

УДК 58.083:582.734.4

А.В. Веретенников, О.А. Землянухина, Н.Е. Образцова

Землянухина Ольга Александровна родилась в 1954 г., окончила Воронежский государственный университет, кандидат биологических наук, научный сотрудник НИИ лесной генетики и селекции. Имеет 25 печатных трудов в области энзимологии и общей физиологии и биохимии микроорганизмов и растений, культуры тканей высших растений.



Образцова Наталья Евгеньевна родилась в 1970 г., окончила в 1993 г. Воронежский лесотехнический институт, старший лаборант кафедры ботаники и физиологии растений Воронежской государственной лесотехнической академии. Имеет 1 печатную работу по микроклональному размножению розы.



ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ МЕРИСТЕМ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ РОЗЫ IN VITRO

Приведены результаты исследований по оптимизации условий культивирования 15 сортов розы в культуре тканей. Выявлены оптимальная среда микроклонального размножения и сортовые особенности розы в его процессе. Высказано предложение о возможности широкого использования метода культуры тканей в размножении розы, особенно ее трудноукореняемых черенков.

Розы являются наиболее излюбленным растением в озеленении и «срезочной» культурой, благодаря ее высокой декоративности, аромату цветов и продолжительности цветения. К сожалению, традиционные способы вегетативного размножения роз весьма трудоемки, а для особенно ценных сортов мало эффективны в силу ряда причин, в частности плохого укоренения черенков [3]. В связи с этим в последние годы в практику цветоводства все шире стали внедряться достижения клеточной инженерии с использованием микроклонального размножения *in vitro*.

Микроклональное размножение в культуре тканей позволяет на небольшой площади значительно сокращать сроки выращивания элитного высококачественного посадочного материала, свободного от вирусных, бактериальных и грибных заболеваний, а также нематод.

В нашей работе представлены данные об оптимизации некоторых условий культивирования меристем 15 сортов роз различных генетических групп *in vitro*: чайно-гибридных, Флорибунда, плетистых, Грандифлора. Материал был отобран в открытом грунте и в теплице. В качестве исходных эксплантатов были взяты отрезки побегов с пазушными почками. На первой стадии стерилизации отрезки побегов длиной 2 ... 3 см с 1-2 почками промывали проточной водой в течение 20 мин для снижения численности популяций сапрофитных микроорганизмов на их поверхности с последующей 10-минутной отмывкой в 0,2 %-м растворе Твин-40 и стерилизацией 4 %-м раствором хлорина, содержащим 0,005 %-й мертиолят (30 мин), дважды отмывали стерильной водой и помещали на 30 с в 20 %-й раствор H_2O_2 . Затем их обрабатывали 70 %-м раствором C_2H_5OH в течение 60 с. После трехкратного промывания стерильной водой растительный материал дополнительно стерилизовали бензилпенициллином (100 000 ед.) или клафораном (250 мг/л).

Стерильный материал помещали на агаризированную среду Мурасиге и Скуга (МС), дополненную гормональными добавками [2]. Посадку проводили таким образом, что базальная часть эксплантата заглублялась в среду до основания почки. Растения выставляли под свет (16-часовой фотопериод). Через сутки эксплантаты пересаживали на свежую среду того же состава из-за выделения фенольных соединений.

Для выявления оптимального состава среды из открытого грунта был взят сорт чайно-гибридных роз Дам де Кер. Эксплантаты высаживали на питательные среды в четырех вариантах: МС, содержащую 2,0 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) и 0,5 мг/л нафтилукусусной кислоты (НУК); МС без гормональных добавок; МС с половинным содержанием макросолей, $CaCl_2$; МС, содержащую 2,0 мг/л (БАП) и 0,5 мг/л индолилукусусной кислоты (ИУК).

В целях объективного изучения процессов индукции морфогенеза и оценки развития объекты были поделены на пять произвольных групп роста: 1 - 0,1 ... 0,2 см; 2 - 0,3 ... 0,5; 3 - 0,6; 4 - 0,7 ... 0,8; 5 - 0,9 см и более. Растения измеряли через один и тот же промежуток времени.

Через четыре недели культивирования на разных средах была выявлена картина развития эксплантатов, представленная в табл. 1. Основываясь на этих данных, мы для дальнейшей работы выбрали среду МС + 2,0 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК.

Для выявления различий в органогенезе между разными сортами роз в культуру ткани вводили следующие группы растений [1]: 1 - Грандифлора (сорта Куин Элизабет и Сония); 2 - Флорибунда (сорта Цикламен и Айсберг); 3 - плетистые (сорт Комсомольский огонек); 4 - чайно-гибридные (сорта Дам де Кер, Глория Дей, Гран Сьекль, Фольклер, Анжелик, Атена, Конкорд, Гоулден Вандал, Карина, Роз Гожар и Фортуна). Материал некоторых сортов был взят как из теплиц, так и из открытого грунта. Результаты опытов показали, что отпад из-за внутренней инфекции тепличных растений на 30 % выше, чем в открытом грунте. Возраст побега также играет нема-

Таблица 1

Состав среды	Группа роста	Внешний вид эксплантата
МС + 2,0 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК	5	2-3 побега с 3 развернутыми листьями
МС	4-5	1-2 побега со слабо развитыми прижатыми листьями
1/2 МС	3	Недоразвитый побег
МС + 2,0 мг/л БАП + 0,5 мг/л ИУК	5	1 побег с 1-2 развернутыми листьями, отмечено калусообразование

ловажную роль: почки с одревесневших побегов больше подвергаются заражению, чем почки молодых побегов.

При исследовании адаптации и клонирования *in vitro* указанных сортов роз разных групп были получены следующие данные (рис. 1, 2). В первые две недели наиболее интенсивно росли эксплантаты плетистой розы, но после 2-3 пассажей через 4-5 недель культивирования более мощное развитие получили чайно-гибридные сорта и Грандифлора. На них появилось много листьев, а длина побегов достигла в среднем 25 ... 30 мм по сравнению с 15 ... 20 мм у Флорибунда.

После образования из почек побегов их черенковали и изучали влияние состава питательных сред на корнеобразование микрочеренков роз 5-й группы роста (табл. 2).

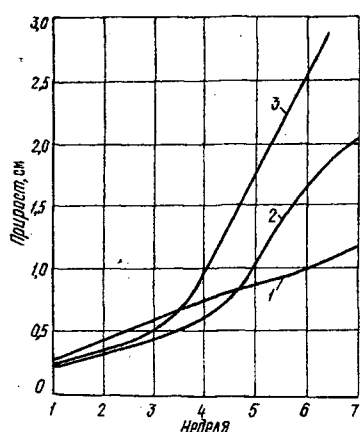


Рис. 1. Зависимость интенсивности роста различных групп роз от времени культивирования: 1 — плетистые; 2 — Флорибунда; 3 — чайно-гибридные

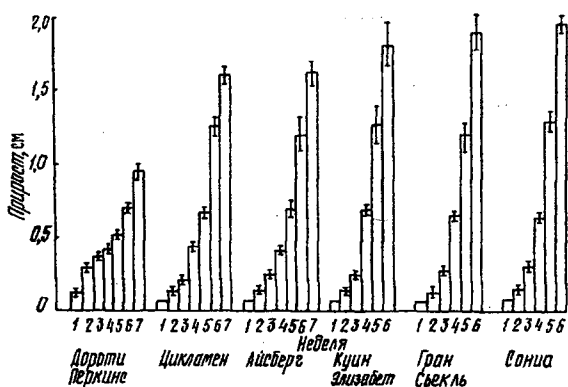


Рис. 2. Диаграмма сортового различия в зависимости от времени культивирования

Таблица 2

Состав среды	Процент укоренения через 10 дней
МС + 0,5 мг/л НУК + 1,0 БАП	30
МС + 1,0 мг/л НУК	95
1/2 МС	Пожелтение эксплантатов
МС + 0,01 мг/л ИМК	50

Видно, что оптимальной средой для быстрого ризогенеза является МС, дополненная НУК, а наиболее интенсивно корни развиваются у сорта Алена, а также сортов Фольклер и Анжелик. Кроме успешного ризогенеза, на поверхности побегов сортов Фольклер и Алена образуются каллусные ткани, которые при дальнейшем культивировании образуют растения-регенераты, пригодные для микрочеренкования.

Рассмотрение результатов клонирования различных сортов роз позволило выявить лучшие показатели их развития. При продолжительности пассажей 7 недель Фольклер образовал 7 побегов на эксплантат, Анжелик и Роз Гожар – по 6, Гран Съекль и Дам де Кер – по 5, Айсберг – 4 побега. Цикламен имел всего лишь один побег, а сорт Глория Дей в течение культивирования при аналогичных условиях погибал практически полностью. Пять первых сортов являются наиболее перспективными для выращивания посадочного материала *in vitro*.

После образования хорошо развитой корневой системы микрочеренки высаживают в тепличный грунт, где доращивают до хорошо развитого посадочного материала.

Представленные данные показывают возможность использовать метод культуры тканей для получения достаточно большого количества микроклонально размноженных растений. Он позволяет работать с посадочным материалом в лабораторных и тепличных условиях в течение круглого года и планировать готовность растений к определенному сроку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Былов В.Н., Михайлов Н.Л., Сурина Е.И. Розы. Итоги интродукции. М.: Наука, 1988.
2. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.
3. Voyiatzi Ch., Voyiatzis D.G., Tsiakmaki V. In vitro shoot proliferation rates of the rose sv. (hybrid tea) «Dr. Verhage», as affected by apical dominance regulating substances // *Sci. Hortic.* – 1995. – Vol. 61. – P. 241–249.

Воронежская государственная лесотехническая академия
НИИ лесной генетики и селекции

Поступила 09.10.96