

УДК 633.81:57.085.2

*Н.А. Егорова, И.В. Ставцева***МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ СОРТОВ ЭФИРОМАСЛИЧНОЙ РОЗЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*\***

Исследованы особенности морфогенеза меристемных культур пяти сортов эфиромасличной розы (Мичуринка, Радуга, Лань, Лада, Фестивальная) на 1 и 2-м этапах микроразмножения *in vitro*. Показано, что при использовании растений розы, выращенных в Предгорной зоне Крыма, максимальное число развивающихся эксплантов (92-98 %) было в летний период (август). При сравнении изученных генотипов лучшее развитие меристем отмечено у сортов Радуга, Лань и Мичуринка, у которых в разные сезоны изоляции эксплантов были выявлены более высокие морфометрические показатели культур (число развивающихся меристем, длина и количество побегов, число листьев и частота множественного побегообразования). При культивировании меристем розы сорта Радуга на 10-ти модификациях питательной среды МС установлено, что лучшие параметры развития эксплантов (длина побега, количество листьев и др.) были на среде, содержащей 0,5 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГК и 2 % глюкозы. Проанализировано влияние генотипа и цикла размножения на развитие меристемных культур на втором этапе размножения *in vitro*. Установлено, что в течение трех изученных циклов происходило увеличение коэффициента размножения, который к 3-му циклу достиг максимума у сортов Радуга (15,7) и Мичуринка (13,2).

*Ключевые слова:* роза эфиромасличная, клональное микроразмножение, культура меристем *in vitro*.

Роза эфиромасличная является одним из ценных ароматических и лекарственных растений, выращиваемых во многих странах мира уже несколько тысячелетий. Интерес к этому растению связан с широким спектром его использования. Получаемое из цветков розовое масло применяют при изготовлении высококачественных парфюмерно-косметических изделий – духов, одеколонов, туалетных вод, кремов и других средств ухода за кожей [1]. Эфирное масло розы и другие продукты ее переработки (абсолют, конкрет, настои лепестков, листьев, корней, плодов) используются при лечении полости рта и горла, сердечно-сосудистой системы, а также холецистита, гастрита, язвы, гиповитаминозов, невродов и многих других заболеваний [2]. Родиной эфиромасличной розы, по мнению многих ученых, является Сирия и Иран, откуда она распространилась в Турцию, Индию, Египет, Болгарию, Францию, Испанию, Россию и другие страны. Более 300 лет назад ее впервые начали возделывать в Болгарии как промышленную культуру, используя для посадки высокомасличные формы дамасской розы, позже названные Казанлыкской. В России в настоящее время эфиромасличная роза выращивается в южных регионах, главным образом в Крыму. При этом используются высокоурожайные сорта (созданные на основе гибридизации видов *R. gallica*, *R. damascena*, *R. alba*) селекции ФГБУН «НИИСХ Крыма» или ФГБУН «НБС-ННЦ РАН» – Радуга, Лань, Лада, Мичуринка, Фестивальная, Аура и др. [3].

Повышение эффективности селекционной и семеноводческой работы с этим ценным ароматическим растением связано с использованием новых современных методических приемов, в частности, методов биотехнологии. Среди разнообразных методов клеточной инженерии одним из наиболее широко распространенных и востребованных для многих сельскохозяйственных растений является клональное микроразмножение *in vitro*. Этот метод позволяет в короткие сроки размножить уникальные генотипы (отдаленные гибриды, селекционные образцы, формы, полученные с использованием других биотехнологических приемов) и ускорить внедрение новых сортов в производство [4; 5]. Кроме того, методы микроразмножения (особенно с использованием культуры меристем) являются основой для разработки технологий получения оздоровленного безвирусного посадочного материала, а также создания альтернативных коллекций ценных генотипов в условиях *in vitro*. В последние 2-3 десятилетия такие биотехнологии размножения, основанные на различных методах (активации развития уже существующих меристем, индукции адвентивных почек из тканей экспланта, индукции прямого морфогенеза из каллусов или суспензий и др.), интенсивно разрабатываются для цветочно-декоративных, плодово-ягодных, овощных и других сельскохозяйственных культур, а также для некоторых редких дикорастущих видов растений [5-7].

Для основных ароматических и лекарственных растений, в том числе и эфиромасличной розы, эти методы пока разработаны в недостаточной степени и не получили такого широкого практического распространения. Это обусловлено слабой изученностью многих лимитирующих факторов и зна-

\* Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 14-50-00079.

чительной генотипической зависимостью процессов морфогенеза *in vitro*. В значительной степени это касается розы, так как основные выращиваемые в производстве в России сорта получены в результате межвидовой гибридизации, тогда как зарубежные работы в основном посвящены биотехнологическим исследованиям *Rosa damascena*. В частности, в публикациях болгарских и иранских ученых [8-10] представлены экспериментальные данные, касающиеся подбора питательных сред для различных этапов клонального микроразмножения дамасской розы в основном при использовании в качестве эксплантов пазушных почек растений. Имеются также работы, в которых освещены отдельные вопросы микроразмножения, индукции морфогенеза в каллусной культуре или получения вторичных метаболитов у эфиромасличной розы [11-14]. Однако представленные в литературе данные порой противоречивы и не касаются многих факторов, влияющих на эффективность микроразмножения, что и явилось предпосылкой для проведения наших исследований по разработке технологии размножения розы эфиромасличной.

Целью данной работы было изучение влияния некоторых факторов (генотипа, сезона введения в культуру *in vitro*, питательной среды и цикла размножения) на развитие меристем 5 сортов розы эфиромасличной на 1 и 2-м этапах клонального микроразмножения.

### Материалы и методика исследований

В исследованиях использовали сорта розы эфиромасличной – ‘Мичуринка’, ‘Лань’, ‘Радуга’, ‘Лада’, ‘Фестивальная’, полученные при участии видов *Rosa damascena* Mill., *R. gallica* L., *R. alba* L. В качестве первичных эксплантов использовали меристемы с 2-3 листовыми примордиями (размером 0,4–0,6 мм), выделенные из пазушных почек растений, выращенных в коллекционном питомнике ФГБУН «НИИСХК» в условиях Предгорной зоны Крыма (с. Крымская Роза, Белогорский район). Введение в культуру *in vitro* проводили в различное время года – зимой (январь), весной (май), летом (август) и осенью (сентябрь). Сегменты побегов стерилизовали с применением 70 % этанола и 50 % раствора препарата «Брадофена». При введении в культуру эксплантов, культивировании и приготовлении питательных сред применяли традиционные методы, принятые в работах по культуре ткани [15]. Экспланты культивировали на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) [16] с добавлением регуляторов роста растений – кинетина, БАП, ИУК, гибберелловой кислоты (ГК) (Sigma, США). В качестве углевода в среду вводили сахарозу или глюкозу (2 %). Продолжительность цикла выращивания (размножения) составляла 30–35 сут.

Культивирование меристем и побегов проводили при +26 °С, 70 % влажности, освещённости 2–3 тыс. люкс с 16-часовым фотопериодом. В конце каждого цикла выращивания определяли количество развивающихся эксплантов, число и длину побегов, количество листьев или узлов, частоту множественного побегообразования и каллусогенеза. Коэффициент размножения (КР) рассчитывали как количество микрочеренков, которое можно получить за 1 цикл размножения. Для этого среднее количество развивающихся из эксплантов побегов умножали на среднее число эксплантов для микроразмножения. Опыты проводили в 3-х кратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 20 эксплантов. Экспериментальные данные обработаны статистически согласно общепринятым методам с использованием пакета программ Microsoft Office (Excel 2003). На графиках представлены средние значения признаков и доверительные интервалы.

### Результаты и их обсуждение

В наших экспериментах на 1-м этапе введения в культуру меристем розы эфиромасличной при анализе разных модификаций питательной среды Мурасиге и Скуга ранее была выделена лучшая среда МСР6, содержащая БАП (1,0 мг/л), ГК (0,1 мг/л) и 2 % глюкозы [17], которую мы использовали в качестве базовой при культивировании меристем изучаемых в представленных экспериментах сортов розы. В различное время года было проведено введение в асептическую культуру меристем с 2–3 примордиями сортов ‘Лань’, ‘Лада’, ‘Радуга’, ‘Мичуринка’, ‘Фестивальная’, выделенных из пазушных почек побегов. При изоляции меристем в зимний период (январь) была отмечена очень высокая частота инфицированных, а также потемневших некротических эксплантов (в сумме от 79,3 до 94,4 %), поэтому анализ морфометрических параметров развития меристем проводили в остальные сезоны. При анализе культур (весной, летом и осенью) у всех изучаемых сортов выявлено относительно медленное развитие меристем – через 2 недели наблюдали увеличение размеров эксплантов,

на листовых примордиях появлялась расчлененность краев, которая постепенно усиливалась, и в некоторых случаях развивалась первая листовая пластинка. Через месяц культивирования длина эксплантов достигала 3,8–8,4 мм (рис. 1, А). При этом изредка происходило развитие дополнительных почек и небольших розеток листьев (представляющих микропобеги с укороченными междоузлиями). Количество развивающихся эксплантов в значительной степени зависело от сезона введения и сорта. Как видно из полученных данных, наиболее благоприятным временем для введения в культуру был летний период. Число развивающихся эксплантов у всех сортов в это время достигало 92,1–97,5 % (рис. 2). Осенью этот показатель был минимальным и колебался от 38,9 до 72,2% в зависимости от сорта. При анализе морфометрических показателей развития меристем у сортов Лань и Фестивальная также наблюдали тенденцию повышения частоты множественного побегообразования и числа почек летом по сравнению с другими сезонами (табл.1). Однако у сортов Мичуринка и Радуга формирование дополнительных почек и микропобегов более активно проходило в осенний период. У ‘Лады’ в сентябре было отмечено достоверное увеличение длины побега и числа листьев.

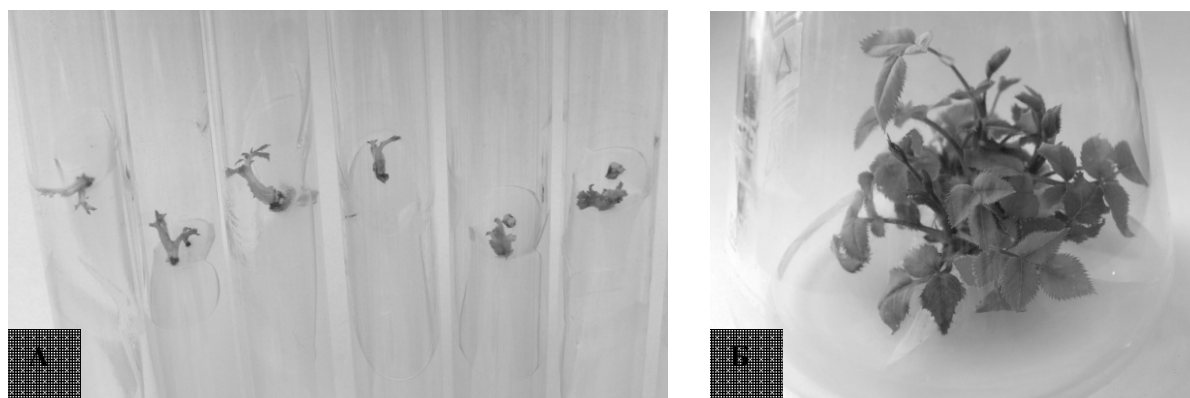


Рис. 1. Развитие меристем розы эфиромасличной сорта Радуга на 1-м (А) и 2-м (Б) этапах микроразмножения в культуре *in vitro*

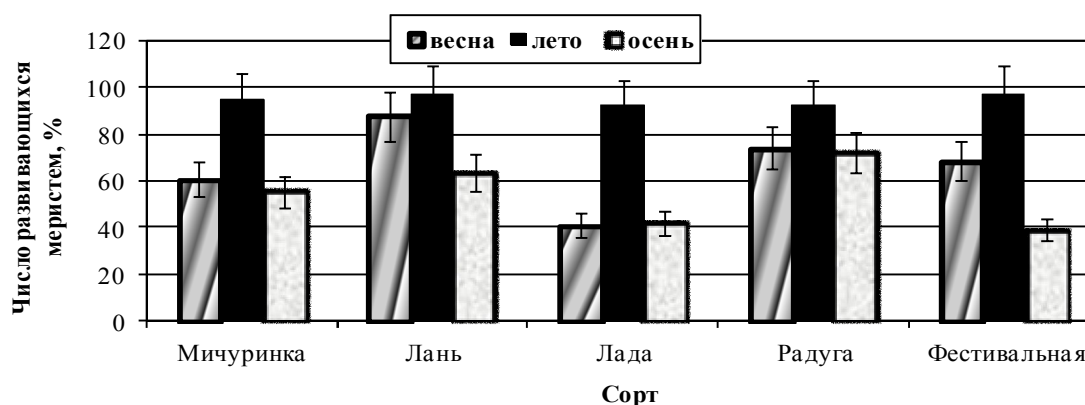


Рис. 2. Влияние сезона введения в культуру *in vitro* и сорта на количество развивающихся меристем розы эфиромасличной

При сравнении изученных сортов следует отметить лучшее развитие меристем у сортов Радуга, Лань и Мичуринка, у которых в разные сроки отбора эксплантов было максимальным большинство показателей – число развивающихся эксплантов (до 97,5 %), число побегов (до 2,5 шт. на эксплант), длина побега (до 8,4 мм), число листьев (до 1,6 шт./экспл.) и частота множественного побегообразования (90,0–92,3 %). Следует отметить, что полученные в представленном эксперименте данные по влиянию сезона на развитие меристем розы эфиромасличной отличаются от результатов, полученных при использовании в качестве донорных растений из коллекции розы, выращиваемой на Южном берегу Крыма в Никитском Ботаническом саду [18]. В условиях ЮБК лучшими сроками отбора и введения эксплантов в культуру были февраль–март, когда частота развития меристем достигала 92–100 %, тогда как в летне-осенний период этот показатель не превысил 10–20 %. В наших исследованиях при использовании растений розы, выращенных в Предгорной зоне Крыма, наоборот, в летний период (в августе) было

получено максимальное число развивающихся эксплантов (до 92-97 %). Данные факты свидетельствуют о значительном влиянии на развитие меристем *in vitro* не только сезона изоляции экспланта, но и условий выращивания исходных растений (что особенно важно при использовании в качестве исходных полевых растений). По-видимому, такая морфогенетическая реакция обусловлена физиологическим состоянием органа растения и выделяемого из него экспланта. В ряде обзорных работ отмечена важная роль в индукции морфогенеза *in vitro* физиологического состояния экспланта, которое зависит от его возраста, сезона изоляции, расположения на растении, условий выращивания растения и других факторов [4-6].

Таблица 1

**Влияние сезона введения в культуру *in vitro* и сорта на развитие меристем розы эфиромасличной**

Сорт	Сезон введения <i>in vitro</i>	Число побегов (почек), шт.	Длина побега, мм	Число листьев, шт.	Частота множественного побегообразования, %
Мичуринка	весна	1,1 ± 0,1	5,2 ± 0,4	1,6 ± 0,2	5,4 ± 0,7
	лето	1,3 ± 0,1	5,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	27,0 ± 3,1
	осень	2,1 ± 0,2	8,0 ± 0,5	1,4 ± 0,1	90,0 ± 8,8
Лань	весна	1,1 ± 0,1	3,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	5,5 ± 0,4
	лето	2,5 ± 0,1	5,0 ± 0,1	0,7 ± 0,1	92,3 ± 10,2
	осень	1,4 ± 0,2	6,6 ± 0,5	1,2 ± 0,2	42,9 ± 5,1
Лада	весна	1,2 ± 0,1	4,7 ± 0,4	1,2 ± 0,2	16,7 ± 1,8
	лето	1,4 ± 0,1	4,3 ± 0,2	0,7 ± 0,1	34,3 ± 2,9
	осень	1,4 ± 0,2	7,6 ± 0,6	1,6 ± 0,2	37,5 ± 3,3
Радуга	весна	1,1 ± 0,1	4,1 ± 0,3	1,4 ± 0,2	12,5 ± 1,0
	лето	1,9 ± 0,1	5,3 ± 0,1	0,7 ± 0,1	71,4 ± 8,2
	осень	2,5 ± 0,2	8,4 ± 0,4	1,5 ± 0,2	92,3 ± 8,8
Фестивальная	весна	1,0	3,9 ± 0,3	1,0	0,0
	лето	1,7 ± 0,1	5,3 ± 0,2	1,0	59,0 ± 6,1
	осень	1,3 ± 0,3	7,0 ± 0,5	1,0	14,3 ± 1,9

В целях дальнейшей оптимизации состава питательной среды для введения меристем розы эфиромасличной в условия *in vitro* было проведено культивирование меристем сорта Радуга на 10-ти модификациях среды МС (табл.2). Ранее нами было показано преимущество добавления в питательную среду МС цитокинина БАП по сравнению с кинетином и выделена среда МСР6 [17], которую в данном эксперименте мы использовали в качестве контрольной. Как видно из полученных экспериментальных данных (табл. 2), почти все испытанные модификации питательной среды, включающие замену глюкозы на сахарозу, изменение содержания некоторых макроэлементов, вариации состава и концентраций регуляторов роста растений (БАП, кинетин, ГК, ИУК), не позволили повысить изучаемые морфометрические показатели развития меристемных культур по сравнению со средой МСР6. Следует отметить, что на среде МС527, содержащей ИУК, активно развивался каллус (с частотой 37 %), что нежелательно при микроразмножении из-за вероятности индукции соматической изменчивости. Анализ развития меристем на среде МС526 (с увеличенным содержанием  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{FeSO}_4$ ) не выявил достоверных изменений по сравнению со средой МС525 (со стандартными концентрациями этих солей) по морфометрическим показателям, а также существенной разницы морфологии формирующихся микропобегов и листьев. Это не соответствует данным иранских исследователей, которые для *Rosa damascena* показали, что такое изменение состава макроэлементов способствовало увеличению в 5–10 раз числа побегов и повышению качества побегов и листьев, в частности, увеличению их размеров [10]. Из всех анализируемых нами модификаций среды МС можно выделить только МС523 (с повышением концентрации ГК и снижением концентрации БАП), на которой было отмечено достоверное увеличение (более чем в 2 раза) числа листьев на эксплант по сравнению с контрольной средой МСР6. Более активное развитие листьев на этой среде может способствовать

формированию более крупной розетки листьев и дополнительных пазушных побегов, что позволяет рекомендовать данную среду для введения в культуру меристем розы.

Полученные на этапе введения из меристем укороченные побеги (имеющие вид розетки с 3-7 листьями) через месяц культивирования пересаживали на свежую питательную среду. В дальнейшем, на этапе микроразмножения, из таких розеток листьев развивались пазушные и адвентивные побеги с укороченными междоузлиями, а также побеги с 3-5 нормальными междоузлиями, которые можно было использовать для микрочеренкования (рис. 1 Б). При микрочеренковании такие развитые побеги разделяли на сегменты с 1 узлом длиной 5-7 мм. Поэтому для размножения розы целесообразно применять 2 метода – индукцию множественного побегообразования и микрочеренкование побегов с хорошо развитыми междоузлиями, что позволяет получить больше эксплантов для дальнейшего размножения и повысить коэффициент размножения. При подсчете коэффициента размножения учитывали все экспланты для размножения, как розетки с 3-5 листьями, так и микрочеренки с 1 узлом.

Таблица 2

**Влияние состава питательной среды на развитие меристем розы эфиромасличной сорта Радуга на 1-м этапе микроразмножения *in vitro***

№ питательной среды	Модификация питательной среды МС (регулятор роста растений, мг/л)	Количество развивающихся эксплантов, %	Число побегов (почек), шт.	Длина побега, мм	Число листьев, шт.	Частота множественного побегообразования, %
МСР6	БАП(1,0); ГК(0,1); глюкоза 2 %	92,1±7,8	1,9±0,1	5,3±0,1	0,7±0,1	71,4±6,9
МС519	Кинетин (1,0); ГК(0,1); глюкоза 2 %	64,3±5,6	1,0	4,1±0,1	0,5±0,1	0,0
МС520	БАП (1,0);ГК (0,1); сахароза 2 %	40,0±5,1	1,1±0,1	3,7±0,2	0,5±0,1	15,0±1,2
МС521	БАП(1,0); ИУК (0,5); ГК(0,5); глюкоза 2 %	85,7±7,1	1,5±0,1	3,8±0,2	0,7±0,1	45,8±4,3
МС522	БАП(2,0); ГК(0,5); глюкоза 2 %	72,2±6,5	1,4±0,1	3,9±0,2	0,6±0,1	43,6±5,0
МС523	БАП(0,5);ГК(0,5); глюкоза 2 %	97,8±8,5	1,9±0,1	5,9±0,2	1,7±0,1 *	68,9±5,5
МС524	БАП(4,0);ГК(0,5);глюкоза 2 %	30,5±3,2	1,0	3,1±0,1	0,0	0,0
МС525	БАП(1,0); ИУК (0,5); ГК(0,5); сахароза 3 %	28,6±2,5	1,0	3,1±0,1	0,0	0,0
МС526	БАП(1,0); ИУК (0,5); ГК(0,5); сахароза 3%; (увеличено содержание NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> и CaCl <sub>2</sub> в 1,5раза и FeSO <sub>4</sub> в 1,2 раза)	27,8±2,1	1,0	3,6±0,2	0,3±0,1	0,0
МС527	БАП (1,0); ИУК (0,5); сахароза 3 %	46,3 ± 4,0	1,0	3,1 ± 0,1	0,0	0,0

\* Достоверное повышение показателя по сравнению с контрольной средой МСР6 при P = 0,05.

Для выявления влияния генотипа и цикла микроразмножения на эффективность размножения розы было проведено микрочеренкование и субкультивирование меристемных культур пяти сортов. Проанализированы морфометрические параметры развития эксплантов розы на этапе собственно микроразмножения и получены данные о влиянии сорта на эффективность микроразмножения в течение 3-х циклов размножения *in vitro* (рис. 3).

Как видно из представленных данных (рис. 3), коэффициент размножения к 3-му циклу увеличился, достигнув максимума у сортов Радуга (15,7) и Мичуринка (13,2). Повышение коэффициента размножения к 3-4 циклу субкультивирования в культуре меристем было показано нами ранее и для

лаванды, однако у других изученных эфиромасличных растений (герани, шалфея, фенхеля) значительных изменений этого показателя в первых циклах не наблюдали [19]. При сравнении развития меристемных культур разных генотипов розы на протяжении нескольких циклов субкультивирования следует отметить, что лучшее развитие и коэффициенты размножения были у сортов Радуга и Мичуринка, которые лучше развивались и на 1-м этапе введения *in vitro*. В наибольшей степени разница между изучаемыми сортами по морфометрическим показателям меристемных культур проявилась в 3-м цикле микроразмножения. Данные факты соответствуют имеющимся литературным данным, в которых для многих видов растений показано значительное влияние генотипа на эффективность клонального микроразмножения *in vitro* [5; 6; 11].

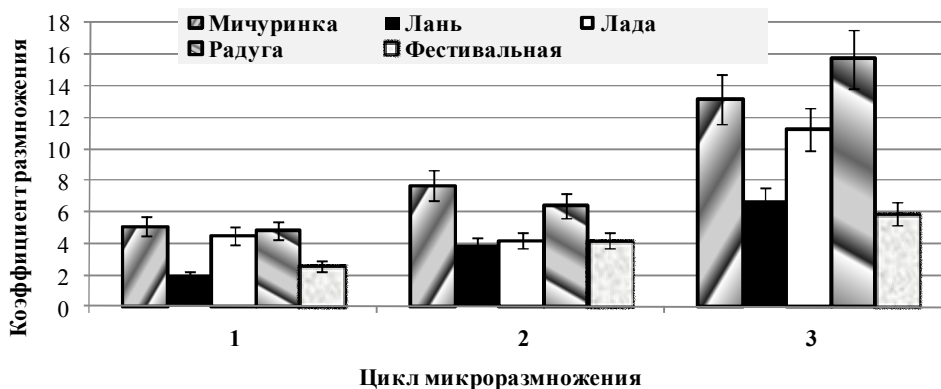


Рис. 3. Влияние цикла микроразмножения на коэффициент размножения сортов розы эфиромасличной *in vitro*

## Заключение

В результате проведенных исследований выявлены особенности развития эксплантов меристем пяти сортов розы эфиромасличной ('Мичуринка', 'Радуга', 'Лань', 'Лада', 'Фестивальная') на 1 и 2-м этапах микроразмножения *in vitro*. Показано, что при использовании растений розы, выращенных в Предгорной зоне Крыма, максимальное число развивающихся эксплантов (92–98 %) было получено в летний период (август). При сравнении изученных сортов лучшее развитие меристем было отмечено у сортов Радуга, Лань и Мичуринка, у которых в разные сроки изоляции эксплантов было максимальным большинство показателей – число развивающихся эксплантов (до 97,5 %), длина (до 8,4 мм) и количество побегов (до 2,5 шт./эксплант), число листьев (до 1,6 шт./эксплант) и частота множественного побегообразования (90,0–92,3 %). При культивировании меристем розы сорта Радуга на 10-ти модификациях питательной среды МС установлено, что лучшие показатели развития эксплантов (в частности, длина формирующегося побега и количество листьев) были на среде МС, содержащей 0,5 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГК и 2 % глюкозы. Проанализировано влияние генотипа и цикла размножения на развитие меристемных культур на втором этапе размножения *in vitro*. Показано, что в течение 3-х изученных циклов происходило увеличение коэффициента размножения, который к 3-му циклу достиг максимума у сортов Радуга (15,7) и Мичуринка (13,2). Полученные результаты являются основой для дальнейшего усовершенствования приемов микроразмножения розы эфиромасличной и разработки методов получения оздоровленного посадочного материала и депонирования *in vitro*.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Назаренко Л.Г., Афонин А.В. Эфиромасличные растения юга Украины. Симферополь: Таврия, 2008. 144 с.
2. Дудченко Л. Ароматы здоровья. Киев: Глобус. 1997. 152 с.
3. Назаренко Л. Г. Селекция розы эфиромасличной. Симферополь: Изд-во ИЭЛР, 1997. 418 с.
4. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
5. Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений: учеб. пособие. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. 318 с.

6. Кушнір, Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. К.: Наукова думка, 2005. 270 с.
7. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Лесникова-Седошенко Н.П. Применение биотехнологических методов в оздоровлении растений и размножении безвирусного посадочного материала перспективных цветочно-декоративных культур // Сб. тр. Никит. ботан. сада. 2014. Т. 138. С. 5-56.
8. Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M. Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // Sci. Hort. 2005. Vol. 105, N 4. P. 475-482.
9. Kornova K., Michailova J. Optimizing the rooting process in propagation of kasanlak oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) *in vitro* // Propagation of Ornamental Plants. 2008. Vol. 8, N 4. P. 224-229.
10. Noodezh H.M., Moieni A., Baghizadeh A. *In vitro* propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2012. Vol. 48, N 6. P. 530-538.
11. Егорова Н.А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: микроклональное размножение, синтез продуктов вторичного метаболизма *in vitro* // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46, № 3. С. 187-201.
12. Canli F.A., Kazaz S. Biotechnology of Roses: progress and future prospects // Suleyman Demirel Universitesi Orman Fakultesi Dergisi. 2009. N 1. P. 167-183.
13. Ishioka N., Tanimoto S. Plant regeneration from Bulgarian rose callus // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1990. Vol. 22, N 3. P. 197-199.
14. Pati P., Sharma M., Ahuja P. Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose // Acta Horticulturae. 2001. N 547. P. 147-158.
15. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наук. думка. 1980. 488 с.
16. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, N 3. P. 473-497.
17. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Кривоухатко А.Г., Каменек Л.И., Золотилов В.А. Получение гибридов с использованием эмбриокультуры и микроразмножение розы эфиромасличной *in vitro* // Проблемы современной науки. 2015. Вып. 17. С. 31-41.
18. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Браилко В.А., Лесникова-Седошенко Н.П. Биотехнологические и физиологические особенности культивирования *in vitro* ценных генотипов розы эфиромасличной // Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. № 2(13). С. 37-48.
19. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Якимова О.В., Каменек Л.И., Кривоухатко А.Г. Некоторые аспекты клонально-го микроразмножения и сохранения *in vitro* эфиромасличных растений // Таврический вестн. аграрной науки. 2015. № 1(3). С. 18-24.

Поступила в редакцию 26.02.16

**N.A. Yegorova, I.V. Stavzeva**

#### **MICROPROPAGATION OF ESSENTIAL OIL ROSE CULTIVARS *IN VITRO***

The peculiarities of meristem culture morphogenesis of 5 essential oil rose cultivars ('Michurinka', 'Raduga', 'Lany', 'Lada', 'Festivalnaya') at the first and second stages of micropropagation *in vitro* were investigated. It is shown that with the use of rose plants cultivated in the foothill zone of the Crimea, the maximum number of developing explants (92–98 %) was in the summer (August). When comparing the studied genotypes, the better development of meristems was observed in cultivars Raduga, Michurinka and Lany, which in different seasons of explant isolation showed higher levels of morphometric parameters of cultures (number of developing meristems, length and number of shoots, number of leaves and the frequency of multiple shoot formation). When cultured meristems of rose cultivar Raduga on the 10 modifications of MS nutrient medium it was determined that the best parameters of explant development (shoot length, number of leaf and others) were on MS medium containing 0.5 mg / l BAP, 0.5 mg / l GA and 2 % glucose.

The influence of genotype and propagation cycle on the development of meristem cultures at the second stage of propagation *in vitro* was analyzed. It was found that during the studied three cycles the multiplication coefficient was increased reaching maximum in the 3rd cycle for cultivars Raduga (15.7) and Michurinka (13.2).

**Keywords:** essential oil rose, clonal micropropagation, meristem culture *in vitro*.

#### REFERENCES

1. Nazarenko L.G., Afonin A.V. *Efironosy juga Ukrainy* [Essential oil plants of the southern Ukraine], Simferopol: Tavrija, 2008, 144 p. (in Russ.).
2. Dudchenko L. *Aromaty zdorov'ja* [Health fragrances], Kiev: Globus. 1997, 152 p. (in Russ.).

3. Nazarenko L. G. *Selekcija rozy efiroomaslichnoj* [Breeding of essential oil rose], Simferopol: Izd-vo IELR, 1997, 418 p. (in Russ.).
4. Butenko R. G. *Biologija kletok vysshih rastenij in vitro i biotehnologii na ih osnove: ucheb. posobie* [Biology of cells of higher plants *in vitro* and biotechnology thereof: Textbook], M.: FBK-PRESS, 1999, 160 p. (in Russ.).
5. Kalashnikova E. A. *Kletochnaja inzhenerija rastenij: Uchebnoe posobie* [Cell engineering of plants: Textbook], M.: Izd-vo RGAU-MSXA, 2012, 318 p. (in Russ.).
6. Kushnir, G.P. and Sarnac'ka V.V. *Mikroklonal'ne rozmnozhenija roslin. Teorija i praktika* [Microclonal propagation of plants. Theory and Practice], K: Naukova dumka, 2005, 270 p. (in Russ.).
7. Mitrofanova O.V., Mitrofanova I.V., Ivanova N.N. and Lesnikova-Sedoshenko N.P. [Application of biotechnological methods for plant health improvement and for propagation of virus-free planting material of promising ornamental crops], in *Sb. tr. Nikit. botan. sada*, 2014, vol. 138, pp. 5-56 (in Russ.).
8. Jabbarzadeh Z. and Khosh-Khui M. Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.), in *Sci. Hort.*, 2005, vol. 105, no. 4, pp. 475-482.
9. Kornova K. and Michailova J. Optimizing the rooting process in propagation of kazanlak oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) *in vitro*, in *Propagation of Ornamental Plants*, 2008, vol. 8, no. 4, pp. 224-229.
10. Noodezh H.M., Moieni A. and Baghizadeh A. *In vitro* propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.), in *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 2012, 48, no. 6, pp. 530-538.
11. Egorova N.A. [Some aspects of essential oil plants biotechnology: microclonal propagation, synthesis of secondary metabolites *in vitro*], in *Fiziologija rastenij i genetika*, 2014, vol. 46, no. 3, pp.187-201 (in Russ.).
12. Canli F.A. and Kazaz S. Biotechnology of Roses: progress and future prospects, in *Suleyman Demirel Universitesi Or-man Fakultesi Dergisi*, 2009, no. 1, pp. 167-183.
13. Ishioka N. and Tanimoto S. Plant regeneration from Bulgarian rose callus, in *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1990, vol. 22, no. 3, pp.197-199.
14. Pati P., Sharma M. and Ahuja P. Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose, in *Acta Horticulturae*, 2001, no. 547, pp. 147-158.
15. Kalinin F.L., Sarnackaja V.V. and Polischuk V.E. *Metody kul'tury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij* [Methods of tissue culture in the physiology and biochemistry of plants], Kiev: Nauk. dumka, 1980, 488 p. (in Russ.).
16. Murashige T. and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, in *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, no. 3, pp. 473-497.
17. Egorova N.A., Stavceva I.V., Krivohatko A.G, Kamenek L.I., Zolotilov V.A. [Obtaining of hybrids with use of embryoculture and micropropagation of essential oil rose *in vitro*], in *Problemy sovremennoj nauki*, 2015, no. 17, pp. 31-41 (in Russ.).
18. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Brailko V.A. and Lesnikova-Sedoshenko N.P. [Biotechnology and physiology features of valuable genotypes of essential oil roses *in vitro* cultivation], in *Izv. vuzov. Prikladnaja himija i biotehnologija*, 2015, no. 2(13), pp. 37-48 (in Russ.).
19. Egorova N.A., Stavceva I.V., Jakimova O.V., Kamenek L.I. and Krivohatko A.G [Some aspects of clonal micropropagation and conservation *in vitro* of essential oil plants], in *Tavrisheskij vestn. agrarnoj nauki*, 2015, no. 1(3), pp.18-24 (in Russ.).

Егорова Наталья Алексеевна,  
доктор биологических наук,  
заведующая лабораторией биотехнологии  
ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма»  
295493, Россия, г. Симферополь, ул. Киевская, 150  
ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени  
Никитский ботанический сад – Национальный научный  
центр РАН»  
298648, Россия, Ялта, ул. Никитский спуск, 52  
E-mail: yegorova.na@mail.ru

Ставцева Ирина Викторовна,  
кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный  
сотрудник лаборатории биотехнологии  
ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма»  
295493, Россия, г. Симферополь, ул. Киевская, 150  
E-mail: ira563583@mail.ru

Yegorova N.A.,  
Doctor of Biology,  
Head of laboratory of biotechnology  
Research Institute of Agriculture of the Crimea  
Kievskaya st., 150, Simferopol, Russia, 295493  
Nikita Botanical Gardens – National Scientific Centre  
Of Russian Academy of Science  
Nikitsky spusk, 52, Yalta, Russia, 298648,  
E-mail: yegorova.na@mail.ru

Stavtzeva I.V.,  
Candidate of Agriculture, Senior researcher  
Research Institute of Agriculture of the Crimea  
Kievskaya st., 150, Simferopol, Russia, 295493  
E-mail: ira563583@mail.ru