

УДК 581.143.6:635.925

Т. Г. Леконцева, А. В. Худякова, А. Н. Исаева, А. В. Федоров

Отдел интродукции и акклиматизации растений УдНЦ УрО РАН, Ижевск, Россия

ОПТИМИЗАЦИЯ НЕКОТОРЫХ ЭТАПОВ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ЧАЙНО- ГИБРИДНОЙ РОЗЫ СОРТА АНЖЕЛИКА

При клональном микроразмножении чайно-гибридной розы сорта *Angelique* показан положительный эффект совместного применения 1 мг/л 6-бензиламинопурина и 20 мг/л аденина на этапе пролиферации. Оптимальной для ризогенеза регенерантов являлась среда Гамборга-Эвелега (частота укоренения 83.6%). На этапе адаптации выявлено существенное улучшение биометрических показателей (высота микросаженцев, количество листьев) при использовании коммерческого почвенного субстрата «Универсальная земля садовая». Внекорневая обработка регулятором роста «Силиплант» способствовала увеличению выхода адаптированных растений на 7.7% (при НСР₀₅ 6.9%).

Ключевые слова: чайно-гибридная роза сорта Анжелика; микроклональное размножение; пролиферация; адаптация; регуляторы роста.

T. G. Lekontseva, A. V. Khudyakova, A. N. Isaeva, A. V. Fedorov

Introduction and Plant Establishment Department, Udmurt Scientific Center of the Ural Branch RAS, Izhevsk, Russian Federation

OPTIMIZATION OF SOME STAGES OF MICROCLONAL PROPAGATION OF A TEA-HYBRID ROSE OF ANGELIC SORT

The micropropagation of the *Angelique* tea-hybrid rose was studied. The results showed that the joint use of 1 mg / L of 6-benzylaminopurine and 20 mg / L adenine had a positive effect on proliferation. The highest rhizogenesis of regenerants was obtained on Gamborg-Eveleigh medium (rooting frequency 83.6%). It was observed that significant improvement in biometric parameters (the height of regenerated shoots, the number of leaves) was when using the commercial soil substrate "Universal Garden Land" at the adaptation stage. The results also showed that foliar treatment with a plant growth regulator "Siliplant" contributed to an increase in the yield of adapted plants by 7.7% (for LSD 6.9%).

Key words: tea-hybrid rose of Angelic sort; microclonal propagation; proliferation; adaptation; plant growth regulators.

Введение

Роза (*Rosa* spp.) является одной из самых важных цветочных культур в мире и имеет экономическую ценность в цветоводстве, фармацевтической и косметической промышленности [Canli, Kazaz, 2009]. Она культивируется с давних времен в странах азиатского континента и Древней Греции, а современное садоводство в мире невозможно представить без роз [Капелян, 2016]. Мировая коллекция роз насчитывает около 25 тысяч сортов. Современные садовые розы подразделяются на 10 групп, наиболее интересными из них считаются чайно-гибридные, флорибунда, полиантовые, выющиеся и парковые розы.

Чайно-гибридные розы получены в результате повторных скрещиваний различных сортов ремонтантной группы с чайными розами и характеризуются богатым разнообразием окраски цветков, прекрасным ароматом, обильным и продолжительным цветением. Чайно-гибридные розы особенно эффектны в групповых и солитерных посадках на переднем плане. Пригодны они также для срезки и зимней выгонки [Чаховский и др., 1988].

Большой популярностью у отечественных и зарубежных цветоводов пользуется высокодекоративный сорт немецкой селекции Анжелика (*Angelique*). Он отличается обильным цветением и равномерностью расположения крупных ярких ло-

сосево-оранжевых цветков на компактном кусте. Также к достоинствам сорта можно отнести и то, что роза неплохо переносит зиму и очень редко болеет.

Традиционный способ размножения роз – вегетативный: прививки, черенкование, реже отводки. Однако данный способ является трудоемким, подразумевает содержание маточников, наличие туманообразующей установки. Биотехнология стала важной альтернативой основным системам размножения роз. Биотехнологические приемы, в том числе методы клонального микроразмножения, позволяют ускорить размножение ценных генотипов и получить оздоровленный безвирусный посадочный материал для закладки промышленных плантаций высокопродуктивных сортов [Баранова и др., 2009; Егорова, Ставцева, Митрофанова, 2016].

При микроклональном размножении декоративных сортов роз большое значение имеет использование определённой концентрации регуляторов роста, её увеличение ведёт к витрификации побегов и образованию неморфогенного каллуса, а уменьшение – к приостановке морфогенетической активности [Зонтиков, Зонтикова, 2011]. Еще одним критическим этапом в клональном микроразмножении является перевод растений из стерильных условий культивирования в нестерильные [Упадышев, Высоцкий, 1992].

Поэтому цель работы – подбор оптимальной питательной среды на этапах микроклонального размножения и почвенного субстрата при адаптации чайно-гибридной розы на примере сорта Анжелика (Angelique).

Объект и методы исследования

Объектом исследования служил сорт чайно-гибридной розы Angelique (W. Kordes' Sohne, 1980). В качестве исходных эксплантов использовали 1-2-почковые черенки. Для удаления поверхностной загрязненности их промывали 30 мин. под проточной водой. Стерилизацию сегмента побега проводили в условиях ламинар-бокса в концентрированной перекиси водорода (33%) в течение 5–7 мин. с последующей 5-кратной промывкой стерильной дистиллированной водой.

Экспланты высаживали в пробирки с агаризованной питательной средой Мурасиге и Скуга (МС), pH 5.7 [Murashige, Skoog, 1962], дополненной 6-бензиламинопурином (БАП) в концентрации 0.2 мг/л. Культивирование микрочеренков проводилось в светоконате при температуре 25±2°C, фотопериод 16 ч. Продолжительность каждого субкультивирования составляла 30–35 дней.

На этапе пролиферации в базовую среду МС добавляли регуляторы роста – БАП и аденин (Ад) в нескольких комбинациях. Коэффициент размножения рассчитывали как количество микрочеренков, полученных за одно субкультивирование с пробирки.

На этапе укоренения были испытаны среды МС с половинной концентрацией макро- и микросолей (Контроль), Гамборга-Эвелеге (B5) [Gamborg, Eveleigh, 1968] и Зленко [Зленко, Котиков, Трошин, 2005], дополненные индоллил-3-уксусной кислотой в концентрации 0.25-1.0 мг/л. Для оценки эффективности ризогенеза подсчитывали частоту укоренения (процентное соотношение укоренённых черенков к общему количеству черенков, высаженных на среду для индукции ризогенеза).

На этапе адаптации использовали различные почвенные субстраты: низинный торф, вермикулит, биогумус в соотношении 1:0.3:0.3 (лабораторная почвосмесь, контроль); верховой фрезерованный торф, известняковая мука, комплексное минеральное удобрение с микроэлементами («Торфолин А», ООО «Фаско»); верховой и переходный торф, биогумус, известняковая мука, комплексное удобрение («Универсальная земля садовая», ООО «Экопром»). Была проведена оценка эффективности опрыскивания биостимуляторами роста «Силиплант», «Эпин-экстра» и «НВ 101» на адаптацию микроросаженцев роз, контролем служил вариант опрыскивания дистиллированной водой.

Опыты проводили в 3-кратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 15 эксплантов. Экспериментальные данные обработаны статистически согласно общепринятым методам с использованием программы Microsoft Office Excel.

Результаты и их обсуждение

Черенки розы, отобранные в июне, после стерилизации высаживали на модифицированную среду МС. Успешность введения в культуру *in vitro* составила 60, погибших – 30, инфицированных – 10%.

Существенное влияние на морфогенез при клональном микроразмножении оказывают регуляторы роста, среди которых ведущая роль на этапе собственно микроразмножения отводится цитокининам. Скорости и степень пролиферации зависят от типа цитокинина и его концентрации. Наряду с цитокининами рекомендуется вводить в состав среды и производные аденина, роль которого в процессах морфогенеза в культуре тканей мало изучена [Матушкина, Пронина, 2010].

Для изучения влияния экзогенных регуляторов роста на пролиферацию использовали синтетический цитокинин БАП и аденин. За контроль был выбран вариант с 1 мг/л БАП без добавления аденина (таблица). Среди изученных комбинаций значительное увеличение коэффициента размножения относительно контроля наблюдалось в присутствии 1 мг/л БАП и 20 мг/л аденина (на 1.3 побегов на черенок при $NSP_{05}=1.2$). В остальных вариантах разница была незначительна. В то же время длина побегов не зависела ни от концентрации регуляторов роста, ни от присутствия в среде аденина. Положительное влияние на рост микрочеренков розы оказало совместное действие БАП и аденина в

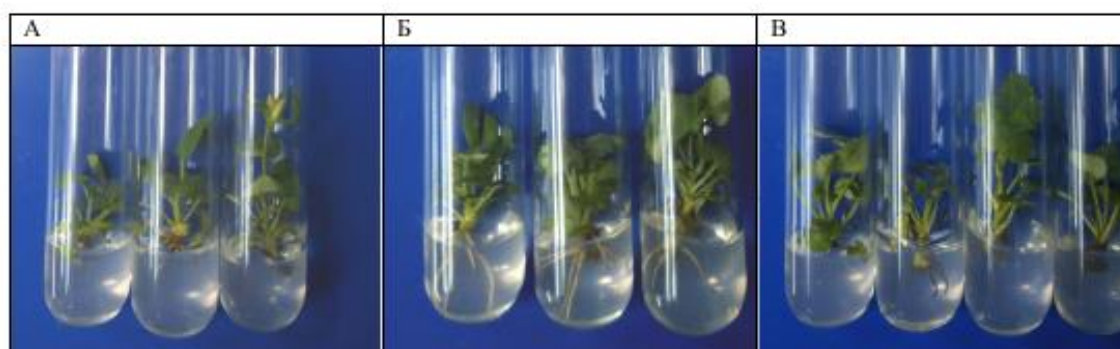
концентрациях 1 и 60 мг/л соответственно, однако разница была недостоверна. О.В. Матушкина, И.Н. Пронина [2010] отмечали целесообразность совместного использования БАП и аденин-сульфата (50 мг/л) для лучшего развития побегов яблони и груши на этапе пролиферации. Кроме того, субкультивирование с этими регуляторами роста улучшало пригодность черенков к ризогенезу.

Влияние регуляторов роста на пролиферацию и рост микрочеренков розы сорта Анжелика

Регулятор роста, мг/л	Коэффициент размножения, шт./чер.	Высота, мм
БАП,1+Ад,0 (Контроль)	3.3	20.5
БАП,1+Ад,20	4.6	20.7
БАП,1+Ад,40	3.1	18.5
БАП,1+Ад,60	3.1	22.7
БАП,2+Ад,0	3.2	19.4
БАП,2+Ад,20	4.1	19.5
БАП,2+Ад,40	3.9	19.3
БАП,2+Ад,60	4.0	19.6
НСР ₀₅	1.2	3.7

Для укоренения микрочеренков роз использовали три варианта питательных сред: МС с половинной концентрацией макро- и микросолей (Контроль), В5 и питательную среду по Зленко и др., рекомендованную для винограда (рисунок) [Федоров, Леконцева, Исаева, 2016]. Лучше всего процесс ризогенеза протекал на среде В5 (частота укоренения 83.6%), хуже – на ½ МС (43.9%), на среде по Зленко этот показатель составил 70.0%.

На этапе адаптации при использовании трех вариантов почвосмеси приживаемость микросаженцев варьировала от 80 (лабораторная) до 100% («Универсальная земля садовая»). Выявлено существенное увеличение высоты роз при использовании субстратов «Универсальная земля садовая» и «Торфолин А» – 39.9 и 37.5 мм соответственно по сравнению с контролем (26.5 мм, НСР₀₅= 6.2). Облиственность адаптированных растений была максимальной при росте на «Универсальной земле садовой» (5.7 шт.), в варианте с использованием почвосмеси «Торфолин А» отличие было недостоверным относительно контроля (5.1 и 4.2 шт. соответственно при НСР₀₅=1.4).



Ризогенез розы сорта Анжелика на питательных средах МС с половинной концентрацией минеральных солей (А), В5 (Б) и Зленко (В)

Для изучения влияния внекорневых обработок на розы сорта Анжелика саженцы высаживали на «Универсальную землю садовую». При опрыскивании адаптируемых микросаженцев положительное влияние наблюдалось только при использовании препарата «Силиплант» – выход адаптированных растений увеличился на 7.7% в сравнении с контролем (92.1%) при НСР₀₅=6.9. Действие «Эпин-экстра» практически не отличалось от контроля (90.2%). Хуже всего в качестве регулятора роста проявил себя препарат «НВ 101», выход адаптированных растений составил 83.8%. По биометрическим показателям (высота микросаженцев, количество листьев) существенных отличий не обнаружено. В то же время, по данным Н.П. Несмеловой, Е.Н. Сомовой [2015], для послепосадочной обработки микрорастений жимолости методом опрыскивания наиболее эффективными

среди различных препаратов оказались «НВ 101» и «Рибав-экстра».

Таким образом, на этапе пролиферации показана целесообразность совместного использования БАП в концентрации 1 мг/л и аденина (20 мг/л), коэффициент размножения при этом составил 4.6 побегов на черенок, в контроле – 3.3 (НСР₀₅=1.2). Ризогенез лучше протекал на среде Гамборга-Эвелгеа (частота укоренения 83.6%). На этапе адаптации при использовании коммерческого субстрата «Универсальная земля садовая» выявлено существенное улучшение таких биометрических показателей микросаженцев, как высота и количество листьев. При внекорневых обработках регуляторами роста выявлено увеличение выхода адаптированных растений при использовании препарата «Силиплант» (на 7.7% при НСР₀₅=6.9).

Библиографический список

- Баранова О.Г. и др. Основы микроразмножения редких растений: учеб.-метод. пособие. Ижевск: Изд-во Удмурт. ун-та, 2009. 64 с.
- Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В. Влияние сорта и факторов культивирования in vitro на клональное микроразмножение розы эфиромасличной // Бюллетень ГНБС. 2016. Вып. 120. С. 36–43.
- Зленко В.А., Котиков И.В., Трошин Л.П. Размножение оздоровленного посадочного материала винограда в культуре in vitro // Садоводство и виноградарство. 2005. № 1. С. 21–23.
- Зонтиков Д.Н., Зонтикова С.А. Особенности клонального микроразмножения некоторых декоративных сортов *Rosa hybrida* // Вестник КГУ им. Н.А. Некрасова. 2011. № 5–6. С. 12–15.
- Капелян А.И. Цветение коллекции роз в Ботаническом саду Петра Великого // Цветоводство: история, теория, практика. Материалы VII Международн. науч. конф. Минск, 2016. С. 135–136.
- Матушкина О.В., Пронина И.Н. Особенности воздействия экзогенных цитокининов и их производных на регенерацию яблони и груши in vitro // Достижения науки и техники АПК. 2010. № 8. С. 34–35.
- Несмелова Н.П., Сомова Е.Н. Влияние состава субстрата и внекорневых обработок регуляторами роста на выход адаптированных растений жимолости синей // Вестник НГАУ. 2015. Вып. 3(36). С. 25–30.
- Упадышев М.Т., Высоцкий В.А. Совершенствование процесса клонального микроразмножения ежевики и малины черной // Совершенствование технологий выращивания ягодных культур. М., 1992. С. 42–53.
- Федоров А.В., Леконцева Т.Г., Исаева А.Н. Перспективы биотехнологического метода при интродукции *Vitis vinifera* L. в Удмуртской республике // Современные тенденции сохранения, восстановления и обогащения фиторазнообразия ботанических садов и дендропарков: материалы междунар. науч. конф. Белая Церковь, 2016. С. 333–335.
- Чаховский А.А. и др. Красивоцветущие кустарники для садов и парков: справ. пособие. Мн.: Ураджай, 1988. 144 с.
- Canli F.A., Kazaz S. Biotechnology of roses: progress and future prospects // Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi. 2009. Seri. A. P. 167–183.
- Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. 1968. Vol. 46. № 5. P. 417–421.
- Murashige T., Skoog F. A revized medium for rapid growth and bioassays whith tobacco tissue culture // Physiologia plantarum. 1962. Vol. 15. P. 437–497.
- References**
- Baranova O.G., Dedyuhina O.N., Kitova E.A., eds. *Osnovy mikrorazmnoženija redkich rastenij* [Fundamentals of micropropagation of rare plants: Textbook]. Izhevsk, Udmurtskij universitet Publ., 2009. 64 p. (In Russ).
- Canli F.A., Kazaz S. Biotechnology of roses: progress and future prospects. Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi. 2009. Seri. A: pp. 167–183.
- Chahovskij A.A., Burova E.H.A., Orlenok E.I., Gusarova L.P. *Krasivocvetuščie kustarniki dlja sadov i parkov* [Beautifully flowering shrubs for gardens and parks: Textbook]. Minsk, Uradzhaj Publ., 1988. 144 p. (In Russ).
- Egorova N.A., Stavceva I.V., Mitrofanova I.V. [Influence of cultivar and in vitro cultivation factors on clonal micropropagation of rose with essential oil]. *Byulleten' GNBS*, Iss. 120 (2016): pp. 36–43. (In Russ).
- Fedorov A.V., Lekonceva T.G., Isaeva A.N. [Prospects of the biotechnological method with the introduction of *Vitis vinifera* L. in the Udmurt Republic]. *Sovremennye tendencii sochranenija, vosstanovlenija i obogaščeniya fitoraznoobrazija botaničeskich sadov i dendroparkov* [Materials of International scientific conference White Church]. 2016. pp. 333–335. (In Russ).
- Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* Vol. 46, N 5 (1968): pp. 417–421.
- Kapelyan A.I. [Blossoming of a collection of roses in the Botanical Garden of the Great Peter]. *Cvetovodstvo: istoriya, teoriya, praktika* [Floriculture: history, theory, practice. Materials of VII International scientific conference]. Minsk, 2016, pp. 135–136. (In Russ).
- Matushkina O.V., Pronina I.N. [Features of the effects of exogenous cytokinins and their derivatives on the regeneration of apple and pear in vitro]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, N 8 (2010): pp. 34–35. (In Russ).
- Murashige T., Skoog F. A revized medium for rapid growth and bioassays whith tobacco tissue culture. *Physiologia plantarum*, V. 15 (1962): pp. 437–497.
- Nesmelova N.P., Somova E.N. [Effect of substrate composition and foliar treatments by growth regulators on the yield of adapted blue honeysuckle plants]. *Vestnik NGAU*, Iss. 3(36) (2015): pp. 25–30. (In Russ).
- Upadyshv M.T., Vysockij V.A. [Improving the process of clonal micropropagation of blackberry

and raspberry black]. *Soveršenstvovanie tehnologii vyrašĉivaniya jagodnykh kul'tur* [Improvement of technologies of growing crops]. Moscow, 1992. pp. 42–53. (In Russ).

Zlenko V.A., Kotikov I.V., Troshin L.P. [Propagation of a healthy planting stock of grapes in vitro condition]. *Sadovodstvo i vinogradarstvo*, N 1

(2005): pp. 21–23. (In Russ).

Zontikov D.N., Zontikova S.A. [Features of clonal micropropagation of some decorative sorts *Rosa hybrida*]. *Vestnik KGU im. N.A. Nekrasova*, N 5–6 (2011): pp. 12–15. (In Russ).

Поступила в редакцию 12.09.2017

Об авторах

Леконцева Татьяна Германовна, научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений
ФГБУН Удмуртский научный центр УрО РАН
ORCID: 0000-0002-6659-0504
426067, г. Ижевск, ул. Т. Барамзиной, 34;
t.lekontseva@yandex.ru; (3412)508200

Худякова Анна Валерьевна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений
ФГБУН Удмуртский научный центр УрО РАН
ORCID: 0000-0002-0125-9335
426067, г. Ижевск, ул. Т. Барамзиной, 34;
nuta-max@ya.ru; (3412)508200

Исаева Аlesia Николаевна, младший научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений
ФГБУН Удмуртский научный центр УрО РАН
426067, г. Ижевск, ул. Т. Барамзиной, 34;
alesyaisaeva@mail.ru

Федоров Александр Владимирович, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий отделом интродукции и акклиматизации растений
ФГБУН Удмуртский научный центр УрО РАН
ORCID: 0000-0002-0068-8787
426067, г. Ижевск, ул. Т. Барамзиной, 34;
udmgarden@mail.ru; (3412)508200

About the authors

Lekontseva Tatiana Germanovna, scientist researcher of the Introduction and Plant Establishment Department
Udmurt Scientific Center of the Ural Branch RAS
ORCID: 0000-0002-6659-0504
34, T. Baramzina str., Izhevsk, Russia, 426067;
t.lekontseva@yandex.ru; (3412)508200

Khudyakova Anna Valer'evna, candidate of biology, junior scientist researcher of the Introduction and Plant Establishment Department
Udmurt Scientific Center of the Ural Branch RAS.
ORCID: 0000-0002-0125-9335
34, T. Baramzina str., Izhevsk, Russia, 426067;
nuta-max@ya.ru; (3412)508200

Isaeva Alesya Nikolaevna, junior scientist researcher of the Introduction and Plant Establishment Department
Udmurt Scientific Center of the Ural Branch RAS.
34, T. Baramzina str., Izhevsk, Russia, 426067;
alesyaisaeva@mail.ru

Fedorov Aleksandr Vladimirovich, doctor of agricultural sciences, head of Introduction and Plant Establishment Department
Udmurt Scientific Center of the Ural Branch RAS.
ORCID: 0000-0002-0068-8787
34, T. Baramzina str., Izhevsk, Russia, 426067;
udmgarden@mail.ru; (3412)508200