

## ОСОБЛИВОСТІ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ ТРОЯНДИ ROSA HYBRIDA L.

**Т.М.Манушкіна**, кандидат сільськогосподарських наук  
**Л.В.Ястремська**, магістр  
Миколаївський державний аграрний університет

*Досліджено морфогенетичні потенції ізольованих апікальних меристем Rosa hybrida L. в культурі in vitro. Розроблено прийоми клонального мікророзмноження троянди.*

**Ключові слова:** троянда, клональне мікророзмноження, in vitro.

**Вступ.** Троянда є пріоритетною декоративною культурою, «королевою квітів». Різні форми троянди використовуються в ландшафтному дизайні для створення розаріїв, солітерних і видових посадок, живих огорож, бордюрів, альпінаріїв, вертикального озеленення, покриття ґрунту, а також вирощуються на зріз для створення букетів [1]. Особливо популярними для букетів є голландські троянди, які мають довге стебло, великий пуп'янок, а сучасні сорти – різноманітне забарвлення та форму квіток. Сучасний ринок троянд в Україні насичується як за рахунок імпорту зрізаних квітів з Голландії, Екватору, Коста-Ріки, так і за рахунок квітів, що вирощуються в нашій країні з саджанців голландських сортів. В структурі собівартості троянд на зріз майже 16% становить вартість посадкового матеріалу. Для підвищення конкурентоспроможності продукції квітникарські господарства розмножують рослини здерев'янілими або зеленими живцями. Однак, недоліками даних методів є невисокий коефіцієнт розмноження, низька укорінюваність деяких сортів, необхідність відведення значних площ теплиць під розсадне відділення.

На сьогодні прогресивним методом розмноження рослин є клональне мікророзмноження. Відома значна кількість робіт щодо досліджень в даній царині роду *Rosa*, до яких залучались різні види – *R. canina* L. [2], *R. damascera* Mill. [2], *R. hybrida* L.

[3], а також мініатюрні [4] та ефіроолійні [5] троянди. Представлені роботи свідчать про значний вплив генотипу на ефективність клонального мікророзмноження. У зв'язку з цим актуальним є вивчення фізіологічних особливостей морфогенезу в культурі ізолюваних меристем *in vitro* цінних сортів троянд голландської селекції та розроблення прийомів їх клонального мікророзмноження, що дозволить забезпечити тепличні господарства оздоровленим чистосортним посадковим матеріалом.

**Мета досліджень** – вивчити особливості морфогенезу в культурі ізолюваних меристем троянди *in vitro* та розробити прийоми клонального мікророзмноження промислових сортів.

**Матеріал і методи досліджень.** Матеріалом для проведення досліджень служили рослини троянди чайно-гібридної садової групи *R. hybrida* L. сортів Маруоссія, Гран Прі, Глоссі та Утопія (Голландія). Дослідження проводили на базі ПМП «Євроторг», м. Миколаїв. Донорні рослини троянди вирощували в умовах закритого ґрунту. Як експланти використовували апікальні меристеми розміром 0,8-1,0 мм, які виділяли з пазушних бруньок однорічних пагонів. При проведенні експериментальної роботи застосовували загальноприйняті в культурі ізолюваних тканин рослин методи [6]. Асептичну роботу проводили в ламінарному боксі КПП-1. Меристеми виділяли під бінокулярним мікроскопом МБС-9 при 16-кратному збільшенні. Для культивування ізолюваних меристем та мікроживців використовували як базове живильне середовище МС [7].

На кожному з етапів клонального мікророзмноження модифікували гормональний склад живильного середовища відповідно до необхідного шляху морфогенезу, додаючи 6-бензиламінопурін (БАП),  $\alpha$ -нафтилоцтову кислоту (НОК), індолілоцтову кислоту (ІОК), індолімасляну кислоту (ІМК), та вивчали вплив ендогенних і екзогенних факторів на ефективність культивування троянди *in vitro*. На етапах власне мікророзмноження і укорінення мікропагонів *in vitro* основний пагін одержаних меристемних рослин розрізали на мікроживці

довжиною 4-6 мм з одним листком, а також відділяли додаткові мікропагони довжиною 4-6 мм.

Експланти культивували в культуральній кімнаті при температурі 25-26 °С, освітленості 2-3 клк, фотоперіоді 16 годин, відносній вологості повітря 60-70%. Тривалість циклу культивування визначали експериментально, залежно від інтенсивності розвитку рослин-регенерантів. Експерименти ставили в двократній повторності, об'єм вибірки становив 20 рослин. Математичну обробку результатів дослідів проводили з використанням методів математичної статистики [8] на персональному комп'ютері за допомогою програми Excel 7.0 з пакету прикладних програм Microsoft Office® для Microsoft Windows®.

**Результати досліджень.** Однією з головних умов успішного культивування рослинних тканин *in vitro* є підтримання абсолютної асептики, оскільки грибна та бактеріальна інфекція інгібує ріст клітин і призводить до загибелі культури. Для дезінфекції рослинного матеріалу троянди застосовували ступінчасту стерилізацію. Найбільш ефективною як для звільнення експлантів від контамінації, так і для збереження їх життєздатності виявилася ступінчаста стерилізація з використанням етанолу та гіпохлориду натрію (табл. 1).

Таблиця 1

**Ефективність способів стерилізації апікальних меристем *R. hybrida* L.**

Сорт	Етанол 70% – 40 с, «Брадофен» 50% – 12 хв.		Етанол 70% – 40 с, гіпохлорид натрію 1% – 5 хв.		Етанол 70% – 40 с, діацид 0,1% – 5 хв.	
	інфікованість, %	життєздатність, %	інфікованість, %	життєздатність, %	інфікованість, %	життєздатність, %
Маруосія	22,5±2,5	70,0±5,0	0,0	97,5±2,5	0,0	75,0±5,0
Гран Прі	30,0±5,0	62,5±2,5	5,0±0,0	90,0±0,0	10,0±5,0	55,0±5,0
Глоссі	10,0±0,0	60,0±5,0	0,0	100,0±0,0	0,0	45,0±5,0
Утопія	10,0±0,0	40,0±5,0	0,0	100,0±0,0	15,0±0,0	42,5±2,5

Дослідження показали, що поверхнева стерилізація забезпечувала вихід стерильних меристем на рівні **95-100%**. Не було відмічено фітотоксичної дії вказаних стерилізуючих агентів на рослинні тканини троянди. Життєздатність меристем складала **95-100%**, тоді як в інших варіантах досліду життєздатність меристем знижувалася до **75-45%**.

Реалізація морфогенетичних потенцій апікальних меристем в умовах **in vitro** залежить від балансу в живильному середовищі компонентів, що забезпечують трофічну (макро- і мікросолі, вуглеводи, амінокислоти) та регуляторну (гормони, вітаміни) функції клітин. На етапі введення меристем троянди в культуру **in vitro** підбір оптимальної концентрації гормонів проводили на основі живильного середовища МС, що містило **0,7%** агару, яке доповнювали БАП та НОК в різних концентраціях. В результаті досліджень встановлено, що ізольовані меристеми троянди характеризуються високою регенераційною здатністю – частота регенерації пагонів складала **60-100%**. Виключенням був сорт Утопія, у якого на живильному середовищі з концентрацією БАП **2,0 мг/л** відбувалося пригнічення регенерації пагонів з меристем до **40-50%**. Оптимальний розвиток меристем троянди спостерігався на живильному середовищі МС, доповненому БАП (**1,0 мг/л**) і НОК (**1,0 мг/л**), на якому у всіх сортів, що досліджувалися, відбувалася регенерація пагонів з найбільшою частотою, формувалися основні пагони найбільшої висоти та найбільша кількість додаткових пагонів.

Морфогенез і регенераційні процеси в культурі **in vitro** значною мірою залежать від генотипу рослини-донора, а ефективність клонального мікророзмноження визначається морфогенетичними потенціями експланту – здатністю до росту пагонів, закладання адвентивних бруньок, укорінення, від яких, в кінцевому підсумку, залежить коефіцієнт розмноження. Вивчення морфогенезу ізольованих меристем троянди в культурі **in vitro** показало, що направленість регенераційних процесів у досліджуваних сортів та зразків була подібною, однак, виявлені відмінності в інтенсивності настання етапів морфогенезу і

кількісних показниках основних біометричних параметрів мікророслин, детерміновані генотипом (табл. 2).

Таблиця 2

**Основні етапи морфогенезу троянди в культурі ізольованих меристем *in vitro* на середовищі МС32, кількість днів культивування**

Етап морфогенезу	Сорт			
	Маруоссія	Гран Прі	Глоссі	Утопія
Формування першого листка	8 - 9	9 - 11	7 - 9	10 - 12
Розвиток основного пагону	12 - 14	12 - 14	10 - 12	14 - 16
Формування додаткових пагонів	18 - 20	18 - 20	16 - 18	20 - 22

Найбільш раннім розвитком характеризувалися меристеми сорту Глоссі. Приживлюваність і збільшення меристем у розмірах були помітними вже на 5-6 добу культивування, на 7-9 добу відбувалося формування і розкриття першого листка. Проліферацію множинних пагонів відмічали на 16-18 добу культивування. У сортів Маруоссія та Гран Прі окремі етапи морфогенезу наставали в середньому на 2-4 доби пізніше. Найбільш повільно розвивалися меристеми сорту Утопія, у якого окремі етапи морфогенезу наставали на 3-6 днів пізніше, ніж у сорту Глоссі.

На етапі власне мікророзмноження троянди як експланти використовували мікроживці, які одержували при розділенні основного пагону меристемних рослин на фрагменти довжиною 4-6 мм з одним листком та відокремленні додаткових пагонів довжиною 4-6 мм з одним розгорнутим листком. Найбільш оптимальний розвиток мікророслин троянди відмічено на живильному середовищі, доповненому 1,0 мг/л БАП і 0,1 мг/л НОК. Дане середовище виявилось універсальним для всіх генотипів, оскільки розрахунок коефіцієнту розмноження за сукупністю біометричних параметрів показав, що саме при такому поєднанні гормонів можна одержати максимальну кількість мікроживців на один експлант. Оскільки генотипіч-

ні особливості сортів та зразків обумовлювали різну інтенсивність росту основних пагонів, було одержано різні коефіцієнти розмноження: у сорту Маруоссія – 7,1, Гран Прі – 6,2, у сорту Глоссі – 7,8, у сорту Утопія – 5,9.

Для визначення оптимальних умов стимулювання ризогенезу у мікропагонів троянди випробовували різні модифікації живильного середовища  $\frac{1}{2}$ МС. Найбільш ефективним для індукції коренеутворення у мікропагонів троянди визначено живильне середовище, доповнене ІМК та ІОК в концентрації по 0,5 мг/л, на якому частота укорінення у сортів троянди, що досліджувалися, становила 60,0-85,0%.

**Висновки. 1.** Вивчено особливості морфогенезу в культурі ізольованих апікальних меристем **R. hybrida L.** сортів Маруоссія, Гран Прі, Глоссі та Утопія. На основі результатів досліджень розроблено прийоми клонального мікророзмноження промислових сортів троянди.

**2.** Установлено, що оптимальним для індукції морфогенезу *in vitro* ізольованих меристем та власне мікророзмноження троянди є агаризоване живильне середовище МС, доповнене БАП (1,0 мг/л) і НОК (0,1 мг/л).

**3.** Підібрано склад регуляторів росту для укорінення мікропагонів троянди, які включали до живильного середовища  $\frac{1}{2}$  МС: ІМК (0,5 мг/л) і ІОК (0,5 мг/л).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Воронцов В. В. Все о розах / В. В. Воронцов, В. И. Коробов. — М.: Фитон, 2007. — 340 с.
2. Khosh-Khui M. Micropropagation of new and old world rose species / M. Khosh-Khui, K. S. Sink // J. Hort. Sci. — 1982. — Vol. 57. — P. 315—319.
3. Khosh-Khui M. Rooting-enhancement of Rosa hybrida for tissue culture propagation / M. Khosh-Khui, K. S. Sink // Scientia Hort. — 1982. — Vol. 17. — P. 371—376.
4. Kondratenko O. V. Features of miniature roses clonal micropropagation / O. V. Kondratenko, I. V. Mitrofanova // Biotechnology approaches for exploitation and preservation of plant resources. — Yalta, 2002. — P. 34.
5. Пилунская О. А. Изучение факторов, влияющих на клональное микроразмножение розы эфиромасличной / О. А. Пилунская // Современные научные исследования в садоводстве. — Ялта, 2000. — С. 44—53.

6. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии культурных растений / Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. — К.: Наук. думка, 1980. — 488 с.

7. Murachige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / Murachige T., Skoog F. // *Physiol. plant.* — 1962. — N13. — P. 473—497.

8. Лакин Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие / Лакин Г. Ф. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Высшая школа, 1980. — 293 с.