



# БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



## ВЛИЯНИЕ СОРТА И СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА УКОРЕНЕНИЕ РОЗЫ ЭФИРОМАСЛИЧНОЙ ПРИ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ *IN VITRO*

Егорова Н.А.<sup>1,2</sup>, Ставцева И.В.<sup>2</sup>, Митрофанова И.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «ОТКЗ Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»,  
298648, г. Ялта, пгт Никита, Республика Крым, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма»,  
295034, г. Симферополь, ул. Киевская 150, Республика Крым, Россия, e-mail: [yegorova.na@mail.ru](mailto:yegorova.na@mail.ru)

### Резюме

Одним из наиболее известных ароматических растений является роза эфиромасличная, продукты переработки которой широко используются в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности, а также в медицине. Целью работы было изучение влияния сорта, состава питательной среды и длительности культивирования на укоренение в процессе клонального микроразмножения розы эфиромасличной. В исследовании использовали сорта Радуга, Лань, Лада, Мичуринка, Фестивальная, полученные при участии видов *Rosa damascena* Mill., *R. gallica* L., *R. alba* L. Укоренение побегов, сформировавшихся после микрочеренкования на 2-м этапе микроразмножения в культуре меристем, проводили в условиях *in vitro* на модификациях питательной среды МС с добавлением ауксинов (НУК, ИУК, ИМК). Установлено, что высокая частота ризогенеза и максимальное количество корней были на среде ½МС с 0,5 мг/л НУК. Наибольшая частота укоренения (100,0%) и число корней (7,3-7,7 шт./побег) отмечены у сортов Радуга и Фестивальная. У сорта Лада выявлена наименьшая частота ризогенеза (85,7%), а у 'Лани' – минимальное число корней (4,9 шт./побег). Показано, что у сорта Радуга при использовании микрочеренков, полученных во 2, 6, 9-м пассажах, не было достоверных различий по частоте укоренения и числу корней на эксплант. В то же время у 'Мичуринки' по мере увеличения количества пассажей наблюдали повышение частоты ризогенеза и числа корней.

**Ключевые слова:** роза эфиромасличная, клональное микроразмножение, укоренение, *in vitro*

**Цитирование** - Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В. Влияние сорта и состава питательной среды на укоренение розы эфиромасличной при микроразмножении *in vitro*. *Биомика*. 2018. 10 (1). С. 11-15.  
DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-3

## INFLUENCE OF CULTIVAR AND CULTURE MEDIUM COMPOSITION ON THE ROOTING OF ESSENTIAL OIL ROSE DURING MICROPROPAGATION *IN VITRO*

Yegorova N.A.<sup>1,2</sup>, Stavtseva I.V.<sup>1</sup>, Mitrofanova I.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FSFIS "Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS", 298648, Yalta, Nikita, Crimea, Russia

<sup>2</sup>FSFIS "Research Institute of Agriculture of Crimea", 295034, 150 Kiev Str., Simferopol, Crimea, Russia,  
e-mail: [yegorova.na@mail.ru](mailto:yegorova.na@mail.ru)

### Resume

Essential oil rose is one of the world's best known aromatic plants. Its products are widely used in the perfumery, cosmetics and food industry, as well as in medicine. The purpose of this work was to study the

influence of cultivar, culture medium composition and term of cultivation on rooting during the process of clonal micropropagation of essential oil rose. In investigation we studied the cultivars Raduga, Lany, Lada, Michurinka, Festivalnaya, obtained with the participation of species *Rosa damascena* Mill., *R. gallica* L., *R. alba* L. Rooting of the shoots, formed after microcutting at the 2<sup>nd</sup> stage of micropropagation in meristeme culture, was carried out *in vitro* on the modified MS medium supplemented with auxins (NAA, IAA, IBA). It was found that for maximum frequency of rhizogenesis and the number of root formation ½MS medium with 0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA was used. The highest frequency of rooting (100.0%) and the number of roots (7.3-7.7 pcs /shoot) were observed for Raduga and Festivalnaya cultivars. 'Lada' had the lowest frequency of rhizogenesis (85.7%), while 'Lany' had the lowest number of roots (4.9 pcs/shoot). It was shown that for Raduga cultivar, when using microcutting obtained in the 2<sup>nd</sup>, 6<sup>th</sup>, and 9<sup>th</sup> passages, there were no significant differences in the frequency of rooting and the number of roots. At the same time, as the passage increased, a growth in the frequency of rhizogenesis and the number of roots on the explant was observed for 'Michurinka'.

**Keywords:** essential oil rose, clonal micropropagation, rooting, *in vitro*

**Citation** – Yegorova N.A., Stavtseva I.V., Mitrofanova I.V. Influence of cultivar and culture medium composition on the rooting of essential oil rose during micropropagation *in vitro*. *Biomics*. 2018. 10 (1). P. 11-15. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-3 [In Russian]

Одним из наиболее известных в мире ароматических растений является роза эфиромасличная, продукты переработки которой широко используются в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности, а также в медицине. Семейство розоцветные (Rosaceae) включает более 400 видов, и лишь некоторые из них (чаще – *Rosa damascena* Mill.) возделывают для получения эфирного масла [Nazarenko, Afonin, 2008]. Для совершенствования селекции и семеноводства этого ценного растения необходима разработка биотехнологических методов, в частности, микроразмножения *in vitro*, имеющего много сфер применения и преимуществ по сравнению с традиционными приемами. В литературе есть сведения об отдельных аспектах микроразмножения видов и сортов розы эфиромасличной. В качестве эксплантов авторы чаще всего использовали меристемы, пазушные почки или сегменты стебля с узлом и исследовали влияние состава питательной среды на их развитие на основных этапах клонального размножения [Khosh-Khui, 2014; Salekjalali, 2012]. При этом данные об одном из важнейших этапов – укоренении меристемных побегов, достаточно противоречивы. Для ризогенеза *in vitro* обычно используются агаризованные питательные среды с добавлением различных ауксинов [Baig et al., 2011; Khosh-Khui, 2014; Salekjalali, 2012]. Вместе с тем имеются сведения о применении для укоренения микропобегов безгормональных или жидких сред, 2-х стадийного культивирования [Nikbakht et al., 2005; Noodezh et al., 2012; Khosh-Khui, 2014; Stavtseva, Yegorova, 2016], а также об индукции ризогенеза *in vivo* [Khosh-Khui,

2014; Badzhelova, 2017]. Многие исследователи обращали внимание на значительное влияние генотипа на укоренение при микроразмножении и отмечали низкую эффективность этого процесса у отдельных сортов розы [Nikbakht et al., 2005; Khosh-Khui, 2014]. Целью работы было изучение влияния сорта, состава питательной среды и длительности культивирования на укоренение в процессе клонального микроразмножения розы эфиромасличной.

Материалом для исследований служили ткани и органы розы эфиромасличной сортов Радуга, Лань, Лада, Мичуринка, Фестивальная (полученных при участии видов *Rosa damascena* Mill., *R. gallica* L., *R. alba* L.) [Nazarenko, Afonin, 2008]. В качестве первичных эксплантов использовали меристемы с одной парой листовых примордиев, выделенные из пазушных почек растений. Экспланты культивировали на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением ауксинов (ИУК, НУК, ИМК) в культуральной комнате при 26°C, влажности 70% и освещенности 2-3 клк с 16-часовым фотопериодом. Для введения в культуру меристем использовали ранее оптимизированную для розы питательную среду МС, содержащую 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ГК<sub>3</sub> и 2% глюкозы [Yegorova et al., 2016]. У изученных сортов на 1-м и 2-м этапах микроразмножения наблюдали развитие основного побега, а также пазушных и адвентивных почек и побегов. Анализ морфогенеза эксплантов при клональном микроразмножении свидетельствует о целесообразности применения для размножения розы как микропобегов с укороченными междоузлиями

(микророзеток), так и микрочеренков из нормально развитых побегов, что позволяет повысить коэффициент размножения.

Одним из важнейших этапов технологии микроразмножения является укоренение *in vitro* и ранее для некоторых сортов розы была рекомендована безгормональная питательная среда МС22 с половинной концентрацией макро- и микросолей [Stavtseva, Yegorova, 2016]. Однако при культивировании на этой среде у микропобегов формировалось всего 1-4 корня, что не способствовало в дальнейшем хорошей адаптации растений *in vivo*. Кроме того, у некоторых сортов на этой среде отмечали низкую частоту индукции ризогенеза. Поэтому провели дополнительные

исследования по оптимизации питательной среды для корнеобразования у розы на примере сорта Радуга. В качестве экспланта в экспериментах использовали сегменты стебля с 1 узлом, полученные после микрочеренкования на 2-м этапе. Как видно из представленных в табл. 1 данных, на всех испытанных модификациях среды МС (за исключением МС б/г) частота корнеобразования была достаточно высокой (85,0-100,0%), при этом формировались хорошо развитые побеги длиной до 20,0-27,6 мм с 4,5-7,0 узлами. Как правило, из микрочеренка развивался один побег, за исключением среды с добавлением ИУК, на которой изредка отмечали адвентивное побегообразование.

Таблица 1.

Влияние состава питательной среды на укоренение *in vitro* микропобегов розы эфиромасличной сорта Радуга  
Table 1. Influence of the culture medium composition on microshoot rooting *in vitro* in essential oil rose cultivar Raduga

Состав питательной среды, регуляторы роста (мг/л) Culture medium composition, growth regulators (mg/l)	Длина побега, мм Length of shoot, mm	Число узлов на побеге, шт. Number of nodes on the shoot, pcs.	Частота ризогенеза, % Frequency of rhizogenesis, %	Число корней, шт. Number of roots, pcs.	Длина корня, мм Root length, mm
½ МС без гормонов	20,1±0,7	4,5±0,2	89,0±6,5	3,3±0,2	21,7±0,9
МС+ИМК (0,5)	26,7±1,5	5,5±0,4	95,5±8,0	6,4±0,6	9,0±0,3
МС без гормонов	17,2±0,9	3,9±0,2	66,7±5,2	3,1±0,6	23,3±1,5
½ МС+ ИМК (0,5)	27,6±1,4	7,0±0,3	92,3±6,8	6,8±0,5	10,0±0,5
½ МС+ ИУК (0,5)	20,4±1,6	5,4±0,4	85,0±7,1	4,6±0,6	11,8±0,8
½ МС+ НУК (0,5)	25,8±2,4	5,9±0,5	100,0	8,1±0,7	12,9±0,5
½ МС+ ИМК (1,0)	24,0±1,7	5,6±0,4	96,0±7,5	6,5±0,6	11,9±0,5

Установлено, что введение в состав среды ауксинов способствовало достоверному повышению числа корней (4,6-8,1 шт.) по сравнению со средой МС22 (3,3 шт.). При повышении числа корней происходило снижение их длины, так как формировалось большое число коротких корней (до 11-12 мм), тогда как на безгормональных средах развивалось 3-4 длинных тонких корня. При культивировании микропобегов на среде с 0,5 мг/л ИМК иногда встречались укороченные утолщенные корни, а при более высокой концентрации ИМК (1,0 мг/л), наоборот, очень тонкие корни, что может в дальнейшем привести к снижению частоты приживаемости растений в почвенном субстрате. Максимальное количество корней было отмечено на среде ½ МС с 0,5 мг/л НУК (8,1 шт./побег), при этом корни были нормальной морфологии и часто формировали боковые корешки.

При культивировании на данной питательной среде микрочеренков, полученных

после 6-го пассажа, у всех пяти сортов розы частота корнеобразования была достаточно высокой (табл. 2). Максимальная частота ризогенеза (100,0%) отмечена у сортов Радуга и Фестивальная, а минимальная – у ‘Лады’. У ‘Радуги’ и ‘Фестивальной’ также выявлено наибольшее число корней, формирующихся на побегах в течение месяца культивирования (до 7,7 шт./эксплант), тогда как у ‘Лани’ – минимальное (4,9 шт./эксплант). Поэтому, несмотря на некоторую вариабельность в зависимости от генотипа, данную среду можно рекомендовать для укоренения *in vitro* изученных сортов розы.

Полученные нами результаты согласуются с некоторыми работами, в которых для укоренения *in vitro* сортов *R. damascena* использовали снижение концентрации солей в среде МС [Salekjalali, 2012; Nikbakht et al., 2005; Alsemaan, 2013; Baig et al., 2011]. Однако в этих исследованиях в качестве ауксина в питательную среду обычно добавляли

ИМК. Имеются данные об успешном укоренении микропобегов при введении в среду НУК [Kogova, Michailova, 2008], ИМК с активированным углем [Alsemaan, 2013], последовательном переносе микропобегов со среды МС, содержащей ИМК [Noodezh et al., 2012] или 2,4D [Jabbarzadeh, Khosh-

Khui, 2005], на безгормональную, а также о применении различных обработок эксплантов [Nikbakht et al., 2005; Khosh-Khui, 2014]. Для изученных нами сортов более эффективной для укоренения была среда ½ МС, дополненная 0,5 мг/л НУК.

Таблица 2

Влияние сорта на укоренение розы эфиромасличной  
Table 2. Influence of cultivar on rooting of essential oil rose

Сорт Cultivar	Частота ризогенеза, % Frequency of rhizogenesis, %	Число корней, шт. Number of roots, pcs.	Длина корня, мм Root length, mm
Радуга	100,0	7,3±0,4	18,4±0,5
Фестивальная	100,0	7,7±0,4	15,1±0,4
Лань	92,9±7,5	4,9±0,4	17,6±0,6
Лада	85,7±6,8	6,4±0,6	13,9±0,4
Мичуринка	90,0±7,1	5,0±0,5	21,6±0,9

Интересным вопросом в теоретическом и практическом плане является изучение влияния продолжительности культивирования (количества субкультивирований) микрочеренков на морфометрические показатели при размножении *in vitro*. Для 2-го этапа размножения 5-ти сортов розы эфиромасличной ранее было показано повышение коэффициента размножения к 3-4 пассажу, а затем снижение и стабилизация этого показателя [Yegorova et al., 2016]. При анализе влияния пассажа на укоренение *in vitro* розы эфиромасличной у разных сортов были получены довольно противоречивые данные. У сорта Радуга при использовании микрочеренков после 2, 6, 9-го пассажей не было достоверных различий по частоте укоренения (соответственно 75,0; 74,0; и 83,3%) и числу корней (соответственно 3,6; 3,7 и 3,6 шт./побег). В то же время у 'Мичуринки' по мере увеличения количества пассажей наблюдали повышение этих показателей. Частота ризогенеза во 2, 6, 9-м пассажах составила 35,7; 66,7 и 88,2%. Количество корней при этом также несколько возросло (от 2,8 до 4,2 и 3,7 шт./побег). По-видимому, этот вопрос нуждается в дополнительном исследовании, так как на практике часто возникает необходимость укоренения микропобегов из разных пассажей.

#### Благодарности

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

#### Литература / References

1. Alsemaan T. Micro-propagation of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) cv. Almarah // International

Journal of Agricultural Research. 2013. V. 8. N 4. P.172-177. doi: 10.3923/ijar.2013.172.177

2. Badzhelova V. *In vitro* propagation of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) // Agricultural science and technology. 2017. V. 9, N 3, P. 194-197. doi: 10.15547/ast.2017.03.035

3. Baig M.M.Q., Hafiz I.A., Hussain A., Ahmad T., Abbasi N.A. An efficient protocol for *in vitro* propagation of *Rosa gruss an teplitz* and *Rosa centifolia* // African J. of Biotechnology. 2011. V.10, N 22. P. 4564-4573. doi: 10.5897/AJB10.2051

4. Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M. Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // Sci. Hort. 2005. V. 105, N 4. P. 475-482. doi:10.1016/j.scienta.2005.02.014

5. Khosh-Khui M. Biotechnology of scented Roses: a review // International Journal of Horticultural Science and Technology. 2014. V. 1, N 1. P. 1-20.

6. 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. 8, N 4. P. 224-229.

7. Nazarenko L.G., Afonin A.V. Essential oil plants of the southern Ukraine / Simferopol: Tauria. 2008. 144 P. (in Russian) [Назаренко Л.Г., Афонин А.В. Эфиромасличные юга Украины. Симферополь: Таврия, 2008. 144 с.]

8. Nikbakht A., Kafi M., Mirmasoumi M., Babalar M. Micropropagation of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) cvs Azaran and Ghamsar // Int. J. Agri. Biol., 2005. V. 7, N. 4, P. 535-538.

9. Noodezh H.M., Moieni A., Baghizadeh A. *In vitro* propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2012. V. 48. N 6. P. 530-538. doi: 10.1007/s11627-012-9454-z.

10. Salekjalali M. Phloroglucinol, BAP and NAA enhance axillary shoot proliferation and other growth indicators *in vitro* culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // American-Eurasian J. Agric. And Environ. Sci. 2012. V.12, N 7. P. 960-966. doi: 10.5829/idosi.ajeaes.2012.12.07.1799
11. Stavtseva I.V., Yegorova N.A. Production and propagation of essential oil rose hybrids *in vitro*. Guidelines / Simferopol: FSBSI "RIA of Crimea". 2016. 24 P. (in Russian) [Ставцева И.В., Егорова Н.А. Получение и размножение гибридов розы эфиромасличной в культуре *in vitro*. Методические рекомендации. Симферополь: ФГБУН «НИИСХ Крыма», 2016. 24с.].
12. Yegorova N.A., Stavtseva I.V., Mitrofanova I.V. Influence of cultivar and cultivation factors *in vitro* on the essential oil rose clonal micropropagation // Proceed. of Nikit. Botan. Gard. 2016. V. 120. P. 36-43. (in Russian) [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.]