



**И. В. Ставцева**, к. с.-х. н., ст. н. с.;  
**Н. А. Егорова**, к. б. н., зав. лабораторией  
 лаборатория биотехнологии отдела селекции и семеноводства  
 эфиромасличных и лекарственных культур,  
 Институт сельского хозяйства Крыма НААНУ

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ В СЕЛЕКЦИИ РОЗЫ ЭФИРОМАСЛИЧНОЙ

Роза – одна из основных эфиромасличных культур, возделываемых в нашей стране. Из цветков розы получают розовое масло, розовый конкрет (экстракт), розовое абсолютное масло (абсолю) и розовую воду [6]. Розовое масло является обязательным и пока незаменимым компонентом лучших косметических изделий. Продукты переработки цветков розы имеют прекрасный аромат и используются при изготовлении духов, одеколонов, кремов, эликсиров. Кроме того, цветки розы, розовая вода и масло широко применяются в кондитерском и ликёрно-водочном производствах.

Основными методами селекционной работы с розой является гибридизация с последующим индивидуальным отбором форм, обладающих ценными хозяйственными признаками [10]. Межсортовая и межвидовая гибридизация является неисчерпаемым источником получения нового исходного материала, что обуславливает сложную генетическую природу каждого сорта. Большинство современных сортов, выращиваемых в Украине (Аура, Лань, Лада, Радуга), были получены с использованием гибридизации. Так, гибрид сортов Белая и Мичуринка стал родоначальником сорта Лань, а сорт Радуга – это гибрид сортов Весна (*R. damascena* Mill. x *R. gallica* L.) и Крымская Красная (*R. gallica* L.).

Однако при гибридизации селекционеры часто сталкиваются с рядом проблем, главными из которых являются низкая завязываемость семян и высокая гибель гибридных зародышей [5]. Эффективным методом, позволяющим преодолеть эти трудности и повысить выход гибридных проростков, является культура изолированных зародышей (эмбриокультура). Это достаточно распространённый метод, уже долгие годы широко используемый в различных селекционных программах многих сельскохозяйственных растений для получения гибридов, сочетающих признаки разных видов. В Никитском ботаническом саду под руководством А.И. Здруйковской-Рихтер активно проводится работы с зародышами плодовых растений [3]. Культуру зародышей использовали также для преодоления нескрещиваемости у мягкой пшеницы [13], сахарной свёклы [1], для получения гибридного потомства у бессемянных сортов винограда [7].

Метод культуры изолированных зародышей нашел применение и в селекции эфиромасличных растений. Известно его удачное использование при скрещивании географически отдалённых форм фенхеля [8]. С использованием эмбриокультуры у шалфея были получены межвидовые гибриды культурных сортов *Salvia sclarea* L. (С 785 и С 1122) с дикорастущими видами *S. scabiosifolia* Lam., *S. aethiopsis* L., *S. grandiflora* Etling [9]. У розы эфиромаслич-

*Исследовано развитие изолированных зародышей розы эфиромасличной по 30 комбинациям скрещивания. Выявлена оптимальная питательная среда RCM, обеспечивающая образование до 76,8% проростков. Показано влияние комбинации скрещивания на выход гибридных проростков.*

**Ключевые слова:** роза эфиромасличная, культура зародышей *in vitro*, гибриды.

ной для преодоления несовместимости и увеличения выхода гибридных зародышей ранее был разработан способ, основанный на культивировании изолированных зародышей в условиях *in vitro*, позволивший получить гибриды по 10 комбинациям скрещивания [11]. Однако дальнейшие исследования показали, что рекомендованная питательная среда Рандольфа и Кокса не подходила для культивирования изолированных зародышей других гибридных комбинаций. В связи с этим целью данной работы было определение влияния генотипа родительских форм и состава питательной среды на развитие изолированных гибридных зародышей розы эфиромасличной.

**Материал и методы.** В качестве родительских форм использовали сорта Радуга, Лань, Крымская Красная, Мичуринка, Весна, Украина, Индика, Казанлыкская Розовая, Фестивальная, Таврида, образцы №№ Н1050, 8017, 1775, С13А, 8476, 7806, М215, М340, 2160, полученные при участии видов *Rosa gallica* L., *R. damascena* Mill., *R. alba* L. Гибридизацию проводили по 30 комбинациям скрещивания в полевых условиях по стандартной методике, используемой в селекционной работе с розой эфиромасличной [10]. Культивирование изолированных зародышей проводили по методикам, принятым для культуры тканей и органов [2]. Зародыши изолировали на 40–50 день после опыления цветков в условиях стерильного бокса. В качестве основных использовали агаризованные питательные среды Риджвена, Брукса-Хауфа, Рандольфа и Кокса, Мура-сиге и Скуга [4] и модифицированную среду RCM, основу которой составляет среда Рандольфа и Кокса с добавлением микроэлементов и витаминов [12].

В течение двух месяцев после эксплантации на питательную среду зародыши культивировали в холодильной камере в темноте при температуре +5–7°C. В дальнейшем культивирование проводили при 26°C, 70%-ной относительной влажности воздуха, 16-часовом световом периоде и освещенности 8–10 тыс.лк. Перевод растений из стерильных условий в условия *in vivo* производили после образования 4–5 пар листьев. Проростки высаживали в сосуды со смесью равных частей торфа, перлита и керамзита, закрывали стеклянными стаканчиками для поддержания высокой влажности. Полив осуществляли раствором Чеснокова. Через 6–7 месяцев растения высаживали в

гибридный питомник. На 3–4 год вегетации проводили учет высоты растений, определяли массу цветка и массовую долю эфирного масла.

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью методов статистического анализа при использовании пакета программ Microsoft Office (Excel 2003).

**Результаты исследования.** У эфиромасличной розы при межсортовых (межвидовых) скрещиваниях была выявлена постгамная несовместимость, которая приводила к гибели зародышей на ранних стадиях развития и низкой всхожести гибридных семян [11]. Нами установлено, что в большинстве случаев завязывалось незначительное количество семян (до 3 шт. на циннародий при наличии 25–50 семян). Поэтому получение гибридных проростков розы традиционным способом, как правило, малоэффективно. Так, в гибридной комбинации 'Весна' x 'Крымская Красная' из 45 семян было получено 2 проростка (4,4%), а в комбинации 'Украина' x 'Радуга' – ни одного.

Проведённые исследования показали, что применение метода эмбриокультуры позволяет увеличить выход гибридных проростков. Изолированные гибридные зародыши в течение двух месяцев культивировали на твёрдой агаризованной питательной среде при низких положительных температурах. За это время у части зародышей семядоли поднимались над поверхностью питательной среды и появлялся корень. На этой стадии пробирки с проростками переносили в культуральную комнату, где у последних через неделю наблюдалось образование листьев.

Для выявления оптимальной питательной среды, пригодной для получения гибридных проростков различных гибридных комбинаций, нами было изучено влияние состава пяти питательных сред на выход гибридных растений пяти комбинаций скрещивания (табл. 1). Как следует из представленных данных, на питательных средах Брукса-Хауфа, Рандольфа и Кокса и Мура-сиге и Скуга зародыши проросли и были получены растения лишь в некоторых гибридных комбинациях, при этом выход растений был невысоким и не превышал 17,4%. Питательная среда Риджвена оказалась непригодной для выращивания растений розы эфиромасличной из зиготических зародышей. При её использовании гибридные растения не удалось получить ни в одной комбинации скре-



щивания. На питательной среде RCM зародыши всех изученных гибридов проросли и были получены растения. Максимальный выход гибридных растений на этой среде отмечен в комбинации 'Украина' x 'Радуга' (31,9%). Этот показатель у других комбинаций колебался от 13,9 до 24,3%. Следовательно, питательная среда RCM оказалась более универсальной при культивировании зародышей розы и её можно рекомендовать для получения гибридов для широкого спектра комбинаций скрещивания.

Как показали наши исследования, существенное влияние на частоту образования гибридных растений розы оказывал не только состав питательной среды, но и генотип родительских форм, участвующих в скрещиваниях. В табл.2 представлены данные по некоторым из 30 изученных гибридных комбинаций розы эфиромасличной, которые свидетельствуют о влиянии генотипа на выход гибридных растений. При этом максимальная частота образования растений (43,8–65,8%) наблюдалась в комбинациях, где в качестве материнской формы использовали селекционный образец № 8017. Следует отметить, что при реципрокных скрещиваниях с участием этого образца семена не завязывались. Гибриды 'Весна' x 'Крымская Красная' и 'Радуга' x № Н1050, а также наиболее ценные для селекционеров комбинации 'Белая' x 'Мичуринка' и № 2160 x 'Мичуринка' имели средний выход растений (38,9; 25,9; 29,9 и 17,6% соответственно). Невысокая частота формирования гибридных проростков отмечена в комбинациях, где в качестве материнской формы использовали сорт Лань (16,2–18,6%).

Полученные данные показывают, что у всех гибридных комбинаций наблюдалось снижение частоты образования растений по сравнению с частотой образования проростков, то есть не все проростки развивались в полноценные растения. Гибель растений на ранней стадии развития происходила, как правило, из-за аномального формирования корневой системы. В одних случаях главный корень не развивался вовсе, в других, напротив, наблюдалось развитие мощного главного корня при полном отсутствии боковых корней и стебля растения. Эти аномалии развития приводили к образованию неполноценных проростков, которые не выдерживали перевод в обычные условия выращивания *in vivo*.

С помощью культуры *in vitro* были получены и переданы селекционерам 947 гибридных форм перспективных комбинаций скрещивания, среди которых 63 растения комбинации 'Белая' x 'Мичуринка' и 422 гибридных растения 'Весна' x 'Крымская Красная'. При дальнейших исследованиях в полевых условиях было показано, что большая часть гибридов по основным хозяйственным признакам занимала промежуточное положение по отношению к родительским формам. При этом были выделены перспективные гибридные растения с высокой массовой долей эфирного масла для дальнейшей селекционной работы.

Использование метода эмбриокультуры позволяет интенсифицировать селекционный процесс за счет сокращения сроков получения гибридных растений. Весь процесс развития растений из зародышей до стадии, на которой растения можно высаживать в сосуды с почвой или открытый грунт, составляет от 3 до 6 месяцев. Происходит это за счет исключения фазы созревания

Таблица 1  
Влияние состава питательной среды и комбинации скрещивания на частоту образования растений розы эфиромасличной с использованием эмбриокультуры, %

Питательная среда	Гибридная комбинация				
	'Радуга' x 'Крымская Красная'	'Розовая' x № 2160	'Украина' x 'Радуга'	'Розовая' x 'Крымская Красная'	'Весна' x 'Крымская Красная'
Риджвена	0	0	0	0	0
Брукса-Хауфа	0	0	0	4,2 ± 0,3	7,1 ± 0,9
Рандольфа и Кокса	0	17,4 ± 1,3	0	3,0 ± 0,2	11,8 ± 1,5
RCM	24,3 ± 1,8	14,6 ± 1,6	31,9 ± 2,2	13,9 ± 1,4	24,3 ± 2,3
Мурасиге и Скуга	0	12,5 ± 1,3	0	2,4 ± 0,2	16,7 ± 1,8

Таблица 2  
Влияние комбинации скрещивания на частоту образования гибридных растений розы эфиромасличной с использованием эмбриокультуры (питательная среда RCM)

Гибридная комбинация	Всего высажено зародышей, шт.	Получено проростков, шт.	Частота образования проростков, %	Получено растений, шт.	Частота образования растений, %
'Белая' x 'Мичуринка'	201	95	47,2 ± 0,9	60	29,9 ± 0,8
№ 2160 x 'Мичуринка'	17	5	29,4 ± 5,4	3	17,6 ± 4,9
№ 8017 x 'Лань'	48	26	54,2 ± 1,4	21	43,8 ± 1,1
№ 8017 x № 1775	146	110	75,3 ± 1,2	96	65,8 ± 1,5
№ 8017 x 'Радуга'	233	179	76,8 ± 0,6	127	54,5 ± 0,5
№ 8017 x № С13А	208	135	64,9 ± 0,3	113	54,3 ± 0,8
'Весна' x 'Крымская Красная'	1086	513	47,2 ± 0,9	422	38,9 ± 0,7
'Радуга' x № Н1050	54	33	61,1 ± 5,6	14	25,9 ± 4,5
'Лань' x 'Украина'	169	44	26,0 ± 0,7	30	17,8 ± 0,5
'Лань' x 'Радуга'	167	41	24,6 ± 0,6	31	18,6 ± 0,4
'Лань' x № 7806	390	96	24,6 ± 0,8	63	16,2 ± 0,7

плодов (1–1,5 месяца) и продолжительности стратификации (от 3–4 месяцев до 1–1,5 лет). Кроме того, количество гибридных проростков существенно увеличивается при культивировании изолированных зиготических зародышей в условиях *in vitro*. Изоляция зародышей на 40–50 день после опыления позволяет частично избежать их гибели при прохождении дозревания плодов и стратификации. Так, частота образования проростков гибридной комбинации 'Весна' x 'Крымская Красная' составила 24,3%, что было в 5,5 раз выше, чем при использовании традиционного способа проращивания семян. В комбинации 'Украина' x 'Радуга' были получены проростки с частотой 31,9%, в то время как при обычном способе проращивания нами проростков не получено.

Таким образом, в результате экспериментальной работы было установлено, что при культивировании изолированных зародышей розы эфиромасличной существенное влияние на частоту образования гибридных растений оказывали генотип компонентов скрещивания и состав питательной среды. Рекомендованная ранее среда Рандольфа и Кокса имеет более простой состав и поэтому, возможно, оказалась менее эффективной для большинства изученных комбинаций скрещивания. Оптимальной для выращивания гибридных растений розы была питательная среда RCM, на которой в условиях *in vitro* формировалось от 24,6 до 76,8% проростков, в зависимости от комбинации скрещивания. Проведённые исследования показали эффективность применения экспериментального подхода, основанного на культивировании изолированных зародышей *in vitro*, для получения гибридов по

нескольким десяткам комбинаций скрещивания, которые представляют перспективный исходный материал для селекции розы эфиромасличной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богачёва Н.Н., Жужжалова Т.П., Епринцев А.Т., Федорин Д.Н. Создание и молекулярногенетическое изучение межвидовых гибридов свёклы (*Beta vulgaris* L. x *Beta corolliflora* Zoss.) // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тез. IX межд. конф. – М.: ФБК-ПРЕСС. – 2008. – С. 50.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учебное пособие. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
3. Здруйковская-Рихтер А.И. Эмбриокультура изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений. – Ялта, 2003 – 368 с.
4. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – К.: Наук. Думка, 1980. – 488 с.
5. Назаренко Л. Г. Селекция розы эфиромасличной. – Симферополь: Изд-во ИЭЛР, 1997. – 418 с.
6. Назаренко Л.Г., Афонин А.В. Эфирносыя юга Украины. – Симферополь: Таврия, 2008. – С. 76–105.
7. Павлова И.О. Особенности культивирования стеноспермокарпичного насинья винограда в селекции на безнасинность: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук - Ялта, 2003. – 17 с.
8. Пугачёва С.С., Бугаенко Л.А. Создание исходного материала для селекции фенхеля с использованием метода культуры изолированных зародышей // Современные научные исследования в садоводстве: материалы VIII межд. конф. – Ялта, 2000. – С.49–53.
9. Русина Л.В., Бугара А.М., Бугаенко Л.А. Использование метода культуры изолированных зародышей для получения межвидовых гибридов шалфея // Физиология и биохимия культ. растений. – 1997. – Т.29, №2. – С. 121–128.



10. Селекция эфиромасличных культур (методические указания). – Симферополь. 1977. – С. 29-47.

11. Семёнова Е.Ф. Эмбриологические особенности розы эфиромасличной в связи с интенсификацией селекционного процесса: автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. биол. наук - Симферополь, 1987. – 23 с.

12. Фирсова Э.К., Мезенцев А.В., Рубцов М.И. Межвидовая гибридизация клевера с использованием культуры зародышей // Селекция и семеноводство. – 1980. – №1. – С.16-18.

13. Хайленко Н.А. Межвидовые гибриды мягкой пшеницы: первое и второе поколение после эмбриокультуры // Актуальные проблемы прикладной ге-

нетики, селекции и биотехнологии растений: тез. межд. науч. конф. – Ялта, 2009. – С.167.

Поступила 5.03.2013

© И.В.Ставцева, 2013

© Н.А.Егорова, 2013