16. *Määttä-Riihinen K.R., Kähkönen M.P., Törrönen A.R., Heinonen I.M.* Catechins and procyanidins in berries of *Vaccinium* species and their antioxidant activity // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2005. – Vol. 53. – P. 8485-8491.

17. *Pshegusov R., Tembotova F., Chadaeva V., Sablirova Y., Mollaeva M., Akhomgotov A.* Ecological niche modeling of the main forest-forming species in the Caucasus // Forest ecosystems. – 2022. – Vol. 9.

Статья поступила в редакцию 15. 04. 2024 г.

Emuzov I.E., Nazranov Kh.M. Variability of biometric parameters of *Vaccinium myrtillus* L. (Ericaceae) under the conditions of the Central Caucasus // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2024. – № 151. – P. 46-52

The article presents the results of studying the variability of morphological parameters (shrub height, crown diameter, leaf area) and 100 berry weight of blueberry *Vaccinium myrtillus* L. in the mountainous areas of the Central Caucasus. We studied 41 species cenopopulations within slope and valley pine forests (*Pinus sylvestris* L.) and alpine meadows of the region. High phytocenotic plasticity of vegetative organs and berry weight (Ip = 0.81 – 0.93%) was recorded, indicating a significant adaptive potential of the species. The parameters of assimilatory organs of plants were highly variable both within the cenopopulations (CVcp = 23.7 – 42.6%) and in different growing conditions ($CV\bar{x}cp$ = 63.9 – 70.2%). The interpopulation variability of 100 berry weight (CVcp = 35.6%) also exceeded the intrapopulation variation ($CV\bar{x}cp$ = 12.3%). The sizes of the studied vegetative organs and berry weight in forest cenopopulations were 4 – 5 and 1.8 times larger, respectively, than those of plants growing in alpine meadows. Accordingly, forest phytocenoses with the most favourable conditions for growth and development of *V. myrtillus* are the most promising for the species protection in the Central Caucasus.

Key words: *Vaccinium myrtillus* L.*; cenopopulations; shrub height; leaf area; berry weight; mountainous areas*

УДК 634.37:57.085.2

ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ, МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ ДВУХ СОРТОВ ИНЖИРА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Светлана Викторовна Челомбит[1], Нина Павловна Лесникова-Седошенко[1], Ирина Вячеславовна Митрофанова[2]

[1]Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН,
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, спуск Никитский, 52
[2]Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
127276 г. Москва, ул. Ботаническая, дом 4
E-mail: chelombit@inbox.ru

Разработаны способы получения асептической культуры инжира (*Ficus carica* L.) сортов Лимонно-Желтый и Наираннейший Фиолетовый в условиях *in vitro*. Установлены оптимальные концентрации стерилизующих агентов, время воздействия и последовательность их применения: 1 мин в 70% этаноле, 15 мин в 1% растворе Thimerosal и 18 мин в растворе ДезТаб, позволившие получить 90,0% жизнеспособных эксплантов. Выявлены особенности развития изучаемых сортов инжира на этапах введения, множественного побегообразования и сохранения в условиях *in vitro* на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС, 1962) с различной концентрацией и сочетанием регуляторов роста растений. Показана эффективность применения питательной среды МС, дополненной регуляторами роста 6-БАП в концентрации 1,5 мг/л, НУК – 0,1 мг/л и $ГК_3$ – 0,5 мг/л для введения и размножения эксплантов инжира. При этом коэффициент размножения достигал 8,1 и 15,4 у сортов Лимонно-Желтый и Наираннейший Фиолетовый, соответственно. Оптимизирован способ депонирования *in vitro* изучаемых сортов *F. carica* в течение 12 месяцев путем замедления процессов их роста. Установлена оптимальная температура (8 °С), при которой снижается кинетика роста и сохраняется жизнеспособность эксплантов.

Ключевые слова: *Ficus carica* L.; *эксплант; питательная среда; морфогенез; депонирование; in vitro*

Введение

Инжир (*Ficus carica* L., род *Ficus* L., семейство *Moraceae* Link.) – одна из наиболее важных субтропических плодовых культур и представляет определенный интерес для выращивания в южных регионах России. Вид культивируется в Закавказье, Средней Азии, Иране, Малой Азии, Индии, Афганистане, Турции, Испании, Португалии, Италии, Греции, Алжире, США. Благодаря адаптации к разным климатическим и почвенным условиям, засухоустойчивости, высокой питательной и лечебной ценности, инжир является ценной плодовой культурой для засушливых и полузасушливых зон [6, 13, 16]. Инжир – одно из первых окультуренных растений в человеческой цивилизации и возделывается свыше 4000 лет [17]. В Никитском ботаническом саду находится одна из крупнейших мировых коллекций инжира, представленная 4 видами рода *Ficus:* ложнокарийским *(F. pseudocarica* Miq.)*,* прутьевидным (*F. virgata* Reinwardt ex Blume), афганистанским (*F. afganistanica* Warb.) и 267 сортами и гибридными формами *F. carica* отечественной и зарубежной селекции. Плоды инжира характеризуются высоким содержанием кальция, калия, витамина С, белков, углеводов и железа [30]. Инжир рано вступает в плодоношение и на 3-4 год в промышленных насаждениях может приносить прибыль [3]. Инжир в основном размножают вегетативно зелеными черенками. Однако вегетативное размножение часто приводит к поражению растений вирусной и бактериальной инфекциями, что непосредственно влияет на продуктивность деревьев. Применение современных биотехнологий улучшает существующие садовые культуры и выступает инструментом для защиты и сохранения биологического разнообразия. Перспективным направлением сохранения растительного биоразнообразия является создание медленно растущих коллекций *in vitro* [7, 10-15]. Применение комплекса методов биотехнологии, включающих культуру изолированных органов и тканей, сохранение и адаптацию *ex vitro*, позволяет реализовать морфогенетический потенциал растений, улучшить качественные показатели выращиваемых ценных сортов и видов инжира и повысить коэффициент их размножения [9, 20, 28, 32]. Показаны пути регенерации *in vitro* отдельных сортов инжира через органогенез [18, 23, 31], соматический эмбриогенез [29]. Микроразмножение и регенерацию *in vitro* ценных сортов инжира изучали И.В Митрофанова с соавторами [19, 20], B.M. Singh с соавторами [28]; E. Yahyaoui с коллегами [32]. A.C. Boliani и другие [9]. Сохранение растительного материала инжира *in vitro* также может стать инструментом сохранения зародышевой плазмы [27].

Один из эффективных способов содержания растительных коллекций – хранение в условиях минимального роста. Методы сохранения растений *in vitro* с замедленным ростом применяются для сохранения вегетативно размножаемых видов и сортов путем снижения частоты субкультивирований, не влияя при этом на жизнеспособность эксплантов и возобновление роста после их возвращения в стандартные условия культивирования; преимущество заключается также в экономии места для хранения и снижении трудозатрат. Для использования этих методов необходима разработка протоколов размножения изучаемых сортов в условиях *in vitro*. Длительное депонирование является наиболее распространенной стратегией, используемой для снижения кинетики роста побегов при сохранении физиологической стабильности [7].

Цель наших исследований – изучить морфогенетический потенциал *in vitro* на этапах введения и собственно микроразмножения сортов инжира Лимонно-Желтый и Наираннейший Фиолетовый для дальнейшего размножения и сохранения их в условиях низких положительных температур.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в лаборатории морфогенеза и депонирования растений *in vitro* на базе УНУ «Научного центра биотехнологии, геномики и депонирования растений» (УНУ «ФИТОБИОГЕН») ФГБУН «НБС – ННЦ». Для проведения исследований из признаковой коллекции были отобраны 2 сорта инжира. Сорт Лимонно-Желтый (селекции Н.К. Арендт, НБС) – перспективный сухофруктовый сорт для промышленного возделывания, самобесплодный, с одним урожаем. Сорт Наираннейший Фиолетовый (селекции Н.К. Арендт, НБС) – самоплодный столовый сорт с двумя обильными урожаями и высокими вкусовыми качествами плодов.

Эксперименты по культуре органов и тканей *in vitro* проводили согласно общепринятым и разработанным в лаборатории методам [1, 4]. Оптимальным сроком отбора почек инжира был апрель. Для введения в культуру *in vitro* в качестве первичных эксплантов использовали апикальные почки побегов инжира размером 0,6-0,8 см. С целью освобождения от экзогенной бактериальной и грибной инфекций применяли поверхностную стерилизацию эксплантов. Стерилизующими агентами служили: 70% раствор этанола (C_2H_5OH), 1% раствор Thimerosal («Merk», Германия), 0,5% раствор препарата «Дез ТАБ» (Китай) с добавлением в растворы 60 мкл детаргента Tween 80. После каждого реагента экспланты 4 раза промывали в стерильной дистиллированной воде. Были испытаны 4 варианта стерилизации, отличающиеся экспозицией воздействия растворов этанола, Thimerosal и Дез ТАБ:

1 – контроль – 70% C_2H_5OH (10 мин);

2 – 70% C_2H_5OH (1 мин), 1 % Thimerosal (5 мин), 0,5% «Дез ТАБ» (10 мин);

3 – 70% C_2H_5OH (1 мин), 1 % Thimerosal (10 мин), 0,5% «Дез ТАБ» (10 мин);

4 – 70% C_2H_5OH (1 мин), 1% Thimerosal (15 мин), 0,5% «Дез ТАБ» (18 мин).

В экспериментах по введению первичных эксплантов в условия *in vitro* и индукции адвентивного побегообразования использовали агаризованную питательную среду МС (Murashige, Skoog, 1962) [21]. Для пролиферации дополнительных микропобегов в среду вводили регуляторы роста растений: 6-БАП – 6-бензиламинопурин (Sigma, США), НУК – *a*-нафтилуксусную кислоту (Duchefa Biochemie, Голландия), $ГК_3$ – гиббереллловую кислоту (Duchefa Biochemie, Голландия) в различных концентрациях и сочетаниях. Питательные среды также содержали 30 г/л сахарозы и 9 г/л агара (PanReac AppliChem, Испания-Германия). В качестве контрольной использовали безгормональную среду МС. pH среды доводили до 5,7 0,1 н. растворами KOH или 0,1 н. HCl до автоклавирования. Среду стерилизовали в автоклаве LAC 5060S (DAIHAN LABTECH, Южная Корея). Экспозиция стерилизации зависела от объема культуральных сосудов и составляла от 5 до 20 мин. Выделенные в стерильных условиях почки изучаемых сортов инжира помещали на питательную среду МС с 1,5 мг/л 6-БАП, 0,25 мг/л НУК и 1,0 мг/л $ГК_3$. Для устранения возможной вирусной инфекции нами был применен вироцид рибавирин (виразол, 1-β-D-Ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide, Sigma, USA), который вводили в питательную среду в концентрации 40 мг/л [19]. Все исследования проводили в асептических условиях бокса биологической безопасности второго класса SC2 (ESCO, Сингапур). Колбы и пробирки с эксплантами содержали в культуральной комнате с 16-часовым фотопериодом, интенсивностью освещения 37,5 мкМ $м^{-2}с^{-1}$, при температуре 24±1ºС. Субкультивирование эксплантов проводили через каждые 3 недели. Эксперименты выполняли трижды, в каждом варианте анализировали не менее 10 эксплантов. Учитывали способность к адвентивному побегообразованию каждого генотипа (коэффициент размножения, формирование каллуса) [2].

Развившиеся из апикальных почек микропобеги разделяли на сегменты стебля размером 1,5 см с одним узлом без листьев, которые использовали в качестве эксплантов

для депонирования. Использовали питательную среду, содержащую ¼ нормы макро- и микросолей по прописи МС и дополненную 60,0 г/л сахарозы в качестве осмотика и 0,2 или 0,4 г/л ССС (хлорхолинхлорид) как ретарданта антигиббереллинового действия [5]. Контролем служила среда ¼ МС без ретарданта. Экспланты в культуральных сосудах сохраняли в холодильных камерах марки FKvsl 4113 и FK 4143 (LIEBHERR, Австрия) при 16-часовом фотопериоде и холодном свете белых флюоресцентных ламп (OSRAM, Россия) интенсивностью освещения 1,25-3,75 мкМ $м^{-2}$ $с^{-1}$ при температуре 4, 6, 8 и 10 °С. Оценку кинетики роста эксплантов инжира в условиях *in vitro* проводили через 12 месяцев депонирования по таким показателям как жизнеспособность (% жизнеспособных от общего количества исследуемых эксплантов), длина микропобега (см), количество адвентивных микропобегов (шт.), образовавшихся на основном побеге, и сформировавшихся корней (шт.).

При обработке данных использовали пакет программ Microsoft Office (Excel 2010). Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего.

Результаты и обсуждение

Введение апикальных почек и активно растущих верхушек побегов инжира в течение года позволило определить сроки изоляции первичных эксплантов и подобрать регуляторы роста в питательной среде МС для развития почек и индукции адвентивного побегообразования. Установлено, что оптимальным для получения максимального количества жизнеспособных эксплантов инжира является отбор первичных эксплантов в период начала активного роста побегов (апрель). При этом у инжира этот показатель зависел от генотипа и составил для сортов Наираннейший Фиолетовый и Лимонно-Желтый 91,5 и 82,1%, соответственно (рис. 1), хотя достоверно не отличался от других сроков отбора. Поэтому введение *in vitro* эксплантов данных сортов можно проводить в течение изученных сроков отбора.

В некоторых научных публикациях представлены сведения о приемах стерилизации различных культур [26, 31]. Проведенные нами исследования показали, что при проведении стерилизации часто происходит сильное повреждение растительных тканей, поэтому необходимо было подобрать менее токсичные реагенты, их концентрацию и экспозицию.

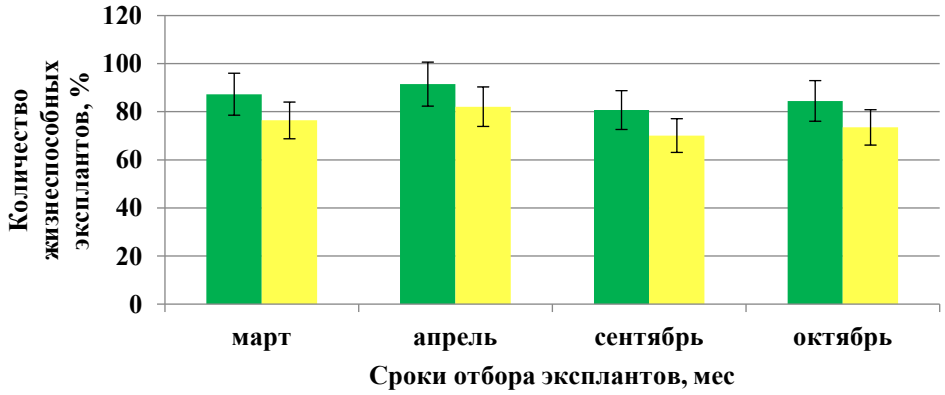

Рис. 1 Количество жизнеспособных эксплантов двух сортов инжира в зависимости от сроков отбора (Наираннейший Фиолетовый, Лимонно-Желтый)

При проведении сравнительного изучения различных способов стерилизации с учетом количества развившихся, инфицированных и некротизированных эксплантов, установлено, что для изучаемых двух сортов инжира оптимальным оказался способ последовательного применения стерилизующих веществ с экспозицией обработки: 1

мин в 70% этаноле, 15 мин в 1% растворе Thimerosal и 18 мин в растворе ДезТаб с 60 мкл Tween 80.При использовании такого режима стерилизации выход жизнеспособных эксплантов инжира, свободных от грибной и бактериальной контаминации, достигал 90,0±5,77% (табл. 1).

Таблица 1

Результаты стерилизации вегетативных почек инжира

Вариант стерилизации	Количество эксплантов, свободных от контаминации, %
1	6,67 ± 3,33
2	46,67 ± 3,33
3	76,67 ± 8,82
4	90,0 ± 5,77

Экспланты не меняли окраску, оставались зелеными, и в дальнейшем проявляли высокую способность к морфогенезу. Применение 70% раствора этилового спирта в течение 10 мин значительно снижало эффективность стерилизации, было получено всего 6,67±3,33% эксплантов, свободных от контаминации (см. табл. 1). После стерилизации апикальные почки отделяли от побега материнского растения, очищали от покровных тканей и помещали на питательную среду. После введения на питательную среду через 1-2 недели культивирования в асептических условиях у апикальных почек было отмечено выдвижение листьев. Появление первых 2-3 микропобегов наблюдали через 3-4 недели (рис. 2).

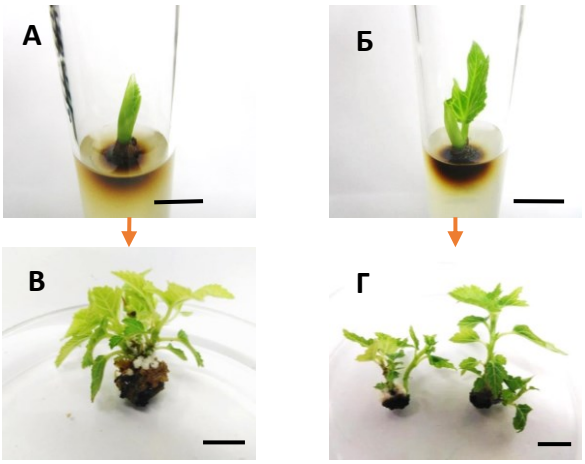

Рис. 2 Начало развития апикальных почек инжира сортов Лимонно-Жёлтый (А) и Наираннейший Фиолетовый (Б) через 14 суток культивирования; микропобеги сортов Лимонно-Желтый (В) и Наираннейший Фиолетовый (Г) через 3-4 недели культивирования *in vitro*.
Масштаб 1 см

Наши исследования показали, что адвентивное побегообразование на этапе собственно микроразмножения зависело от используемой питательной среды, концентрации в ней 6-БАП, количества субкультивирований и генотипа, что согласуется с исследованиями, проведенными многими авторами [8, 12, 22-25, 27, 31].

Определена оптимальная концентрация регуляторов роста в питательной среде для развития эксплантов и пролиферации адвентивного побегообразования изучаемых сортов инжира. Получение наибольшего количества адвентивных микропобегов инжира отмечено на этапе микроразмножения на питательной среде МС, дополненной 6-БАП в концентрации 1,5 мг/л в сочетании с 0,1 мг/л НУК и 0,5 мг/л $ГК_3$. Невысокая

концентрация 6-БАП (0,5 мг/л) не способствовала активному формированию адвентивных микропобегов (рис. 3). При увеличении концентрации 6-БАП до 2,0 мг/л происходило формирование каллуса в основании микропобегов. Лучшие результаты были получены на питательной среде с 1,5 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л НУК и 0,5 мг/л $ГК_3$.

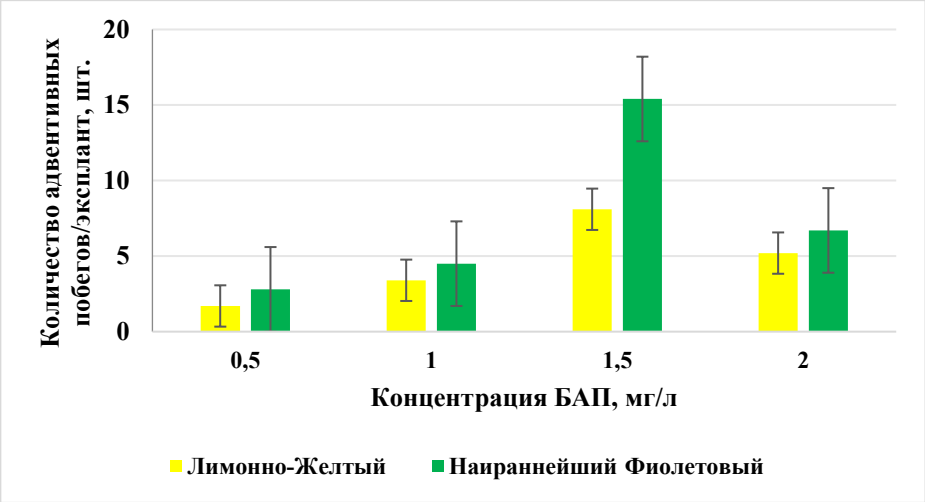

Рис. 3 Влияние концентрации 6-БАП в питательной среде МС + 0,1 мг/л НУК + 0,5 мг/л $ГК_3$ на множественное побегообразование *in vitro* двух сортов инжира после третьего субкультивирования

При каждом последующем субкультивировании на свежеприготовленную среду количество адвентивных микропобегов увеличивалось. В результате пробуждения почек получены микропобеги изучаемых двух сортов инжира. Было выявлено, что у сорта Лимонно-Желтый на этапе собственно микроразмножения сформировалось меньшее количество адвентивных микропобегов/эксплант (8,1 шт.) по сравнению с сортом Наираннейший Фиолетовый (15,4 шт.). В контроле отмечали формирование 0,75 микропобегов/эксплант.

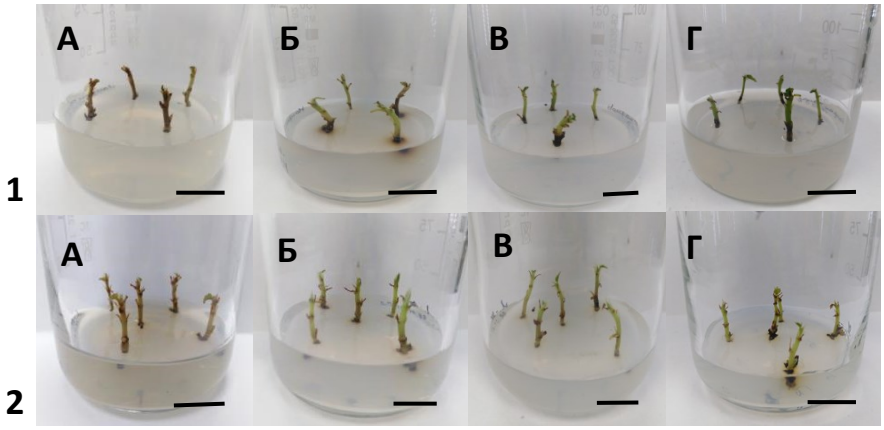

Рис. 4 Экспланты инжира сортов Наираннейший Фиолетовый (1) и Лимонно-Желтый после 12 мес депонирования при температуре: А – 4 °С; Б – 6 °С; В – 8 °С; Г – 10 °С. Масштаб 1 см

В ходе исследований по длительному сохранению в генобанке *in vitro* нами выявлено стабилизирующее влияние ретарданта ССС (0,2-0,4 г/л) и 60 г/л сахарозы в питательной среде ¼ МС на жизнеспособность эксплантов изучаемых сортов инжира. После 6 месяцев депонирования при температуре 4°С количество жизнеспособных эксплантов не превышало 65%. Экспланты имели в основном зелено-коричневую окраску. Отмечали наличие

единичных зеленых листочков и развитие апикальных почек. При 6°С экспланты были жизнеспособными, зелеными. Экспланты имели зеленую окраску. Среда слабо окрашивалась продуктами окисления полифенолов.

Через 12 месяцев при низкой положительной температуре (4°С) экспланты инжира сортов Наираннейший Фиолетовый и Лимонно-Желтый были зелено-коричневой окраски. Вместе с тем у сорта Лимонно-Желтый единичные листья имели частично коричневую окраску. После депонирования эксплантов инжира при температуре 8 и 10°С жизнеспособность эксплантов оставалась высокой и достигала 95-98%. У исследуемых сортов наблюдали единичные листья. При температуре 8°С отмечали зеленую окраску побегов (рис. 4). Формирования каллуса в основании побегов и корней не наблюдали ни у одного из сортов. Наряду с развитием почек и эксплантов происходило незначительное выделение в питательную среду фенольных веществ, при этом жизнеспособность эксплантов не снижалась.

В таблице 2 представлены морфометрические показатели эксплантов инжира и их зависимость от концентрации ССС в питательной среде ¼ МС и температуры после 12 мес депонирования. Проведенные исследования показали, что через 12 месяцев депонирования на питательной среде ¼ МС с 0,2 и 0,4 г/л ССС все экспланты оставались жизнеспособными, однако интенсивность их роста зависела от температуры хранения (табл. 2). Так, при температуре 4°С наблюдали снижение кинетики роста побегов у сорта Наираннейший Фиолетовый, длина эксплантов достигала 1,54 см и 1,56 см, образования листьев не наблюдали. При температуре 6 и 8°С отмечено образование листьев и незначительный рост эксплантов. С повышением температуры до 10°С незначительно увеличивалась длина побегов и появлялись единичные листья, побеги были коричневой окраски.

Таблица 2

Морфометрические показатели двух сортов инжира после 12 мес депонирования (размер исходного экспланта – 1,5 см)

Т, °С	Питательная среда	Длина побега, см		Количество листьев/побег, шт.	
		Наираннейший Фиолетовый	Лимонно-Желтый	Наираннейший Фиолетовый	Лимонно-Желтый
4	1*	1,54 ± 0,02	1,56 ± 0,02	0	0,2 ± 0,13
	2**	1,56 ± 0,02	1,65 ± 0,03	0	0
6	1	1,57 ± 0,03	1,61 ± 0,04	0,4 ± 0,16	0,4 ± 0,22
	2	1,64 ± 0,02	1,75 ± 0,04	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
8	1	1,68 ±0,02	1,77 ± 0,04	0,3 ± 0,15	0,3 ± 0,15
	2	1,73 ± 0,02	1,67 ± 0,03	0,3 ± 0,15	0,2 ± 0,13
10	1	1,79 ± 0,04	1,86 ± 0,02	0,7 ± 0,15	0,5 ± 0,17
	2	1,69 ± 0,02	1,73 ± 0,03	0,7 ± 0,15	0,3 ± 0,15

***1 - среда ¼ МС, дополненная 60,0 г/л сахарозы и 0,2 г/л ССС**
****2 - среда ¼ МС, дополненная 60,0 г/л сахарозы и 0,4 г/л ССС**

У сорта Лимонно-Желтый при температуре 4 и 6 °С также отмечали незначительный рост эксплантов (1,56 см и 1,61см, соответственно) и появление листьев (0,2 и 0,4 шт./эксплант, соответственно). Депонирование при 8°С способствовало увеличению длины экспланта до 1,77 см и формированию листьев. При температуре хранения 10°С длина эксплантов достигала 1,86 см, однако отмечена некротизация их базальной части. Особенностью изучаемых сортов было снижение кинетики роста в течение срока

хранения при добавлении в питательную среду ССС в концентрации 0,2 и 0,4 г/л без ухудшения жизнеспособности эксплантов. Через 12 месяцев у эксплантов двух сортов инжира наблюдали незначительный рост побегов, образование единичных почек и листочков. Корни такие экспланты не формировали. Установлено, что после 12 мес депонирования экспланты двух сортов инжира успешно развивались на питательной среде для микроразмножения, сохраняя жизнеспособность и способность побегов к возобновлению роста в стандартных условиях культивирования *in vitro*.

Выводы

Таким образом, выявлено, что лучшими сроками отбора эксплантов инжира сортов Наираннейший Фиолетовый и Лимонно-Желтый были март-апрель и сентябрь-октябрь. В процессе исследований подобраны стерилизующие агенты, их концентрации и установлены оптимальные режимы стерилизации: 1 мин в 70 % этаноле, 15 мин в 1 % растворе Thimerosal, 18 мин в растворе ДезТаб, что позволило получить 90 % жизнеспособных эксплантов. Выявлен морфогенетический потенциал вегетативных почек двух сортов инжира в условиях *in vitro*. После 3 субкультивирования на питательной среде МС с 1,5 мг/л 6-БАП совместно с 0,1 мг/л НУК и 0,5 мг/л $ГК_3$ у сорта Лимонно-Желтый образовалось 8,1 микропобегов/эксплант, у сорта Наираннейший Фиолетовый – 15,4 микропобегов/эксплант.

Изучены условия депонирования *in vitro* двух сортов инжира, позволившие снизить кинетику роста и сохранить жизнеспособность эксплантов в течение 12 месяцев при низкой положительной температуре 8 °С на питательной среде ¼ МС с ретардантом ССС в концентрации 0,2 и 0,4 г/л.

Благодарность

Работа выполнена по Госзаданию FNNS-2022-0002 ФГБУН «НБС-ННЦ» на оборудовании УНУ «Научный центр биотехнологии, геномики и депонирования растений» («ФИТОБИОГЕН») ФГБУН «НБС-ННЦ» (Ялта, Россия), рег. номер 669802

Список литературы

1. *Бутенко Р.Г.* Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.

2. *Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В.* Влияние сорта и факторов культивирования *in vitro* на клональное микроразмножение розы эфиромасличной // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2016. – Вып. 120. – С. 36-43.

3. *Казас А.Н., Литвинова Т.В., Мязина Л.Ф., Синько Л.Т., Хохлов С.Ю., Чернобай И.Г., Шишкина Е.Л., Шолохова В.А., Ядров А.А.* Субтропические плодовые и орехоплодные культуры. – Симферополь: ИТ “АРИАЛ”, 2012. – 304 с.

4. *Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П.* Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Сборник научных трудов Никитский ботанический сада. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.

5. *Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Иванова Н.Н., Браилко В.А., Лесникова-Седошенко Н.П.* Моделирование контролируемых условий, необходимых для адаптации и длительного хранения растительного материала декоративных, ароматических и плодовых культур в генобанке in vitro: методические рекомендации / под общ. ред. И.В. Митрофановой. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 72 с. DOI: 10.32514/978-5-907118-88-1

6. *Badgujar S.B., Patel V.V., Bandivdekar A.H., Mahajan R.T.* Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Ficus carica*: a review // Pharm Biol. – 2014. – Vol. 52(11). – P. 1487-1503.

7. *Benelli C., Tarraf W., Izgu T., De Carlo A.* In vitro conservation through slow growth storage technique of fruit species: An overview of the last 10 years // Plants. – 2022. – Vol. 11. – P. 3188. DOI: 10.3390/plants11233188

8. *Bidabadi S.S., Jain S.M.* Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration // Plants. – 2020. – Vol. 9. – P. 702. DOI: 10.3390/plants9060702

9. *Boliani A.C., Ferreira A.F.A., Monteiro L.N.H., da Silva M.S.C., Rombola A.D.* Advances in propagation of *Ficus carica* L. // Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal. – 2019. – Vol. 41(3).

10. *Chauhan R., Singh V., Quraishi A.* In Vitro Conservation Through Slow-Growth Storage // Synthetic Seeds. Germplasm Regeneration, Preservation and Prospects. – Switzerland: Springer Nature, 2019. – P. 397-416. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-24631-0_19

11. *Cruz-Cruz C.A., González-Arnao M.T., Engelmann F.* Biotechnology and Conservation of Plant Biodiversity // Resources. – 2013. – Vol. 2. – P. 73-95. DOI: 10.3390/ resources2020073

12. *Dhage S.S., Chimote V.P., Pawar B.D., Kale A.A., Pawar S.V., Jadhav A.S.* Development of an efficient *in vitro* regeneration protocol in fig (*Ficus carica* L.) // Journal of Applied Horticulture. – 2015. – Vol. 17(2). – P. 160-164.

13. *Doaa A.D., El-Berry I.M., Mustafa N.S., Moursy F.S., Laila F. Hagagg L.F.* Detecting drought tolerance of fig (*Ficus carica* L.) cultivars depending on vegetative growth and peroxidase activity // Int J ChemTech Res. – 2015. – Vol. 8(4). – P. 1520-1532.

14. *Engelmann F. In vitro* conservation methods // Biotechnology and plant genetic resources: conservation and use / eds. J.A. Callow, B. Ford-Lloyd, H.J. Newbury. – Wallingford: CAB International, 1997. – P. 119-161.

15. *Engelmann F.* Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // *In Vitro* Cell. Biol. – Plant. – 2011. – Vol. 47(1). – P. 5-16.

16. *Ibrahim H., Soliman A., Alhady M.R.A.A.* Evaluation of salt tolerance ability in some fig (*Ficus carica* L.) cultivars using tissue culture technique // J Appl Biol Biotechnol. – 2017. – Vol. 5. – P. 29-39. https://doi. org/10.7324/jabb.2017.50605

17. *Kislev M.E., Hartmann A., Bar-Yosef O.* Early domesticated fig in the Jordan Valley // Science. – 2006. – Vol. 312(5778). – P. 1372-1374. https://doi. org/10.1126/science. 1125910

18. *Ling W.T., Tan, L.V. Khor, S.P. Sriskanda, D., Subramaniam, S.. Chew, B.L.* Rapid In Vitro Propagation of Fig (*Ficus carica* L.) 'Violette de Solliès' Supported by Molecular and Microscopy Analyses // Horticulturae. – 2022. – Vol. 8.

19. *Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Chelombit S.V., Shishkina E.L., Chirkov S.N.* Phytosanitary status of *Ficus carica* collection orchards in Nikita Botanical Gardens and biotechnology of fig plants regeneration // Acta Hortic. – 2016. – Vol. 1139. – P. 303-310. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1139.53

20. *Mitrofanova I.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Brailko V.A., Kuzmina T.N., Chelombit S.V., Shishkina E.L., Mitrofanova O.V.* Realization of *Ficus carica* L. morphogenic capacity via organogenesis and somatic embryogenesis *in vitro* // Acta Hortic. – 2019. – Vol. 1255. – P. 69-76. DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1255.12

21. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15(3). – P. 473-497. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

22. *Mustafa N.S., Taha R.A.* Influence of plant growth regulators and subculturing on *in vitro* multiplication of some fig (*Ficus carica*) cultivars // J. Appl. Sci. Res. – 2012. – Vol. 8(8). – P. 4038-4044.

23. *Parab A.R., Chew B.I., Yeow L.C., Subramaniam S.* Organogenesis on apical buds in common fig (*Ficus carica*) Black Jack // Electronic Journal of Biotechnology. – 2021. – Vol. 54. – P. 69-76. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.01.010

24. *Pasternak T.P., Steinmacher D.* Plant Growth Regulation in Cell and Tissue Culture In Vitro // Plants. – 2024. – Vol. 13. – P. 327. DOI: https://doi.org/ 10.3390/plants13020327

25. Plant Propagation by Tissue Culture / eds. E.F. George, M.A. Hall, G.-J. De Klerk. – Dordrecht, Netherlands: Springer, 2008. – Vol. I. – 501 p.

26. Protocols of Micropropagation for Woody Trees and Fruits / eds. M. Jain, H. Häggman. – Netherlands: Springer, 2007. – 560 p.

27. *Shatnawi M.A., Shibli R.A., Shachrour W.G., Al-Qudah T.S., Abu-Zahra T.* Micropropagation and conservation of fig (*Ficus carica* L.) // Journal of Advances and Agriculture. – 2019. – Vol. 10. – P. 1669-1679. DOI: https:doi.org/10.24297/jaa.v10i0.8160

28. *Singh B.M., Rajoriya C.M., Wani I.A., Rawat R.S., Jat B.L.* In vitro studies of *Ficus carica* and its application in crop improvement // International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology. – 2016. – Vol. 4(XI). – P. 135-148.

29. *Soliman H.I., Gabr M., Abdallah N.A.* Efficient transformation and regeneration of fig (*Ficus carica* L.) via somatic embryogenesis // GM Crops. – 2010. – Vol. 1(1). – P. 40-51. DOI: mhttp://dx.doi.org/10.4161/gmcr.1.1.10632

30. *Vora J.D., Vora D., Pednekar S.R., Patwardhan A.U., Shaikh Sh.* Biochemical, organoleptic assessment of fig (*Ficus carica*) // IOSR J. Biotechnology and Biochemistry. – 2017. – Vol. 3(2). – P. 95-104. DOI: 10.9790/264X-030295104

31. *Vanmathi V., Aneesa Rani M.S., Vidhya D.3, Hemaprabha K., Indu Rani C.* Establishment of In Vitro Plant Regeneration Protocol for Fig (*Ficus carica* L.) // Biological Forum – An International Journal. – 2022. – Vol. 14(3). – P. 302-306.

32. *Yahyaoui E., Casamento D., D'Onghia A.M., Elbeaino T., Frasheri D., Germanà M.A.* Fig virus-free production and survival rate improvement using meristem tip culture technique associated with the encapsulation technology// Acta Hortic. – 2018. – Vol. 1224. – P. 81-89. DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1224.12

Статья поступила в редакцию 21. 05. 2024 г.

Chelombit S.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Mitrofanova I.V. Introduction, micropropagation and preservation features of two common fig cultivars *in vitro* // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2024. – № 151. – P. 52-61

Methods for obtaining an aseptic culture of common fig (*Ficus carica* L.) cultivars Limonno-Zheltyiy and Nairannejshiy Fioletovyiy under *in vitro* conditions have been developed. The optimal concentrations of sterilizing agents, exposure time and order of their application were established: 1 min in 70% ethanol, 15 min in 1% Thimerosal solution and 18 min in DezTab solution, which allowed to obtain 90.0% viable explants. The peculiarities of the studied fig cultivars development at the introduction, multiple shoot formation and preservation *in vitro* stages on Murashige and Skoog (1962) culture medium with different concentrations and combinations of plant growth regulators are revealed. The efficiency of the MS culture medium supplemented with growth regulators 6-BAP at a concentration of 1.5 mg/l, NAA – 0.1 mg/l and GA_3 – 0.5 mg/l using for the introduction and propagation of fig explants has been shown. At the same time, the multiplication rate reached 8.1 and 15.4 in Limonno-Zheltyiy and Nairannejshiy Fioletovyiy cultivars, respectively. The method of long-term *in vitro* preservation of two studied *F. carica* cultivars for 12 months by slow-growth storage has been optimized. The optimal temperature (8 °C) has been established, at which the growth kinetics decreases and the viability of explants is preserved.

Key words: *Ficus carica* L.; *explant; culture medium; morphogenesis; preservation; in vitro*