra C. The cost of greening: disservices of urban trees // *The Urban Forest*. – 2017. – Vol. 7 – P. 79-87.
4. Jennings V., Browning M.H.E.M., Rigolon A. *Urban Green Spaces: Public Health and Sustainability in the United States*. – Springer International Publishing, 2019. – P. 8.
5. Rey Benayas J.M., Bullock J.M. Restoration of Biodiversity and Ecosystem Services on Agricultural Land // *Ecosystems*. – 2012. – Vol. 15. – P. 883-899.
6. Kaya L.G., Kaynakci-Elinc Z., Yucedag C., Cetin M. Environmental outdoor plant preferences: a practical approach for choosing outdoor plants in urban or suburban residential areas in Antalya, Turkey // *Fresenius Environmental Bulletin*. – 2018. – № 27(12). – P. 7945-7952.
7. Шалпыков К.Т., Долотбаков А.К. Разнообразие форм Яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana*) в южном Кыргызстане // *Proc. of int. conf. "Diversity, characterization and utilization of plant genetic resources for enhanced resilience to climate change"*. – Baku, 2011. – P.116-117.
8. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China // *Genet Resour Crop Evol*. – 2007. – № 55. – P. 171-181.
9. Ji X.H., Wang Y.T., Zhang R., Wu S.J., An M.M., Li M., Chen X.S. Effect of auxin, cytokinin and nitrogen on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*) // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2015. – № 120(1). – P. 325-337.
10. Reim S., Flachowsky H., Michael M., Hanke M-V. Assessing gene flow in apple using a descendant of *Malus sieversii* var. *sieversii* f. *niedzwetzkyana* as an identifier for pollen dispersal // *Environ Biosafety Res*. – 2006. – № 5(89). – 104 p.
11. Wang N., Zhang Z., Jiang S., Xu H., Wang Y., Feng S., Chen X. Synergistic effects of light and temperature on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*) // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2016. – № 127. – P. 217-227.

12. Wilson B., Mills M., Kulikov M., Clubbe C. The future of walnut–fruit forests in Kyrgyzstan and the status of the iconic Endangered apple *Malus niedzwetzkyana* // *Oryx*. – 2019. – № 53(3). – P. 415-423.
13. Yang M., Che S., Zhang Y., Song W., Yan G., Yu W. *Malus niedzwetzkyana* (Dieck) Langenf transcriptome comparison and phylogenetic analysis with *Malus sieversii* (Ledeb) Roem // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2020. – Vol. 67(2). – P. 313-323.
14. Тахтаджяна А.Л. Красная книга. Дикорастущие виды флоры СССР, нуждающиеся в охране: – Наука: Ленинград, 1975. – 204 с.
15. International Union for Conservation of Nature. [Электронный ресурс] – URL: <http://www.iucnredlist.org/search>. (дата обращения: 29.10.2021).
16. Джангалиев А.Д. Дикая яблоня Казахстана: – Наука: Алма-Ата, 1977. – 276 с.
17. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2008. – Vol. 55(1) – P. 171-181.
18. Шестак К.В. Evaluation of ornamental characteristics of vegetative development of the introducents in the Arboretum of Reshetnev University // *Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений*. – 2020. – Т. 23. – С. 149-152.
19. Yan F., Yu-min Y.A.N. Applications of *Malus pumila* var. *niedzwetzkyana* Schneid in Gardens of Northern China // *Heilongjiang Agricultural Sciences*. – 2012. – Vol. 3. – P. 99-101.
20. Yushkov A.N., Saveleva N.N., Borzykh N.V., Zemisov A.S., Chivilev V.V., Vislobokov A.V. Special characteristics of water regime of high-potential decorative varieties and forms of the genus *Malus* Mill // *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*. – 2020. – Vol. 11. – №. 10. – P. 1110-1110.
21. Фирсов Г.А., Ткаченко К.Г., Васильев Н.П., Волчанская А.В. Некоторые итоги и перспективы интродукции видов рода *Malus* mill. в ботаническом саду Петра Великого // *Бюллетень Ботанического сада-института ДВО РАН*. – 2015. – № 13 – С.17-33.
22. Ziauka J., Kuusienè S. Multiplication and growth of hybrid poplar (*Populus alba* × *P. tremula*) shoots on a hormone-free medium // *Acta Biologica Hungarica*. – 2014. – № 65(3). – P. 346-354.
23. Bhojwani S.S., Dantu P. K. *Plant tissue culture: an introductory text*. – India : Springer, 2013. – №. 574.0724/B575.
24. Teixeira J.A., Kher M.M., Soner D., Nataraj M. Red sandalwood (*Pterocarpus santalinus* L. f.): biology, importance, propagation and micropropagation // *Journal of Forestry Research*. – 2019. – Vol. 30. – P. 745–754.
25. Guangjie Z., Zhanbin W., Dan W. In vitro propagation and ex vitro rooting of blueberry plantlets // *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. – 2008. – Vol. 18(2). – P. 187-195.
26. Thomas G. W. Soil pH and soil acidity // *Methods of soil analysis: part 3 chemical methods*. – 1996. – Т. 5. – P. 475-490.
27. Alewell C., Matzner E. Reversibility of soil solution acidity and of sulfate retention in acid forest soils // *Water, Air, and Soil Pollution*. – 1993. – Vol. 71 (1). – P. 155-165.
28. Deng F., Ma F., Shu H. Growth and physiological responses of five *Malus* species to the pH of hydroponic solutions // *African Journal of Agricultural Research*. – 2012. – Vol. 7. – №. 16. – P. 2519-2526.
29. De Almeida M.R., Aumond M., Da Costa C.T., Schwambach J., Ruedell C.M., Correa L.R., Fett-Neto A.G. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings // *Trees*. – 2017. – Vol. 31. P. 1377-1390.
30. Leyser O., Fitter A. Roots are branching out in patches // *Trends in plant science*. – 1998. – Vol. 3(6). – P. 203-204.
31. Dampney P., Wale S., Sinclair A. Review Potash Requirements of Potatoes. Report of Agriculture & Horticulture Development Board. – Kenilworth, England, 2011. – P. 8-26.
32. Havlin J.L., Beaton J.D., Tisdale S.L., Nelson W.L. Soil acidity and alkalinity. Soil fertility and fertilizers // *Pearson Prentice Hall*. New Jersey. – 2005. – Vol. 7. – P. 45-96.

33. Abd El-Latif K.M., Osman E.A.M., Abdullah R., Abdel Kader N. Response of Potato Plants to Potassium Fertilizer Rates and Soil Moisture Deficit // *Advances in Applied Science Research*. – 2011. – Vol. 2. – P. 388-397.
34. Brady N.C., Weil R.R., Weil R.R. The nature and properties of soils. – Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2008.– P. 662-710.
35. Trindade H., Pais M.S. In vitro studies on Eucalyptus globulus rooting ability // *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. – 1997. – Vol. 33(1). – P. 1-5.
36. Andersen A.S. Environmental influences on adventitious rooting in cuttings of non-woody species // *New root formation in plants and cuttings*. – Springer, Dordrecht, 1986. – P. 223-253.
37. O'Neill M.A., Eberhard S., Albersheim P., Darvill A.G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth // *Science*. –2001. – Vol. 294(5543). – P. 846-849.
38. Haissig B.E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings // *New root formation in plants and cuttings*. – Springer, Dordrecht, 1986. – P. 141-189.
39. Bellamine J., Penel C., Greppin H., Gaspar T. Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation // *Plant growth regulation*. – 1998. – Vol. 26(3). – P. 191-194.
40. Read P.E. Introduction to the symposium // *HortScience*. – 1987. – Vol. 22. – P. 736-737.
41. Hartman H.T., Kester D.E. Plant propagation: principles and practices. – Prentice-Hall, 1975. – P. 21.
42. Hansen J. Stock plant lighting and adventitious root formation // *Hort Science*. – 1986. – Vol. 2(5). – P. 746-749.
43. Shen H., He X., Liu Y., Chen Y., Tang J., Guo T. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets // *Frontiers in microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – 841 p.
44. Taha R.A., Hassan H.S.A., Shaaban E.A. Effect of different potassium fertilizer forms on yield, fruit quality and leaf mineral content of Zebda mango trees // *Middle-East Journal of Scientific Research*. – 2014. – Vol. 21(1). – P. 123-129.
45. Pervez M.A., Ayyub C.M., Shabeen M.R. Noor M.A. Determination of Physiomorphological Characteristics of Potato Crop Regulated by Potassium Management // *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. – 2013. – Vol. 50. – P. 611-615.
46. Linkohr B.I. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis // *The Plant Journal*. – 2002. – Vol. 29. – №. 6. – P. 751-760.
47. Harris S.A., Robinson J.P., Juniper B.E. Genetic clues to the origin of the apple // *Trends in Genetics*. – 2002. – Vol. 18(8). – P. 426-430.
48. Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Utilisation of identified simple sequence repeats (SSRs) in *Malus domestica* (apple) for germplasm characterization // *HortScience*. – 1996. – Vol. 31. – 619 p.
49. Hokanson S.C., Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* Borkh. core subset collection // *Theoretical and applied genetics*. – 1998. – Vol. 97. – №. 5-6. – P. 671-683.
50. Moriya S., Iwanami H., Okada K., Yamamoto T., Abe K. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers // *Euphytica*. – 2011. – Vol. 177(1). – P. 135-150.
51. Goulão L., Oliveira, C.M. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers // *Euphytica*. –2001. – Vol. 122(1). – P. 81-89.

А.С. Нұртаза^{1,2}, А.К. Есимсеитова¹, В.К. Каримова¹, Г.К. Магзумова¹, Б.Н. Бақтыбай¹,
С.Ж. Кабиева¹, А.А. Какимжанова¹

¹Ұлттық биотехнология орталығы, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

²Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Сирек кездесетін *Malus niedzwetzkyana* топырақта бейімделуіне және өсуіне әсер ететін факторларды оңтайландыру

Аңдатпа. Қалалар мен елді мекендерді көгалдандыру үшін жабайы алма ағашының сәндік және сирек кездесетін түрі - *Malus niedzwetzkyana* отырғызу көзделеді. Жоғары сапалы отырғызу материалын алу үшін микроклональды көбею әдісі кеңінен қолданылады. Зерттеуде микроклональды көбею нәтижесінде алынған оранжерея мен жылыжай жағдайында *Malus niedzwetzkyana* микроөркендерін бейімделу және белсенді өсу шарттары оңтайландырылды. Бейімделу үшін тамырланған микроөркендерді топыраққа әр түрлі рН-мен отырғызылды. Нәтижелер көрсеткендей, микроөркендерді бейімдеудің оңтайлы шарты - перлитпен бейтараптандырылған шымтезек, ал суару үшін оңтайлы шешім KNO_3 болып табылады, жерсінуі деңгейі 95% құрады. Жылыжай жағдайында одан әрі өсу үшін суаруға арналған тыңайтқыштың 3 түрі зерттелді: мочеви́на (азот), суперфосфат (фосфор), калий сульфаты (калий).

Malus niedzwetzkyana-да жерсінуінің жоғары деңгейі және барлық параметрлер бойынша ең үлкен өсім фосформен тыңайтқышпен суару арқылы алынды. Сондай-ақ, аналық ағаш пен алынған клондар арасындағы генетикалық сәйкестілікке талдау жүргізілді. HI04A08, CN444542, Aj000761 маркерлерін қолдана отырып, SSR талдауы бастапқы ағаш пен алынған клондар арасындағы толық сәйкестікті көрсетті. Бұл *Malus niedzwetzkyana* микроклональды көбеюі генетикалық тұрақты, сау көгалдандыру материалын алудың тиімді әдісі екенін растайды.

Түйін сөздер: микроклональды көбею, *Malus niedzwetzkyana*, шымтезек, тыңайтқыш, SSR маркерлері.

A.S. Nurtaza^{1,2}, A.K. Yessimseitova¹, V.K. Karimova¹, G.K. Magzumova¹, B.N. Baktybay¹,
S.Zh. Kabieva¹, A.A. Kakimzhanova¹

¹National Center for Biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

²L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Optimization of factors affecting the adaptation and growth of plants in the soil of the rare *Malus niedzwetzkyana*

Abstract. Planting of a decorative and rare species of wild apple *Malus niedzwetzkyana* is provided for landscaping of cities. To obtain high-quality planting material, there is wide use of the method of micropropagation. In this study, there were optimized the conditions of adaptation and active growth of micro shoots of *Malus niedzwetzkyana* in the growth room and greenhouse were obtained by micropropagation. For adaptation, rooted micro shoots were planted in soil with different pH. The results showed that neutralized peat with perlite is the optimal condition for the adaptation of micro-shoots, and KNO_3 is the optimal solution for irrigation, where the survival rate was 95%. For further growth in greenhouse conditions, 3 types of fertilizers for irrigation were studied such as carbamide (nitrogen), superphosphate (phosphorus), potassium sulfate (potassium).

High survival rate and the greatest increase in all parameters in *Malus niedzwetzkyana* were obtained by watering with fertilizer with phosphorus. Also, an analysis of the genetic identity between the mother tree and the clones was carried out. SSR analysis using markers HI04a08, CN444542, Aj000761 showed complete identity between the original tree and the resulting clones. This confirms

that micropropagation of *Malus niedzwetzkyana* is an effective method for obtaining genetically stable, healthy planting material for landscaping.

Keywords: micropropagation, *Malus niedzwetzkyana*, peat, fertilizers, SSR markers.

References

1. Imam A.U.K., Banerjee U.K. Urbanisation and greening of Indian cities: Problems, practices, and policies. *Ambio*, 45(4), 442-457 (2016).
2. Jim C.Y. Sustainable urban greening strategies for compact cities in developing and developed economies. *Urban Ecosystems*, 16(4), 741-761 (2013).
3. Carinanos P., Calaza-Martínez P., O'Brien L., Calfapietra C. The cost of greening: disservices of urban trees. *The Urban Forest*, 7, 79-87 (2017).
4. Jennings V., Browning M.H.E.M., Rigolon A. *Urban Green Spaces: Public Health and Sustainability in the United States*. Springer International Publishing, 8 (2019).
5. Rey Benayas J.M., Bullock J.M. Restoration of Biodiversity and Ecosystem Services on Agricultural Land. *Ecosystems*, 15, 883-899 (2012).
6. Kaya L.G., Kaynakci-Elinc Z., Yucedag C., Cetin M. Environmental outdoor plant preferences: a practical approach for choosing outdoor plants in urban or suburban residential areas in Antalya, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(12), 7945-7952 (2018).
7. SHalpykov K.T., Dolotbakov A.K. Raznoobrazie form YAbloni Nedzveckogo (*Malus niedzwetzkyana*) v yuzhnom Kyrgyzstane. Materialy Mezhdunarodnoj konferencii, Baku [Variety of forms of the Niedzwetsky Apple tree (*Malus niedzwetzkyana*) in southern Kyrgyzstan. Materials of the International conference "Diversity, characterization and utilization of plant genetic resources for enhanced resilience to climate change", Baku], 116-117 (2011). [in Russian]
8. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China. *Genet Resour Crop Evol*, 55, 171-181 (2007).
9. Ji X.H., Wang Y.T., Zhang R., Wu S.J., An M.M., Li M., Chen X.S. Effect of auxin, cytokinin and nitrogen on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 120(1), 325-337 (2015).
10. Reim S., Flachowsky H., Michael M., Hanke M-V. Assessing gene flow in apple using a descendant of *Malus sieversii* var. *sieversii* f. *niedzwetzkyana* as an identifier for pollen dispersal. *Environ Biosafety Res*, 5(89), 104 (2006).
11. Wang N., Zhang Z., Jiang S., Xu H., Wang Y., Feng S., Chen X. Synergistic effects of light and temperature on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 127, 217-227 (2016).
12. Wilson B., Mills M., Kulikov M., Clubbe C. The future of walnut-fruit forests in Kyrgyzstan and the status of the iconic Endangered apple *Malus niedzwetzkyana*. *Oryx*, 53(3), 415-423 (2019).
13. Yang M., Che S., Zhang Y., Song W., Yan G., Yu W. *Malus niedzwetzkyana* (Dieck) Langen transcriptome comparison and phylogenetic analysis with *Malus sieversii* (Ledeb) Roem. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67(2), 313-323 (2020).
14. Tahtadzhyana A.L. *Krasnaya kniga. Dikorastushchie vidy flory SSSR, nuzhdayushchiesya v ohrane*. [Red Book. Wild species of flora of the USSR in need of protection]. (Nauka, 1975, 204 p.). [in Russian]
15. International Union for Conservation of Nature. [Electronic resource] – Available at: <http://www.iucnredlist.org/search>. (Accessed: 29.10.2021).
16. Dzhangaliev A.D. *Dikaya yablonya Kazahstana*. [Wild apple tree of Kazakhstan]. (Nauka, 1977, 276 p.). [in Russian]

17. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(1), 171-181 (2008).
18. SHestak K.V. Evaluation of ornamental characteristics of vegetative development of the introducents in the Arboretum of Reshetnev University, *Plodovodstvo, semenovodstvo, introdukciya drevesnyh rastenij*. [Fruit growing, seed growing, introduction of woody plants], 23, 149-152 (2020). [in Russian]
19. Yan F., Yu-min Y.A.N. Applications of *Malus pumila* var. *niedzwetzkyana* Schneid in Gardens of Northern China. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 3, 99-101 (2012).
20. Yushkov A.N., Saveleva N.N., Borzykh N.V., Zemisov A.S., Chivilev V.V., Vislobokov A.V. Special characteristics of water regime of high-potential decorative varieties and forms of the genus *Malus* Mill. *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*, 11(10), 1-8 (2020).
21. Firsov G.A., Tkachenko K.G., Vasil'ev N.P., Volchanskaya A.V. Nekotorye itogi i perspektivy introdukcii vidov roda *Malus* mill. v botanicheskom sadu Petra Velikogo [Some results and prospects of the introduction of species of the genus *Malus* mill. in the botanical garden of Peter the Great], *Byulleten' Botanicheskogo sada-instituta DVO RAN*, 13, 17-33 (2015). [in Russian]
22. Ziauka J., Kuusienė S. Multiplication and growth of hybrid poplar (*Populus alba* × *P. tremula*) shoots on a hormone-free medium. *Acta Biologica Hungarica*, 65(3), 346-354 (2014).
23. Bhojwani S. S., Dantu P. K. *Plant tissue culture: an introductory text*. (India, Springer, 2013, №. 574.0724/B575).
24. Teixeira J.A., Kher M.M., Soner D., Nataraj M. Red sandalwood (*Pterocarpus santalinus* L. f.): biology, importance, propagation and micropropagation. *Journal of Forestry Research*, 30, 745-754 (2019).
25. Guangjie Z., Zhanbin W., Dan W. In vitro propagation and ex vitro rooting of blueberry plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 18(2), 187-195 (2008).
26. Thomas G. W. Soil pH and soil acidity. *Methods of soil analysis: part 3 chemical methods*, 5, 475-490 (1996).
27. Alewell C., Matzner E. Reversibility of soil solution acidity and of sulfate retention in acid forest soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 71 (1), 155-165 (1993).
28. Deng F., Ma F., Shu H. Growth and physiological responses of five *Malus* species to the pH of hydroponic solutions. *African Journal of Agricultural Research*, 7 (16), 2519-2526 (2012).
29. De Almeida M.R., Aumond M., Da Costa C.T., Schwambach J., Ruedell C.M., Correa L.R., Fett-Neto A.G. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees*, 31, 1377-1390 (2017).
30. Leyser O., Fitter A. Roots are branching out in patches. *Trends in plant science*, 3(6), 203-204 (1998).
31. Dampney P., Wale S., Sinclair A. Review Potash Requirements of Potatoes. Report of Agriculture & Horticulture Development Board, Kenilworth, England, 8-26 (2011).
32. Havlin J.L., Beaton J.D., Tisdale S.L., Nelson W.L. *Soil acidity and alkalinity. Soil fertility and fertilizers*. Pearson Prentice Hall. New Jersey, 7, 45-96 (2005).
33. Abd El-Latif K.M., Osman E.A.M., Abdullah R., Abdel Kader N. Response of Potato Plants to Potassium Fertilizer Rates and Soil Moisture Deficit. *Advances in Applied Science Research*, 2, 388-397 (2011).
34. Brady N.C., Weil R.R., Weil R.R. *The nature and properties of soils*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 13, 662-710 (2008).
35. Trindade H., Pais M.S. In vitro studies on *Eucalyptus globulus* rooting ability. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 33(1), 1-5 (1997).
36. Andersen A.S. Environmental influences on adventitious rooting in cuttings of non-woody species. *New root formation in plants and cuttings*. Springer, Dordrecht, 223-253 (1986).

37. O'Neill M.A., Eberhard S., Albersheim P., Darvill A.G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. *Science*, 294(5543), 846-849 (2001).
38. Haissig B.E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. New root formation in plants and cuttings. Springer, Dordrecht, 141-189 (1986).
39. Bellamine J., Penel C., Greppin H., Gaspar T. Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation. *Plant growth regulation*, 6(3), 191-194 (1998).
40. Read P.E. Introduction to the symposium. *HortScience*, 22, 736-737 (1987).
41. Hartman H.T., Kester D.E. Plant propagation: principles and practices. (Prentice-Hall, 1975, 21 p.).
42. Hansen J. Stock plant lighting and adventitious root formation. *Hort Science*, 22(5), 746-749 (1986).
43. Shen H., He X., Liu Y., Chen Y., Tang J., Guo T. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. *Frontiers in microbiology*, 7, 841 (2016).
44. Taha R.A., Hassan H.S.A., Shaaban E.A. Effect of different potassium fertilizer forms on yield, fruit quality and leaf mineral content of Zebda mango trees. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 21(1), 123-129 (2014).
45. Pervez M.A., Ayyub C.M., Shabeen M.R., Noor M.A. Determination of Physiomorphological Characteristics of Potato Crop Regulated by Potassium Management. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 50, 611-615 (2013).
46. Linkohr B.I. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis, *The Plant Journal*, 29(6), 751-760 (2002).
47. Harris S.A., Robinson J.P., Juniper B.E. Genetic clues to the origin of the apple. *Trends in Genetics*, 18(8), 426-430 (2002).
48. Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Utilisation of identified simple sequence repeats (SSRs) in *Malus domestica* (apple) for germplasm characterization. *HortScience*, 31, 619 (1996).
49. Hokanson S.C., Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* Borkh. Core subset collection. *Theoretical and applied genetics*, 97 (5-6), 671-683 (1998).
50. Moriya S., Iwanami H., Okada K., Yamamoto T., Abe K. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 177(1), 135-150 (2011).
51. Goulão L., Oliveira, C.M. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*, 122(1), 81-89 (2001).

Сведения об авторах:

Нұртаза А.С. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Есимсеитова А.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Каримова В.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Магзумова Г.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Бақтыбай Б.Н. – младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Кабиева С.Ж. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Какимжанова А.А. – д.б.н., доцент, зав. лабораторией биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Nurtaza A.S. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Yessimseitova A.K. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Karimova V.K. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Magzumova G.K. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Baktybai B.N. – Junior Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kabieva S.ZH. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kakimzhanova A.A. – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.