



УДК 635.914.635.918

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *FICUS* L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Ю.В. Миронова
В.Н. Сорокопудов
О.А. Сорокопудова

Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет, г. Белгород,
ул. Победы, 85.

e-mail: sorokopudov@bsu.edu.ru

Показано развитие исследований по роду *Ficus* L. в закрытых помещениях на примере образовательной школы г. Москвы. Изучены виды рода фикус на предмет размножения методом культуры клеток. Разработаны методы микроклонального размножения фикусов для использования в озеленении детских учреждений позволяющие получить большое количество генетически однородного, оздоровленного посадочного материала.

Ключевые слова: виды рода *Ficus* L., озеленение помещений, культура клеток.

Введение

Большинство видов фикуса легко размножается черенками, однако культура *in vitro* целесообразна для получения большого объема посадочного материала, что довольно трудно осуществить традиционными способами размножения из-за ограниченного количества маточных растений. Еще одна проблема, которая может быть преодолена с помощью микроклонального размножения, — оздоровление фиговых растений (*F. carica*), пораженных вирусом фиговой мозаики.

На рынке декоративных горшечных растений, в т.ч. крупномеров часто требуется большое количество растений за короткий период времени и к определенному сроку. Микроклональное размножение, посредством увеличения коэффициента размножения растений и сокращения времени их культивирования, может стать подходящим ответом на подобные запросы рынка (Кутас, 1997).

В настоящее время число работ по микроклональному размножению фикусов невелико. Для многих ценных видов и сортов рода *Ficus* технологии микроклонального размножения еще не разработаны; некоторые технологии недостаточно оптимизированы. В связи с этим необходимо проведение исследований по разработке и усовершенствованию методик микроклонального размножения фикусов. Нами изучены особенности микроклонального размножения представителей рода *Ficus*.

Объекты и методы исследования

Методика биотехнологических исследований основывалась на общепринятых классических приемах работы с культурами изолированных тканей и органов растений (Бутенко, 1999). В качестве питательных сред использовали среды с минеральной основой сред Мурасиге-Скуга и Гамборга, дополнительно добавляя сахарозу — 30 г/л, агар — 7 г/л, мезоинозитол — 0,1 г/л. В качестве регуляторов роста использовали цитокинины БАП, 2-иП, ауксины — ИУК, НУК, ИМК, а также гиббереллиновую кислоту может гибберелловую?. Уровень pH питательной среды доводили до 5,7 — 6,0. С целью выяснения влияния видовых и сортовых особенностей исходного растения на коэффициент размножения в культуре *in vitro* были исследованы следующие виды рода *Ficus*: *Ficus elastica* Roxb., *Ficus Benjaminii* L., *Ficus lirata* Warb., *Ficus binnendijkii* Mig., *Ficus deltoidea* Jack.

Результаты и их обсуждение

Выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение стерильной культуры. Установлено, что экспланты, взятые с молодых растений фикусов (1 — 2-ой год жизни), обладают гораздо большим морфогенетическим по-



тенциалом по сравнению со взрослыми растениями (5 – 10 лет жизни). Наши исследования полностью согласуются с литературными данными (Бутенко, 1986; Катаева, Бутенко, 1983; Jona, 1982).

Оптимальным типом экспланта для *F. benjamina* оказались верхушечные побеги с 2-мя междоузлиями, для *F. elastica* – верхушечные почки, а для

F. lyrata – фрагменты листовой пластинки с наличием центральной жилки.

Наши данные подтверждают исследования проведенные Jona, 1982; Jona, Gribaudo, 1987, 1991.

Продолжительность экспозиции подбирали в зависимости от возраста экспланта и его морфологических особенностей: более молодые и тонкие побеги стерилизовали 8 минут, более крупные – 10-12 мин. Экспозиция, продолжительностью более 12 мин. Приводила к гибели эксплантов.

Первоначальную закладку всех эксплантов проводили на безгормональную питательную среду с минеральной основой МС. Через 5-7 дней полностью инфицированные экспланты выбраковывали, частично инфицированные стерилизовали повторно, а неинфицированные экспланты пересаживали на питательную среду, соответствующую дальнейшим экспериментам.

В результате была получена стерильная культура у следующих видов и сортов: *F. benjamina* (сорта Daniella, Starlight, Gold Princess, Monique Exotica), *F. elastica* (сорта Melany, Rubra, Brazil), *F. lyrata* (сорт Bambino).

Развитие эксплантов. На этом этапе нами были проведены исследования по влиянию состава питательной среды на коэффициент размножения и характер развития растений.

Для *F. lyrata* было изучено влияние минерального состава питательной среды на коэффициент размножения (количество растений из одного экспланта) и длину побегов. При этом использовали 3 типа питательных сред, различающихся по минеральному составу. Это – среда с полным составом макро- и микросолей по прописи Мурасиге и Скуга (МС), среда с половинной долей солей МС (1/2 МС) и среда с составом макро- и микросолей по прописи Гамборга. В результате были получены следующие данные (табл.1):

Таблица 1

Влияние минерального состава питательной среды на коэффициент размножения и длину побегов у эксплантов *F. lyrata* (концентрация БАП 1,0 мг/л)

Показатели	Тип питательной среды		
	МС	1/2 МС	среда Гамборга
Коэффициент размножения	66±1,3	5,1±1,8	2,8±0,9
Длина побегов, мм	24,8±4,9	18,0±3,9	13,9±3,0

Следующие исследования для *F. lyrata* проводили в отношении влияния гормонального состава питательных сред на коэффициент размножения и характер роста эксплантов. При этом проводили следующие опыты:

Опыт 1. Экспланты культивировали на питательных средах с минеральной основой МС и постоянным содержанием гормонов – 2-иП (8,05 мг/л),

БАП (5,4 мг/л), ИМК (2,5 мг/л), кинетин (5,16 мг/л), применяя их 10-ти и 100-кратное разбавление, а также добавляя в некоторых вариантах гибберелловую кислоту (Г) и аденинсульфат (АД). В результате были получены следующие данные (табл.10). Статистический анализ данных показал, что значительно лучший результат даёт 100-кратное разбавление основных гормонов, по сравнению с 10-кратным. Исключение составляет вариант с добавлением аденинсульфата, что свидетельствует о его положительном эффекте. В свою очередь добавление гибберелловой кислоты не даёт существенных преимуществ (табл. 2).



Таблица 2

Влияние регуляторов роста, содержащихся в питательной среде, на коэффициент размножения у эксплантов *F. Lyrata*

Номер варианта	Обозначение питательной среды	Коэффициент размножения
1	1:100 + Г	7,33±1,10
2	1:100	9,04±1,00
3	1:10 + Г	6,33±1,56
4	1:10	6,17±0,91
5	1:10 + АД	7,14±1,96

Опыт 2. В этом опыте мы культивировали экспланты на питательных средах с минеральной основой МС и добавлением цитокинина Бап в различных концентрациях. А также в одном из вариантов добавляли ауксин (табл. 3).

Таблица 3

Влияние гормонального состава питательной среды на морфометрические показатели регенерантов *F. Lyrata*

Номер варианта	Тип питательной среды	Число побегов, шт.	Длина побегов, мм	Количество междоузлий
1	1,5	12,0±2,0	5,0±1,8	-
2	0,8	14,0±4,0	3,5±1,1	-
3	0,5	2,0±0,5	7,0±1,2	1,0±0,1
4	½ НГ	3,0±1,0	23,0±6,9	3,0±0,5
5	К ₂	34,0±7,0	8,3±0,8	1,5±0,1

Сравнительный анализ полученных данных показал, что максимальный коэффициент размножения достигается эксплантами *F.lyrata* при культивировании их на среде К₂ (с добавлением цитокинина и ауксина), что подтверждается и литературными данными (Немойкина, 2003; Миронова, 2004). В свою очередь максимальная длина побегов и количество междоузлий достигается на среде с низким содержанием БАП (0,05 мг/л) и половиной дозой солей МС. Но при этом резко снижается коэффициент размножения. Учитывая, что на этапе размножения главным показателем является количество микропобегов из одного экспланта, можно сказать, что лучшей питательной средой для размножения *F. lyrata* является среда К₂ (табл. 3).

По результатам двух опытов можно сделать заключение, что оптимальной питательной средой для микроклонального размножения *F. lyrata* является среда с минеральной основой МС и добавлением БАП и ИМК в концентрациях 0,5 мг/л и 0,05 мг/л соответственно.

В ходе исследований для *F. elastic* было изучено влияние гормонального состава питательной среды на коэффициент размножения у трех сортов: Melany, Rubra, Brazil. Гормональный состав среды I принят за стандарт (st), а остальные экспериментально модифицированы (табл. 4).

Таблица 4

Коэффициент размножения у сортов *F. elastic* в зависимости от гормонального состава питательной среды (минеральная основа – МС)

Сорт	Тип питательной среды				
	I (st)	II	III	IV	V
Melany	7,2±1,2	7,4±1,1	8,5±1,3	10,5±1,5	8,3±1,2
Rubra	5,3±0,7	5,8±0,8	8,1±1,0	8,5±1,1	6,4±0,9
Brazil	4,8±0,5	5,5±0,5	5,8±0,7	6,5±0,9	6,8±1,0

При сравнении *F. elastic* и *F. lyrata* можно заметить, что значительно большим морфогенетическим потенциалом обладает *F. lyrata* (коэффициент размножения –



34,5±7,2). А при сравнении сортов внутри вида *F. elastic* наибольшей регенерационной способностью обладает сорт Melanu (коэффициент размножения – 10,5±1,5).

Укоренение. Данный этап был достигнут только у растений *F. lyrata*. При этом основные исследования были направлены на изучение влияния индукторов ризогенеза (различных ауксинов) и их концентрации на формирование корневой системы. Корни образовывались преимущественно у основания стебля растения (табл. 5).

Таблица 5

**Образование корневой системы у побегов *F. lyrata*
под влиянием различных индукторов ризогенеза**

Вариант	Концентрация, мг/л	Укореняемость, %	Число корней, шт	Средняя длина корней, мм
Регулятор роста				
Без регуляторов	-	52,5±15,1	1,4±0,2	13,4±2,5
ИМК	0,5	88,1±11,7	6,9±1,3	30,2±5,1
	1,0	89,2±10,6	7,2±1,5	24,6±3,8
ИУК	0,5	95,8±5,4	4,6±0,8	17,6±2,9
	1,0	88,1±11,7	3,8±0,6	11,8±2,1
НУК	0,5	83,3±15,2	2,9±0,5	10,7±1,9
	1,0	68,4±15,9	2,3±0,5	6,7±1,3

Адаптация. Адаптацию размноженных растений фикусов *in vitro* проводили по ранее разработанной технологии с использованием мха сфагнума (*Sphagnum*) (Ковалёва и др., 2000).

Укоренившиеся растения были высажены на вегетирующий мох сфагнум и смесь песка, торфа и дерновой земли в соотношении 1:1:1. На стадии адаптации интенсивность светового режима составляет 5 – 7 тыс. лк.

Посадка на мох сфагнум имеет большие преимущества, т.к. позволяет сократить цикл культивирования – растения можно высаживать на мох даже с минимальным развитием корней.

Внедрение клонального микроразмножения способствует увеличению более чем в тысячу раз выхода укорененных растений представителей рода *Ficus* в сравнении с традиционным черенкованием. При таком способе размножения независимо от времени года возможно получение в короткие сроки однородного оздоровленного потомства, свободного от бактериальных и грибных болезней.

Выводы

1. При микроклональном размножении представителей рода *Ficus* установлено влияние минерального состава питательной среды и воздействие регуляторов роста на коэффициент размножения. Добавление гормонов (цитокинина и ауксина) в питательную среду увеличивает диапазон морфометрических показателей регенерантов.

2. При использовании метода *in vitro* для размножения представителей рода *Ficus* необходимо учитывать, что экспланты следует брать с молодых побегов (1 – 2 год жизни); что оптимальной питательной средой для микроклонального размножения *F. lyrata* является среда с минеральной основой МС и добавлением БАП и ИМК в концентрациях 0,5 мг/л и 0,05 мг/л соответственно; для укоренения эксплантов лучше применять ИМК в концентрации 0,5 мг/л, или в концентрации 1,0 мг/л; адаптацию растений лучше всего проводить с использованием технологии посадки на мох сфагнум.

3. Разработанные эффективные методы микроклонального размножения фикусов для использования в озеленении детских учреждений позволяют получить большое количество генетически однородного, оздоровленного посадочного материала за достаточно непродолжительный срок.



Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура клеток растений и биотехнология. – М.: Наука. ИФР, 1986. – 179 с.
2. Кутас Е.Н. Научные основы клонального микроразмножения растений на примере интродуцированных сортов голубики высокой и брусники обыкновенной. Автореф. – М., 1997. – 20 с.
3. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. – М., 1983. – 97 с.
4. Ковалева И.С., Данилова Т.В., Молканова О.И. Усовершенствование методики микроразмножения малино-ежевичного гибрида Тайберри // Биотехнология, отдаленная гибридизация. Вып. 179. – М., 2000. – С. 136-143.
5. Jona R. *In vitro* propagation of Fig through Shoot Tip culture // Hort Science 17 (1): 86-87. 1982.
6. Jona R., Gribaudo J. Adventitious bud formation from leaf explants of *Ficus lyrata* // Hort Science. 1987. - Vol 22, № 4. - P. 651-653.
7. Jona R., Gribaudo J. *Ficus* spp. // Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 16, 1991. – P. 79-93.

BIOLOGICAL FEATURES OF REPRODUCTION OF SOME REPRESENTATIVES OF SORT *FIGUS* L. IN CULTURE *IN VITRO*

J.V. Mironova
V.N. Sorokopudov
O.A. Sorokopudova

*Belgorod National
Research University,
Belgorod, Pobedy str., 85.*

e-mail: sorokopudov@bsu.edu.ru

Development of researches by the nature of *Ficus* L is shown. In the closed premises on an example of educational school of Moscow. Kinds of a sort a ficus about reproduction by a method of culture of cages are studied. Develop effective methods reproduction of ficuses for use in gardening of child care centers allowing to receive a considerable quantity of genetically homogeneous, improved landing material.

Key words: kinds of sort *Ficus* L., gardening of premises, culture of cages.