

УДК 633.81:57.085.2

## ВЛИЯНИЕ СОРТА И ФАКТОРОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* НА КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РОЗЫ ЭФИРОМАСЛИЧНОЙ

Наталья Алексеевна Егорова<sup>1,2</sup>, Ирина Викторовна Ставцева<sup>2</sup>,  
Ирина Вячеславовна Митрофанова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита

<sup>2</sup> ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма», 295493, РФ, г. Симферополь,  
ул. Киевская, 150  
yegorova.na@mail.ru

Исследовано развитие меристемных культур пяти сортов розы эфиромасличной (Мичуринка, Лань, Радуга, Лада, Фестивальная) на 2-м этапе микроразмножения в зависимости от состава питательной среды, генотипа и количества субкультивирований *in vitro*. Выявлена эффективность использования для размножения питательной среды МС с добавлением 1,0 мг/л БАП, 0,2 мг/л ИУК, 0,5 мг/л гибберелловой кислоты. При анализе развития меристемных культур в течение 9 субкультивирований показано, что коэффициенты размножения к 3-му субкультивированию увеличились, достигнув максимума у 'Радуги' (15,7) и 'Мичуринки' (13,2), а в дальнейшем – варьировали от 4,6 до 8,2, в зависимости от сорта и количества субкультивирований.

**Ключевые слова:** сорт: *Rosa damascena*; *R. gallica*; *R. alba*; культура меристем; субкультивирование; микроразмножение

### Введение

Роза эфиромасличная является одним из наиболее древних и популярных ароматических растений. Она возделывается преимущественно в странах Средиземноморья и Ближнего Востока, а в России – в Крыму. Продукты переработки розы (прежде всего, эфирное масло, а также конкрет, розовая вода, лепестки цветков, плоды и др.) пользуются неизменно высоким спросом на отечественном и мировом рынке и широко применяются в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности, а также в медицине при лечении целого ряда заболеваний: сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, пищеварения и др. [7]. Интенсификация селекции и семеноводства связана с привлечением современных биотехнологических приемов, в том числе методов клонального микроразмножения, позволяющих ускорить размножение ценных генотипов, получить оздоровленный безвирусный посадочный материал для закладки промышленных плантаций высокопродуктивных сортов [1, 5]. Такие методы являются также основой создания коллекций генетической плазмы, что актуально в связи с необходимостью сохранения и расширения генетического разнообразия как культурных, так и дикорастущих видов растений.

К настоящему времени исследований, связанных с вопросами клонального микроразмножения розы эфиромасличной, в отличие от декоративных видов и сортов розы, проведено не очень много [9-11, 13, 14]. При введении в культуру в качестве эксплантов обычно использовались пазушные или апикальные почки и меристемы [6, 8, 10, 14], верхушки побегов [9, 10], сегменты стебля с узлом [12, 17]. Имеются сведения о применении для микроразмножения *Rosa damascena* прямой индукции побегов из листовых эксплантов или черешков листа [цит. по: 13]. В ряде работ было отмечено ингибирующее действие продуктов окисления фенольных соединений на развитие эксплантов. Поэтому для снижения этого негативного явления в питательную

среду в качестве антиоксидантов авторы вводили аскорбиновую или лимонную кислоту [8, 10, 17]. Имеются данные о влиянии времени изоляции эксплантов на их развитие *in vitro*, в частности, в работе болгарских исследователей указывалось, что оптимальным сроком отбора почек был период с мая по июль [14], тогда как в условиях Южного берега Крыма лучшими сроками введения эксплантов в культуру были февраль-март [6]. Большинство исследований по эфиромасличной розе касаются вида *Rosa damascena* и они в основном посвящены оптимизации питательных сред для разных этапов микроразмножения, при этом рекомендуемые гормональные составы сред весьма разнообразны [11, 12, 13, 17]. Многие сорта розы, выращиваемые в нашей стране, представляют межвидовые гибриды, полученные при скрещивании *R. damascena*, *R. gallica*, *R. alba* [7] что, учитывая генетическую зависимость процессов морфогенеза *in vitro*, является дополнительной предпосылкой для проведения исследований по разработке биотехнологии размножения сортов розы эфиромасличной.

В задачи данной работы входило исследование морфогенеза меристемных культур пяти сортов розы эфиромасличной на 2-м этапе микроразмножения в зависимости от генотипа, состава питательной среды и количества субкультивирований *in vitro*.

### Объекты и методы исследования

В исследованиях были использованы сорта розы эфиромасличной – Мичуринка, Лань, Радуга, Лада, Фестивальная, полученные при участии видов *Rosa damascena* Mill., *R. gallica* L., *R. alba* L. [7]. В качестве первичных эксплантов использовали меристемы с 2-3 листовыми примордиями (размером 0,4-0,6 мм), выделенные из пазушных почек однолетних побегов растений, выращенных в коллекционном питомнике ФГБУН «НИИСХ Крыма» в условиях Предгорной зоны Крыма (с. Крымская Роза, Белогорский район). Сегменты побегов стерилизовали с применением 70% этанола и 50% раствора препарата «Брадофена». При введении в культуру *in vitro*, культивировании и приготовлении питательных сред использовали традиционные методы, принятые в работах по культуре тканей и органов растений [1, 4]. Экспланты культивировали на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) [4] с добавлением регуляторов роста растений – кинетина, БАП, ИУК, гибберелловой кислоты (ГК) (Sigma, США). В качестве углевода в среду вводили сахарозу или глюкозу. Продолжительность каждого субкультивирования составляла 30-35 сут.

Культивирование меристем и побегов проводили при 26°C, 70% влажности, освещённости 2-3 тыс. люкс и 16-часовом фотопериоде. В конце каждого субкультивирования определяли количество развивающихся эксплантов, число и длину побегов, количество листьев или узлов, частоту множественного побегообразования. Коэффициент размножения (КР) рассчитывали как количество микрочеренков, которое можно получить за одно субкультивирование. Для этого количество развивающихся из эксплантов побегов умножали на число эксплантов для микроразмножения. Опыты проводили в 2-3-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 2007). На графиках представлены средние значения признаков и доверительные интервалы.

### Результаты и обсуждение

Для введения в асептическую культуру меристем пяти сортов розы мы использовали ранее оптимизированную питательную среду МС, содержащую БАП, ГК

и 2% глюкозы [3]. Изоляцию эксплантов проводили в летний период, когда была отмечена максимальная частота развивающихся эксплантов (до 92-98%). Через месяц культивирования меристем наблюдали увеличение размеров эксплантов до 4-10 мм, развитие 1-5 листьев, а также формирование дополнительных почек и небольших розеток листьев (представляющих микропобеги с укороченными междоузлиями). Наиболее активно образование дополнительных почек (с частотой до 70-90%) при введении *in vitro* происходило у сортов Лань и Радуга.

Для дальнейшего размножения на 2-м этапе полученные из меристем укороченные микропобеги (имеющие вид розетки с несколькими листьями) переносили на свежую питательную среду. При культивировании почек или микропобегов наблюдали развитие не только основного побега, но также пазушных и адвентивных (у основания побега). При этом формировались побеги с укороченными междоузлиями (имеющие вид розеток с 4-7 листьями), а в более поздних пассажах – также и удлиненные побеги с 3-5 узлами и нормально развитыми междоузлиями. После первого субкультивирования развивалось в среднем от 1,7 ('Лань') до 4,0 шт. ('Радуга') побегов на эксплант (табл. 1).

Таблица 1

**Влияние количества субкультивирований и генотипа на развитие эксплантов розы эфиромасличной на втором этапе микроразмножения *in vitro***

Количество субкультивирований	Сорт	Число побегов, шт.	Длина побега, мм	Число эксплантов для размножения, шт.
1	Мичуринка	3,9±0,4	12,4±0,4	1,3±0,1
	Лань	1,7±0,3	11,8±0,8	1,2±0,1
	Лада	3,1±0,5	13,2±0,5	1,4±0,1
	Радуга	4,0±0,4	12,1±0,2	1,2±0,1
	Фестивальная	2,2±0,6	9,9±0,5	1,2±0,1
3	Мичуринка	6,3±0,8	16,4±0,8	2,1±0,1
	Лань	3,2±0,5	14,1±0,5	2,1±0,1
	Лада	4,5±1,2	16,9±1,4	2,5±0,2
	Радуга	6,4±0,7	15,7±0,6	2,5±0,1
	Фестивальная	3,7±0,7	13,7±1,4	1,6±0,3
5	Мичуринка	2,2±0,2	11,7±0,6	2,4±0,2
	Лань	2,5±0,3	11,9±0,5	2,1±0,2
	Лада	2,1±0,2	12,2±0,8	2,2±0,2
	Радуга	2,2±0,2	13,0±0,8	2,9±0,3
	Фестивальная	1,5±0,3	16,0±1,2	4,4±0,5

При последующем субкультивировании наблюдали не только повышение числа побегов на эксплант (в 3-м субкультивировании в среднем до 6,4 шт. у 'Радуги'), но и увеличение их длины. Такие побеги с нормальными междоузлиями можно использовать для микрочеренкования, разделяя их на сегменты с 1 узлом длиной 5-7 мм. Анализ морфологии развивающихся побегов свидетельствует о возможности использования для размножения розы *in vitro* как микропобегов с укороченными междоузлиями (микророзеток), так и микрочеренков из нормально развитых побегов, что позволяет получить больше эксплантов для дальнейшего размножения и повысить коэффициент размножения. Поэтому на 2-м этапе микроразмножения в качестве эксплантов использовали микророзетки с 4-5 листьями, а в случае развития нормальных побегов (до 20-40 мм) с 3-5 узлами – микрочеренки (сегменты стебля с 1 узлом длиной 5-7 мм). При подсчете коэффициента размножения учитывали все экспланты для размножения, как розетки с 3-5 листьями, так и микрочеренки с 1 узлом.

Для изучения влияния количества субкультивирований и генотипа на эффективность размножения розы было проведено микрочеренкование побегов или отделение микророзеток и несколько субкультивирований меристемных культур пяти сортов (Мичуринка, Лань, Радуга, Лада, Фестивальная). Проанализированы морфометрические параметры развития эксплантов на этапе собственно микроразмножения и получены данные о влиянии сорта на эффективность размножения в течение 9-ти субкультивирований *in vitro*. Как видно из представленных данных, многие изученные параметры (см. табл. 1) и коэффициент размножения (рис. 1) к 3-му субкультивированию увеличились. Коэффициент размножения достиг максимума у сортов Радуга (15,7) и Мичуринка (13,2) в 3-м субкультивировании. В следующем, 4-м субкультивировании, у 'Радуги' и 'Лады' происходило достоверное снижение КР, у 'Мичуринки' наблюдали аналогичную тенденцию. У сорта Фестивальная в 4-м пассаже КР достиг наибольшего значения в опыте. В течение дальнейших 5-9 субкультивирований наблюдали снижение и некоторую стабилизацию этого параметра, который варьировал от 4,6 до 8,2, в зависимости от сорта и количества субкультивирований. Однако, следует отметить, что в 8-9 субкультивировании у сорта Лада происходило достоверное увеличение КР по сравнению с 5-7 субкультивированием (см. рис. 1).

Повышение коэффициента размножения к 3-4 субкультивированию в культуре меристем ранее нами было показано для лаванды, однако у других изученных эфиромасличных растений (герани, шалфея, фенхеля) значительных изменений этого показателя в результате первых субкультивирований не наблюдали [2]. При анализе микроразмножения *R. damascena* в течение 4-х субкультивирований иранские ученые установили, что в 1-м субкультивировании уровень пролиферации был выше, чем в последующих [12]. Для *R. moschata* также сообщалось о более высокой интенсивности пролиферации в первом субкультивировании, тогда как во втором число побегов снижалось [цит. по: 13]. В то же время Кумар с соавт. показали возможность успешного размножения *R. damascena* в течение 8-12 субкультивирований, после которых побеги пролиферировали даже на безгормональной питательной среде [15].

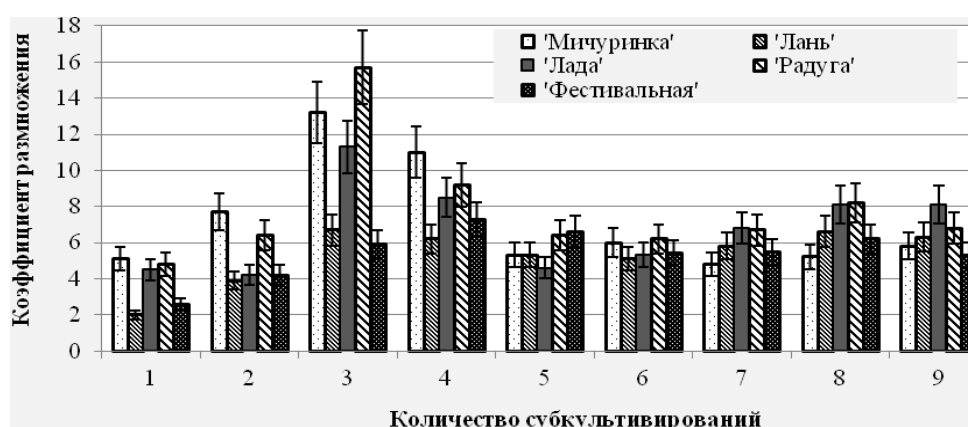


Рис. 1 Влияние количества субкультивирований и генотипа на коэффициент размножения розы эфиромасличной *in vitro*

При сравнении морфогенеза меристемных культур разных генотипов в течение длительного культивирования следует отметить, что лучшее развитие побегов и более высокие коэффициенты размножения были у сортов Радуга, Мичуринка и Лада. Преимущество этих сортов особенно хорошо проявилось в течение первых 4-х субкультивирований (см. рис. 1). Затем, в 5-9-м субкультивировании, различия между

генотипами стали не так существенны, хотя сорта Лада и Радуга проявили более высокую регенерационную активность. Значительное влияние генотипа на индукцию процесса морфогенеза и эффективность микроразмножения *in vitro* отмечалось во многих работах для сортов и видов розы эфиромасличной [6, 13, 16], а также для многих других видов растений [5].

Состав питательной среды для микроразмножения *in vitro* является одним из важнейших факторов культивирования. При оптимизации питательной среды для 2-го этапа размножения розы микропобеги с 1 узлом сортов Радуга и Мичуринка (после 5-го субкультивирования) культивировали на 15-ти модификациях питательной среды МС, различающихся по составу и содержанию регуляторов роста (БАП, кинетин, гибберелловая кислота, ИУК) и углеводов (табл. 2). В качестве контрольной была использована ранее рекомендованная среда МСР6, которая ранее использовалась нами на этапе введения в культуру [3].

Таблица 2

**Влияние состава питательной среды (ПС) на развитие эксплантов розы эфиромасличной сортов Радуга и Мичуринка на втором этапе микроразмножения *in vitro***

№ ПС	Состав ПС (регуляторы роста, мг/л)	Количество побегов, шт.		Длина побега, мм		Коэффициент размножения	
		Радуга	Мичуринка	Радуга	Мичуринка	Радуга	Мичуринка
1	2	3	4	5	6	7	8
МСР6	БАП (1,0); ГК (0,1); глюкоза 2%	2,5±0,2	2,6±0,2	12,7±0,6	10,7±0,4	6,3±0,4	5,5±0,4
МС490	Кинетин (1,0); ГК (0,1); глюкоза 2%	1,1±0,1	1,0	9,8±0,4	7,8±0,6	2,1±0,2	1,2±0,1
МС491	БАП (0,5); сахароза 2%	1,5±0,2	1,6±0,2	8,8±0,4	13,2±1,5	2,4±0,2	4,0±0,3
МС492	БАП (1,0); сахароза 2%	1,2±0,1	2,0±0,1	8,3±0,3	8,4±1,3	1,7±0,1	2,8±0,2
МС493	БАП (2,0); сахароза 2%	1,5±0,1	1,0	9,0±0,3	11,1±1,9	2,3±0,2	1,7±0,2
МС510	БАП (3,0); сахароза 2%	1,6±0,2	1,8±0,4	9,7±0,5	10,6±0,5	2,6±0,2	3,2±0,2
МС494	БАП (1,0); глюкоза 2%	2,2±0,3	1,6±0,2	10,7±0,9	9,6±0,5	4,8±0,5	2,6±0,3
МС495	БАП (1,0); ИУК (0,5); сахароза 2%	1,3±0,1	1,4±0,2	10,2±0,8	10,2±0,5	2,7±0,3	2,5±0,3
МС496	БАП (1,0); ИУК (0,5); ГК (0,5); сахароза 2%	1,3±0,1	1,3±0,2	8,4±0,6	7,2±0,5	2,1±0,2	1,4±0,2
МС497	БАП (0,5); ГК (0,5); сахароза 2%	1,5±0,1	1,2±0,2	9,7±0,6	9,9±0,8	2,7±0,2	2,4±0,2
МС498	БАП (0,5); ГК (0,5); глюкоза 2%	2,9±0,3	2,4±0,3	11,6±0,3	12,6±0,7	7,5±0,6	5,5±0,4
МС511	БАП (1,0); ГК (0,5); глюкоза 2%	3,1±0,3	2,9±0,3	12,1±0,5	11,0±0,5	7,1±0,5	6,1±0,5
МС512	БАП (1,0); ГК (0,5); сахароза 2%	2,3±0,3	2,8±0,3	10,6±0,5	9,8±0,5	4,6±0,4	5,3±0,5
МС513	БАП (1,0); ИУК (0,2); ГК (0,5); глюкоза 2%	3,5±0,4	3,2±0,3	12,3±0,6	11,1±0,4	8,4±0,5	6,4±0,5
МС515	БАП (1,0); ИУК (0,2); ГК (0,5); сахароза 2%	1,4±0,2	1,2±0,1	9,8±0,6	9,7±0,7	2,4±0,2	1,9±0,2

Как видно из представленных данных, замена БАП на кинетин (МС490), использование в составе питательной среды в качестве углевода сахарозы и разных концентраций БАП (МС 491, МС492, МС493, МС510) было неэффективным для обоих сортов – коэффициенты размножения на этих средах были ниже, чем на контрольной среде (от 1,2 до 3,2). Не способствовало повышению коэффициента размножения использование и ряда других модификаций питательной среды с БАП, ИУК, ГК и сахарозой (МС495, МС496, МС497, МС515). Максимальные коэффициенты размножения в данном опыте (8,4 для ‘Радуги’ и 6,4 для ‘Мичуринки’) были получены при добавлении в состав среды БАП (1,0 мг/л), ИУК (0,2 мг/л), гибберелловой кислоты (0,5 мг/л) и 2% глюкозы (см. табл. 2). На этой среде МС513 у обоих сортов было наиболее высокое число побегов на эксплант (3,2-3,5 шт.). Следует отметить сортовые отличия при культивировании эксплантов на разных питательных средах. У ‘Радуги’ было выявлено достоверное повышение КР на среде МС513 по сравнению с контрольной, тогда как у ‘Мичуринки’ отмечена лишь тенденция к увеличению данного параметра. Тем не менее, данную среду можно рекомендовать для выращивания меристемных культур изученных сортов на 2-м этапе микроразмножения розы эфиромасличной.

Имеющиеся литературные данные по составу питательных сред для микроразмножения розы эфиромасличной достаточно разнообразны. Большинство авторов в качестве цитокинина рекомендуют введение в состав питательной среды БАП [6, 12, 14, 16, 17]. При этом иранские ученые использовали относительно высокие концентрации этого регулятора роста – до 3,0 мг/л [12] и 4,0 мг/л [17]. Вместе с тем была показана эффективность применения кинетина [8], тидиазурона [13, 15] или совместного использования цитокинина, ГК и ауксина (НУК, ИУК) [11, 13, 16]. Нудез с соавт. установили, что увеличение содержания  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{FeSO}_4$  в питательной среде способствовало увеличению в 5-10 раз числа побегов у *R. damascene* [17]. В то же время другим исследователем [18] для этого вида розы была выявлена эффективность введения в состав среды не только БАП и НУК, но и флороглюцина. Для изученных нами сортов розы эфиромасличной, как видно из представленных данных, наиболее высокие коэффициенты размножения были отмечены при введении в состав среды МС 1,0 мг/л БАП совместно с 0,2 мг/л ИУК и 0,5 мг/л гибберелловой кислоты.

### Выводы

На основании исследования меристемных культур пяти сортов розы эфиромасличной (Мичуринка, Лань, Радуга, Лада, Фестивальная) на 2-м этапе микроразмножения показано что их развитие зависит от генотипа, состава питательной среды и количества субкультивирований *in vitro*. В результате изучения влияния 15 модификаций питательной среды Мурасиге и Скуга на морфогенез эксплантов сортов Радуга и Мичуринка выявлена эффективность использования для размножения среды МС с добавлением 1,0 мг/л БАП, 0,2 мг/л ИУК, 0,5 мг/л гибберелловой кислоты. При анализе развития меристемных культур в течение 9 субкультивирований показано, что коэффициент размножения к 3-му субкультивированию увеличился, достигнув максимума у ‘Радуги’ (15,7) и ‘Мичуринки’ (13,2), а в дальнейшем – варьировал от 4,6 до 8,2, в зависимости от сорта и количества субкультивирований.

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

### Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учебное пособие. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
2. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Якимова О.В., Каменек Л.И., Кривохатко А.Г. Некоторые аспекты клонального микроразмножения и сохранения *in vitro* эфиромасличных растений // Таврический вестник аграрной науки. – 2015. – №1(3). – С.18-24.
3. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Кривохатко 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
4. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений – Киев: Наук. думка. 1980. – 488 с.
5. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. – К.: Наукова думка, 2005. – 270 с.
6. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Браилко В.А., Лесникова-Седошенко Н.П. Биотехнологические и физиологические особенности культивирования *in vitro* ценных генотипов розы эфиромасличной // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2015. – №2(13). – С. 37-48.
7. Назаренко Л.Г., Афонин А.В. Эфиромасличные юга Украины. – Симферополь: Таврия, 2008. – 144 с.
8. Шкопинский Е.А., Таланкова-Середа Т.Е., Гриценко Ю.Ю., Добридень А.А., Гетьман А.А. Клональное размножение розы эфиромасличной (*Rosa L.*) *in vitro* / Вестник Запорожского национального университета. – 2014. - №1. – С.31-38.
9. 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. – Vol.10, N22. – P. 4564-4573.
10. Canli F.A., Kazaz S. Biotechnology of Roses: progress and future prospects // Suleyman Demirel Universitesi Orman Fakultesi Dergisi. – 2009. – N1. – P.167-183.
11. Ginova A., Tsvetkov I., Kondakova V. *Rosa damascena* Mill. – an overview for evaluation of propagation methods // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2012. – Vol. 18, N 4. – P. 545-556
12. Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M. Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // Sci. Hort. – 2005. – 105, N 4. – P. 475-482.
13. Khosh-Khui M. Biotechnology of scented Roses: a review // International Journal of Horticultural Science and Technology. – 2014. – Vol. 1, N 1. – P. 1-20.
14. Kornova K., Michailova J. Optimizing the rooting process in propagation of kazanlak oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) *in vitro* // Propagation of Ornamental Plants. – 2008. – 8, N 4. – P. 224-229.
15. Kumar A., Sood A., Palni U., Gupta A., Palni L.M. Micropropagation of *Rosa damascena* Mill. from mature bushes using thidiazuron // J. Hort. Sci. Biotechnol. – 2001. – Vol. 76, N 1. – P. 30-34.
16. Nikbakht A., Kafi M., Mirmasoumi M., Babalar M. Micropropagation of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) cvs Azaran and Ghamsar // International Journal of Agriculture and Biology. – 2005. – Vol. 7, N 4. – P. 535-538.
17. 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.
18. 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. – Vol.12, N 7. – P.960-966.

Статья поступила в редакцию 08.08.2016 г.

Yegorova N.A., Stavtseva I.V., Mitrofanova I.V. Influence of cultivar and cultivation factors *in vitro* on the essential oil rose clonal micropropagation // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2016. – № 120. – P. 36-43.

The development of meristem cultures of five essential oil rose cultivars (Lany, Raduga, Lada, Michurinka, Festivalnaya) was investigated on the second stage of micropropagation, depending on the composition of the culture medium, genotype and number of subcultures *in vitro* were studied as well. The efficiency of MS used for medium propagation, supplemented with 1,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l IAA, 0,5 mg/l gibberellic acid was revealed in terms of the research. . When analyzing the development of meristem cultures during 9 subcultivations it was shown that the reproduction coefficient increased by the third subcultivation, reaching maximum for 'Raduga'(15.7) and 'Michurinka' (13.2), and subsequently – ranged from 4,6 to 8,2, depending on cultivar and a number of subcultivations.

**Keywords:** *cultivar; Rosa damascena; R. gallica; R. alba; meristem culture; subcultivation; micropropagation*

## БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 58.08:543.05

### БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ ЗАПАДНОГО КАВКАЗА

Виктор Николаевич Бехтерев<sup>1,2</sup>, Татьяна Михайловна Коломиец<sup>1</sup>,  
Валентина Ивановна Маляровская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур»,  
Россия, Сочи  
malyarovskaya@yandex.ru

<sup>2</sup>Сочинский государственный университет, Россия, Сочи  
vic-bekhterev@yandex.ru

Показано, что применение метода экстракционного вымораживания позволяет существенно повысить селективность экстракции природных органических веществ. Этот метод позволил уже на начальной стадии экстракции органических веществ из корней иглицы понтийской *Ruscus ponticus* Woronow отделить углеводы от стероидных сапонинов. Установлено, что углеводный состав органической и водной фазы экстракта иглицы существенно отличается. Применение экстракционного вымораживания на этапе извлечения целевых компонентов позволяет отделять углеводы от остальных фракций БАВ, оставляя сахара преимущественно в водной фазе, при этом суммарная концентрация фруктозы, глюкозы и сахарозы в водной части ( $\approx 0,9\%$ ), что выше, чем в ацетонитрильной фракции ( $\approx 0,3\%$ ). В этанольных экстрактах синеголовника морского *Eryngium maritimum* L. с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии идентифицирован ряд ценных БАВ, в том числе фалкаринол (относительное содержание которого,  $\approx 18\%$ ) и стигмастерол (относительное содержание  $\approx 23\%$ ).

**Ключевые слова:** *Иглица понтийская; Синеголовник морской; экстракционное вымораживание; хроматография.*

### Введение

Сохранение биологического разнообразия – одна из важнейших задач в деле охраны природы. Связано это с ограниченностью необходимых для существования человека биологических ресурсов и угрозой их истощения. На территории Западного