

А. А. Криницына, снс, к. б. н.,

О. А. Чурикова, снс, к. б. н.

МГУ им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, г. Москва

krinitsina@mail.ru

УДК 57.085.23

ПОЛУЧЕНИЕ СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ ИЗ СЕМЯН И КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ *FICUS CARICA* L.*

Резюме. Отработана технология клонального микроразмножения *Ficus carica* L. Отмечена целесообразность чередования питательных сред с тидиазуроном (TDZ) и 2-иР при микроочеренковании. На среде с добавлением 0,2 мг/л TDZ происходит индукция развития всех пазушных почек экспланта, на среде с 1 мг/л 2-иР развиваются микропобеги без признаков витрификации. Полученные результаты могут быть использованы для разработки стратегии сохранения генофонда инжира в коллекции *in vitro*.

Ключевые слова: *Ficus carica* L., клональное микроразмножение, коллекция *in vitro*.

Summary: Technology of *Ficus carica* L. clonal micropropagation is worked out. The expedience of altering of nutritive medium with TDZ and 2-iP during microcutting is noticed. The induction of development of all axillar buds of explant occurs on plant medium with 0,2 mg/l TDZ. Microshoots without any features of vitrification develop on plant medium with 1 mg/l 2-iP. The obtained results can be used to develop a strategy for preserving the gene pool of figs in the collection *in vitro*.

Key words: *Ficus carica* L., clonal micropropagation, *in vitro* collection.

Род Инжир (*Ficus* L., сем. *Moraceae*) насчитывает более 1000 видов. В диком виде инжир обитает в Закавказье, Средней Азии, Иране, Малой Азии, Индии и Афганистане [1]. Растения *Ficus carica* L. одними из первых были введены в культуру благодаря съедобным плодам. В ряде стран Средиземноморского бассейна эта культура возделывается уже в течение тысячелетий и играет важную роль в экономике сельского хозяйства [2]. Деревья неприхотливы к условиям произрастания, устойчивы к болезням и вредителям, дают ежегодные стабильные урожаи. Соплодия инжира богаты аминокислотами, минеральными веществами и пищевыми волокнами, содержат мало жиров и холестерина. Наличие полифенолов, флавоноидов и антоцианов обуславливает их высокую антиоксидантную способность [3]. Наиболее ценным продуктом является сушеный инжир, в 100 г. которого содержится 46 мг железа, 263 мг фосфора, 227 мг калия, 117 мг магния, в небольшом количестве витамины А1, В1, В2, С, Е, РР и до 76% сахаров [4].

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00029 (направление «Растения»). Авторы выражают благодарность за сбор растительного материала научному сотруднику биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова Е. М. Литвиновой.

В литературе приводятся данные о существовании большого количества дикорастущих экотипов [5] и рас [6] *F. carica*, богатый генофонд которых можно использовать для получения новых перспективных сортов. Использование современных биотехнологических методов открывает новые возможности сохранения имеющегося генофонда этой культуры и получения достаточного количества исходного материала для последующего проведения селекционных работ.

Для сохранения генетической однородности растений, которые размножают в стерильных условиях, предпочтительно получать растения через прямой органогенез: путем индукции развития уже имеющихся почек. Не только различные виды, но и разные сорта и/или линии одной и той же культуры могут по-разному реагировать на одни и те же условия [7]. В литературе имеются указания на размножение дикорастущих форм и сортов инжира в культуре *in vitro*, полученной при использовании в качестве первичных эксплантов верхушек побегов, а также его узлов с пазушными почками на различных питательных средах с добавлением цитокининов, ауксинов и гибберелинов [7-9]. Ранее нами была получена стерильная культура *F. carica* с использованием зеленых черенков растений из популяции, произрастающей в каньоне реки Воротан (провинция Сюник, Армения), и выявлены некоторые особенности морфогенеза *in vitro*. Целью настоящей работы была разработка методики клонального микроразмножения инжира в культуре *in vitro* при использовании в качестве первичных эксплантов семян.

Соплодия инжира были собраны в октябре 2016 года на Южном берегу Крыма (Артек). Выделенные семена замачивали на 40 минут в «Фундазол-М» (0,2%-ный раствор действующего вещества), помещали последовательно на 1–2 минуты в 70%-ный этиловый спирт, на 30 минут в 3%-ный раствор препарата «Лизоформин», после чего промывали их в трех сменах (по 10 минут) дистиллированной воды. Подготовленные таким способом семена проращивали на питательной среде по прописи Т. Мурасиге и Ф. Скуга [10] с добавлением 30 г/л сахарозы и без гормональных регуляторов роста. Спустя месяц семена дружно прорастали при 21 °С (всхожесть составляла 95%). Полученные микропобеги, включающие 2–3 узла, или отдельные узлы с пазушными почками высаживали на питательные среды для собственно размножения: среда МС с 20 г/л сахарозы и добавлением 1 мг/л N6-(2-изопентил) аденина (2-iP) или 0,2 мг/л тидиазурона (TDZ). Для укоренения полученные микропобеги высаживали на среду МС без добавления регуляторов роста.

Спустя 3 недели на среде с 2-iP микропобеги наращивали число метамеров и достигали $3,43 \pm 0,87$ см в высоту. Уже через 1,5–2 недели культивирования в пазухах семядольных и двух нижних пар настоящих листьев начиналось формирование пазушных побегов. На среде с TDZ происходила индукция развития всех пазушных почек микропобега. Скорость роста пазушных побегов на этой среде оказалась выше: через 3 недели культивирования они имели 2–3

сближенных узла и были примерно в 2 раза длиннее тех, которые развивались за тот же срок на среде с добавлением 2-iP (табл. 1). Однако через 4 недели культивирования у регенерантов наблюдались признаки витрификации.

Таблица 1.

Длина развивающихся *in vitro* пазушных побегов инжира в зависимости от состава питательной среды и типа экспланта, см

Состав питательной среды	Тип экспланта	
	микроробеги	Черенки микроробегов
МС + 1 мг/л 2-iP + 20 г/л сахарозы	0,3±0,08	0,36±0,05
МС + 0,2 мг/л TDZ + 20 г/л сахарозы	0,53±0,1	0,9±0,09

За тот же промежуток времени пазушные почки микрочеренков, помещенных на питательные среды с 2-iP и TDZ, трогались в рост и развивали побеги до 0,36±0,05 см и 0,9±0,09 см длиной соответственно (табл. 1). При этом на среде с TDZ также наблюдались признаки витрификации. Ни на одном из вариантов питательной среды у эксплантов не было отмечено формирования раневого каллуса. Через 8 недель культивирования на среде МС без добавления гормонов в базальной части микроробегов наблюдалось развитие придаточных корней.

Таким образом, анализ морфогенеза *in vitro* растений *F. carica* из крымской популяции показал, что использование методики с чередованием питательных сред, содержащих 0,2 мг/л TDZ и 1 мг/л 2-iP, целесообразно для размножения и поддержания стерильной культуры этих растений, полученной из семян. Результаты проведенных исследований также могут быть использованы в дальнейшем для сохранения генофонда *F. carica* в коллекции *in vitro*.

Список использованной литературы

1. Шишкина Е. Л. Создание генофонда инжира в Никитском ботаническом саду и его использование // Тр. Никитского ботанического сада, 2010. — Т. 1. — № 32. — С. 184–188.

2. Zohary D., Hopf M. Domestication of Plants in the Old World // Oxford University Press, 1988. — Oxford, UK. — 328 p.

3. Рихтер А. А., Виноградов Б. А., Марчук Н. Ю., Шишкина Е. Л. Аромат соплодий инжира *Ficus carica* L. // Интродукция растений, 2014. — № 3. — С. 85–91.

4. Ядров А. А., Синько Л. Т., Казас А. Н., Шолохова В. А. Орехоплодные и субтропические плодовые культуры — Симферополь: Таврия, 1990. — 160 с.

5. Podgornik M., Vuk I., Vrhovnik I., Mavsar D.B. A survey and morphological evaluation of fig (*Ficus carica* L.) genetic resources from Slovenia // Scientia Horticulturae, 2010. — V. 125. — P. 380–389.

6. *Sadder M. T., Ateyyeh A. F.* Molecular assessment of polymorphism among local Jordanian genotypes of the common fig (*Ficus carica* L.) // *Scientia Horticulturae*, 2006. — V. 107. — P. 347–351.

7. *Pasqual M., Ferreira E. A.* Micropropagation of fig tree (*Ficus carica* L.) / Jain S. M., Häggman H. (eds.) // *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*, 2007. — P. 409–416.

8. *Taha R. A., Mustafa N. S., Hassan S. A.* Protocol for micropropagation of two *Ficus carica* cultivars // *World Journal of Agricultural Sciences*, 2013. — V. 9. — No 5. — P. 383–388.

9. *Fraguas C. B., Pasqual M., Duta L. F., Cazetta J. O.* Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos' plants // *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 2004. — V. 40. — No 5. — P. 471–474.

10. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.*, 1962. — V. 104. — P. 473–497.



A. A. Krinitsina, O. A. Churikova

Lomonosov's Moscow State University, Biological Faculty

**OBTAINING OF STERILE CULTURE FROM SEEDS AND CLONAL
MICROPROPAGATION OF *FICUS CARICA* L.**