

М.Ф. Шор

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ
ИЗОЛИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ РОЗ

В настоящее время для решения практических задач, возникающих в растениеводстве, все шире используются приёмы и методы культуры тканей, в частности, клональное микроразмножение в культуре *in vitro*. Этот метод позволяет за короткий срок получать большое количество однородного посадочного материала. Этот метод с успехом используют для размножения таких декоративных культур, как орхидея, хризантема, фреезия, гербера и некоторых других [2]. Начата разработка методов клонального микроразмножения и для растений розы [1 - 5].

Цель настоящей работы - изучение процессов морфогенеза в культуре изолированных тканей роз для использования полученных данных в технике клонального микроразмножения.

В эксперименты были включены три сорта: "Frau Karl Druschki", "Gloria Dei", "New Doun". Влияние сортовых признаков не учитывалось.

Как инициальные эксплантаты использовали отрезки побегов (0,5 см) текущего года вегетации с пазушными почками.

Материал отбирали в полевых условиях. Побеги, с которых предварительно удаляли листья, промывали под струёй водопроводной воды, разрезали на отрезки длиной 2–3 см с одной или двумя почками и в асептических условиях операционной комнаты подвергали поверхностной стерилизации. После стерилизации эксплантаты высаживались в пробирки диаметром 16 мм, содержащие 10 мл агаризированной питательной среды Мурасиге – Скуга с гормональными добавками. Посадка производилась таким образом, чтобы базальная часть эксплантата заглублялась в среду до основания почки, а апикальная часть была сверху.

В пазушной почке изначально заложены основная почка (конус с нарастания), из которой *in situ* происходит рост побега, и дополнительные почки, которые в естественных условиях не развиваются. При помещении эксплантата на питательную среду происходит индукция роста как основной, так и дополнительных почек. Процесс морфогенеза реализуется следующим образом: из основной и дополнительных почек образуются побеги с листьями. Побеги на одном эксплантате, как правило, имеют разную степень развития: от почек размером 0,1–0,2 см до побегов более 1,0 см. Помимо этого, на срезах стебля и черешка листа происходит каллусообразование.

Эсплантаты были высажены на 7 вариантов сред. Изучались следующие факторы, влияющие на индукцию морфогенеза: гормональные вещества (БАП (6-бензиламинопурин), ИУК(индолилуксусная кислота), НУК(нафтилуксусная кислота), ГК (гиберелловая кислота).

Условия культивирования: температура $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, одна часть эксплантатов культивировалась в условиях периодического (16 час. в сутки) освещения, освещённость 2000 люкс, другая часть – в темноте в течение 6 недель, после чего пробирки из темноты выставлялись на свет. Продолжительность 0 пассажа составила 9 недель.

В табл. I показан характер развития эксплантатов в зависимости от условий культивирования. Во всех вариантах опыта учитывался коэффициент размножения (K_p – число побегов на эксплантат в конце пассажа). Концентрации гормональных добавок в табл. I, а также в следующих таблицах 2,3 даны в мг/л.

Таблица I

Характер развития эксплантатов в зависимости от условий
культивирования*

| Сорт | Среда | Усло- вия | | Чис- ло | | Развившиеся планкты | | Из них с развивающимися основной почкой | | Основной и до- полнит. почками | | K_p |
|---------------------|--|--------------------------------|------------|------------|-----------------|------------------------|-----------------|---|-----------------|-----------------------------------|-----|-------|
| | | куль- тиви- рова- ния | та- ров | число | коли- чество | чис- ло | коли- чество | чис- ло | коли- чество | (%) | (%) | |
| Franz Karl Druschki | MC + БАП 3,0 | I** | 9 | 6 | 66,6 | 0 | 0,0 | 6 | 100,0 | | | 2,1 |
| | | 2*** | 9 | 4 | 44,4 | 0 | 0,0 | 4 | 100,0 | | | 1,2 |
| Gloria Dei | MC + БАП 5,0 | I | II | II | 100,0 | 2 | 18,2 | 9 | 81,8 | | | 2,6 |
| New Doun | MC + БАП 1,0 | I | 23 | 23 | 100,0 | 0 | 0,0 | 23 | 100,0 | | | 0,2 |
| | | 2 | I' | I6 | 94,1 | 0 | 0,0 | I6 | 100,0 | | | 0,2 |
| —“— | MC + БАП 2,0 + ИУК 0,2 + ИУК 0,3 + ГК 0,1 | I | 2I | I9 | 90,5 | 0 | 0,0 | 2I | 100,0 | | | 2,5 |
| —“— | MC + БАП 2,0 + ИУК 0,5 | I | 27 | 27 | 100,0 | 0 | 0,0 | 27 | 100,0 | | | 2,9 |
| —“— | | 2 | I8 | I8 | 100,0 | 0 | 0,0 | I8 | 100,0 | | | 3,2 |
| —“— | MC(Макросоли/2) + БАП 2,0 + ИУК 0,2 + ИУК 0,3 + ГК 0,1 | I | I6 | I6 | 100,0 | 6 | 37,5 | I0 | 62,5 | | | 2,1 |
| —“— | | 2 | 66 | 5 | 83,3 | 5 | 100,0 | 0 | 0,0 | | | 0,8 |
| —“— | MC(Макросоли/2) + БАП 2,0 + ИУК 0,5 | I | I2 | I2 | 100,0 | I | 8,3 | II | 91,7 | | | 2,4 |
| | | 2 | 3 | 3 | 100,0 | 3 | 100,0 | 0 | 0,0 | | | 1,0 |

Таблица 2

Индукция каллусогенеза в зависимости от условий
культивирования^х

| Сорт | Среда | Усло- вия куль- тиви- рован- ия | Чис- ло экс- план- това- тия | Развитие каллусов | Из них разви- тие каллусов + побегов | | |
|------------|---|--|---|----------------------|--|------------------------|-------------------|
| | | | | | число | коли- чество (%) | чис- ло (%) |
| Franz Karl | MC + БАП 3,0 | I ^{**} II [*] | 9 | 5 | 55,6 | 3 | 60,0 |
| Druschki | | 2 ^{***} | 9 | 6 | 66,7 | 3 | 50,0 |
| Gloria Del | MC + БАП 5,0 | I 2 | II 5 | 0 I | 0,0 20,0 | 0 I | 0,0 100,0 |
| New Doun | СМ + БАП 1,0 | I 2 | 23 17 | 2I I3 | 91,3 76,5 | 2I I3 | 100,0 100,0 |
| — “ — | MC + БАП 2,0 + ИУК 0,2 + НУК 0,3 + ГК 0,1 | I 2 — | 2I 18 | 2I I8 | 100,0 100,0 | 2I I8 | 100,0 100,0 |
| — “ — | MC + БАП 2,0 + ИУК 0,5 | I 2 | 27 18 | 26 I6 | 96,3 88,9 | 26 I6 | 100,0 100,0 |
| — “ — | MC(Макросоли/2) + ИУК 0,2 + НУК 2 0,3 + ГК 0,1 + БАП 2,0 | I 2 | I6 6 | I5 6 | 93,8 100,0 | I5 5 | 100,0 83,3 |
| — “ — | MC(Макросоли/2) + БАП 2,0 + ИУК 0,5 | I 2 | I2 3 | I2 3 | 100,0 100,0 | I2 3 | 100,0 100,0 |

Примечания к таблица I,2: 0 пассаж, свет (16-часовой фотопериод).
Темнота/ свет.

Как видно из табл. I, почти во всех вариантах опыта развитие побегов происходило из основной и дополнительных почек (за исключением вариантов с использованием половинной концентрации макросолей).

Самые высокие коэффициенты размножения были на среде МС + БАП 2,0 + ИУК 0,5 (на свету 3,2 при смене условий темнота / свет 3,8). Хорошие результаты получены на среде МС + БАП 1,0 (3,1 на свету и при смене условий темнота / свет). Самый низкий коэффициент размножения был в варианте МС + БАП 5,0 при смене условий темнота / свет (0,2).

K_p средний по всем вариантам опыта составил 2,2.

В эксперименте изучалась индукция каллусогенеза в зависимости от условий культивирования (табл.2). Во всех вариантах опыта происходило развитие каллусов (за исключением варианта среда МС + БАП 5,0 - свет). Каллусы развивались одновременно с развитием побегов. Каллусогенез без развития побегов отмечен в единичных случаях. Лучшей была среда МС + БАП 2,0 + ИУК 0,2 + ИУК 0,3 + ГК 0,1, так как на этой среде у 100 % эксплантов вызвана индукция каллусогенеза, причем отмечена самая высокая интенсивность роста каллусов как на свету, так и при смене условий темнота/свет.

Каллусы были пересажены на среду МС + БАП 2,0 + ИУК 0,2 + ИУК 0,3 + ГК 0,1, на которой интенсивно росли. Из одного каллуса развилось растение - регенерант.

Таблица 3.

Укоренение полученных *in vitro* микрочеренков

| № | Состав среды | Число микрочеренков | |
|---|--|---------------------|-------------|
| | | высаженных | укорененных |
| | | | |
| 1 | МС/2 + ИУК 2,0 | 17 | 0 |
| 2 | МС/2 + ИМК 1,0* | 16 | 0 |
| 3 | МС/2 + ИМК 2,0 | 16 | 0 |
| 4 | МС + ИУК 0,1 | 37 | 18 |
| 5 | МС + ИУК 1,0 | 100 | 40 |
| 6 | МС + ИУК 1,0 МС/2 без гормонов** | 30 | 22 |

Примечания к табл. 1,2,3 : ИМК - индолилмасляная кислота.

** Культивирование на среде МС + ИУК 1,0 в течение одной недели, после чего пересадка на безгормональную среду МС/2.

Микрочеренки, полученные в результате культивирования отрезков побегов с пазушными почками, были вычленены из эксплантатов и посажены на шесть вариантов сред, различающихся составом. Трансплантаты культивировались в условиях 16-часового фотопериода. Результаты представлены в табл.3, откуда видно, что лучший результат получен в варианте № 6, где индукция ризогенеза в течение одной недели осуществлялась на среде МС + НУК 1,0, после чего укоренение шло на безгормональной среде Мурасиге - Скуга.

Таким образом, при культивировании эксплантатов роз (отрезков побегов с пазушными почками) на процессы морфогенеза в комплексе влияют состав среды (гормональные вещества, макроэлементы) и условия освещения. Установлено, что лучшая среда для индукции развития основной и дополнительных почек - МС + БАП 2,0 + ИУК 0,5 ($K_p = 3,2 - 3,8$). Лучшая среда для индукции каллусогенеза - МС + БАП 2,0 + НУК 0,2 + + ИУК 0,3 + ГК 0,1. Процесс укоренения микрочеренков необходимо оптимизировать. В целом метод получения *in vitro* укореняющихся проростков из пазушных почек можно рассматривать как основу технологии клонального микроразмножения роз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексно Г.Д., Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение роз // Цветоводство. 1986. № 1. С. 16-17.
2. Высоцкий В.А., Алексно Г.Д. Клональное микроразмножение роз // Декоративное садоводство Нечерноземья. М., 1986. С. 59-67.
3. Collet G. Enracinement amélioré lors de la production *in vitro* de rosiers // Rev. suisse Végit. Agricole Hortic. 1985. 17, 4 R259-263.
4. Khosh-Khui M. Sink K.C. Micropropagation of new and old world rose species// J. Hortic. sci, 1982, 57. N3, P315-319.
5. Pittet H, Moncousinch. Multiplication nouvelle du rosier// Rev hortic. suisse, 1981, N6. Vol. 54, P169-173.