

sochi.ru
2014



12+



2014

ISSN 0235-2591

1

Садоводство и Виноградарство

И.М. Куликов, М.Т. Упадышев
ГНУ ВСТИСП
E-mail: vstisp@vstisp.org

УДК 621.524

Идентификация родственных связей Смоковницы Закхея посредством молекулярного анализа

Смоковница (сикомора *Ficus sycomorus* L.) Закхея произрастает в городе Иерихон (Палестина) на территории музейно-паркового комплекса, который принадлежит в настоящее время правительству Российской Федерации. Это дерево является христианской святыней и упоминается в Библии в связи со встречей Иисуса Христа со сборщиком податей Закхе-ем. Вследствие проведенных под патронажем Императорского Палестинского Православного Общества в последние годы агромероприятий произошло улучшение состояния Смоковницы Закхея, которое проявилось в хорошей облиственности кроны, уменьшении числа отмерших ветвей, активном формировании плодовых образований. Однако, несмотря на все восстановительные мероприятия, смоковница Закхея не может жить бесконечно долго, в связи с чем актуален поиск её достойной молодой преемницы. Молодое дерево расположено в центре музейно-паркового комплекса и имеет возраст около 500 лет. С целью установления родственных связей между Смоковницей Закхея и молодой смоковницей проведен молекулярный анализ. При использовании 6 изученных маркеров амплифицируемые продукты у Смоковницы Закхея и молодой смоковницы совпадали по размеру, причем оба растения были гетерозиготны идентичными аллелями по нескольким локусам молекулярных маркеров, что свидетельствует в пользу предположения о генетической близости Смоковницы Закхея и молодой смоковницы. Поэтому с достаточно высокой долей вероятности Смоковницу Закхея и молодую смоковницу можно признать идентичными. Молодая смоковница является потомством Смоковницы Закхея и в будущем сможет служить её преемницей.

Ключевые слова: Смоковница Закхея, *Ficus sycomorus* L., молекулярная диагностика, родственные связи.

Fig (sycamore Ficus sycomorus L.) Zakchei (Palestin) in territory of a muzejno-park complex which belongs now to the government of the Russian Federation grows in the city of Jericho. This tree is a Christian relic and is mentioned in the Bible in connection with Jesus Christ meeting with the collector of taxes Zakchei. Owing to spent under home nursing of the Imperial Palestinian Orthodox Society last years agroactions there was an improvement of a condition of Fig Zakchei which was showed in good foliage crones, reduction of number of the died off branches, active formation of fruit formations. However, despite all regenerative actions, fig Zakchei cannot live infinitely long in this connection search of its worthy young heiress is actual. The young tree is located in the centre of a muzejno-park complex and has age about 500 years. For the purpose of an establishment of related communications between Fig Zakchei and a young fig the molecular analysis is carried out. At use of 6 studied markers amplification products at Fig Zakchei and a young fig coincided on the size, and both plants were heterozygotic identical allele on several loci of molecular markers that testifies in favour of the assumption of genetic affinity of Fig Zakchei and a young fig. Therefore with enough high share of probability it is possible to recognise Fig Zakchei and a young fig identical. The young fig really can be posterity of Fig Zakchei and in the future to serve as its heiress.

Key words: *Fig Zakchei, Ficus sycomorus* L., molecular diagnostics, relationship.



Смоковница (сикомора *Ficus sycomorus* L.) Закхея произрастает в городе Иерихон (Палестина) на территории музейно-паркового комплекса, который принадлежит в настоящее время правительству Российской Федерации. Это дерево является христианской святыней и упоминается в Библии в связи со встречей Иисуса Христа со сборщиком податей Закхеем.

В связи с большим возрастом к началу 2000-х гг. состояние Смоковницы Закхея резко ухудшилось, много ветвей погибло, образовались дупла как в основании ствола-ксиля, так и в стволах первого порядка ветвления. Поэтому под патронажем Императорского Палестинского Православного Общества, начиная с 2008 г., началась большая работа, направленная на улучшение состояния Смоковницы. В 2010 г. выполнена санитарная обрезка кроны, очищена поверхность основания ствола от гипса и отмершей коры, обработана антисептиком внутренняя часть дупла, приведена в порядок территория с перепланировкой участка, смонтирована система полива [1]. В апреле 2013 г. специалистами ГНУ ВСТИСП для улучшения состояния Смоковницы Закхея был проведен комплекс очередных агромероприятий: осуществлена детальная санитарная обрезка кроны Смоковницы с удалением засохших ветвей; обработаны специальным варом срезы; выполнена санация дупла в основании ствола-ксиля; продезинфицированы и загерметизированы малые дупла на высоте 4-6 м; под длинную скелетную ветвь установлена опора [2].

Вследствие проведенных в последние годы агромероприятий произошло улучшение состояния Смоковницы Закхея, которое проявилось в хорошей облиственности кроны, уменьшении числа отмерших ветвей, активном формировании плодовых образований. Однако, несмотря на все восстановительные мероприятия, смоковница Закхея не может жить бесконечно долго, в связи с чем актуален поиск её достойной молодой преемницы. И такое дерево имеется: оно расположено в самом центре музейно-паркового комплекса, на расстоянии около 50 м от Смоковницы Закхея, и имеет возраст около 500 лет (фото 1). Состояние молодой смоковницы в целом хорошее, хотя

в 2013 г. на высоте около 2,5 м внутри ствола-ксиля было обнаружено дупло, и проведена его санация с герметизацией верхней части.



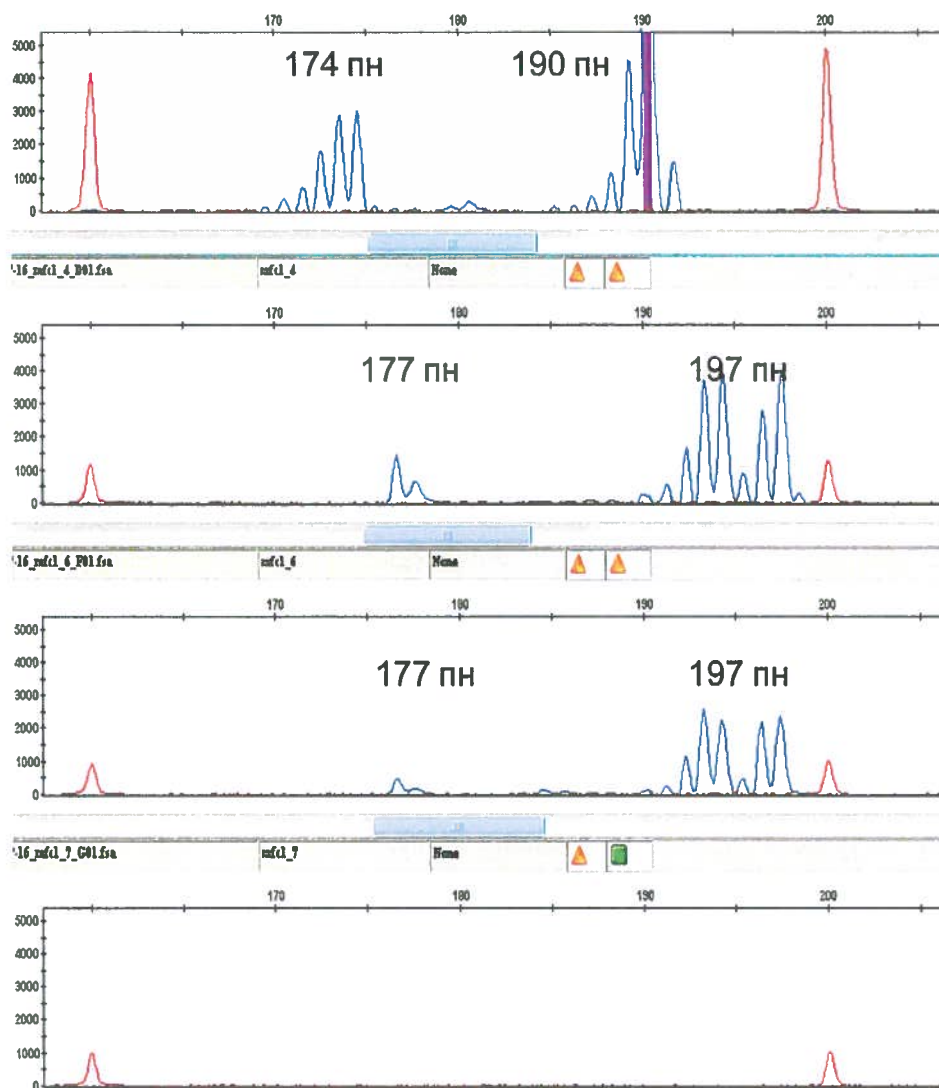
Фото 1. Молодое дерево смоковницы (возраст около 500 лет)

Молодая смоковница, предположительно, может являться потомством Смоковницы Закхея [1]. Поэтому целью данной работы явилось установление родственных связей между Смоковницей Закхея и молодой смоковницей путем молекулярного анализа.

С деревьев Смоковницы Закхея и молодой смоковницы были заготовлены листья. В условиях лаборатории их высушивали в электрическом суховоздушном термостате ЕС-1/80 при температуре 42 °С в течение 7 часов. Высушенные листья подвергали молекулярному анализу, который проводили путем секвенирования на 16-канальном секвенаторе Abi 3130 xl в Центре биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Из каждого образца осуществляли по два независимых выделения ДНК. На каждое выделение и с каждым маркером ставили от 3 до 7 независимых ПЦР реакции с фрагментным анализом (в зависимости

от маркеров). Использовали большинство известных в научной литературе к настоящему времени для идентификации генома *Ficus sycomorus* L. микросателлитных маркеров: MFC1, MFC2, MFC3, MFC5, MFC7, Fсyc06 и Fсyc08 [3, 4]. Синтез праймеров осуществляли в ООО «Синтол». В качестве контрольного образца брали листья *Ficus carica* L., а как отрицательный контроль использовали воду.

При использовании маркера MFC1 амплифицируемые продукты у образцов Смоковницы Закхей и молодой смоковницы совпадали по размеру и имели в обоих случаях по 2 пика на уровне 177 и 197 пар нуклеотидов (рис. 1). У контрольного образца *Ficus carica* L. размер амплифицируемого продукта отличался от образцов смоковницы и имел 2 максимума: 174 и 190 пн.



К

М

С

К-

Рис. 1. Размеры амплифицируемых продуктов у различных образцов при использовании молекулярного маркера MFC1:
 К – контроль (*Ficus carica* L.), М – молодая смоковница, С – Смоковница Закхей,
 К- – отрицательный контроль (вода)

При применении маркера молекулярных масс MFC2 амплифицируемые продукты у обоих образцов смоковницы также совпадали по размеру и характеризовались наличием 2 максимумов на уровне 165 и 175 пар

нуклеотидов (рис. 2). У образца *Ficus carica* L. размер амплифицируемого продукта отличался от образцов смоковницы и имел 1 пик на уровне 168 пн.



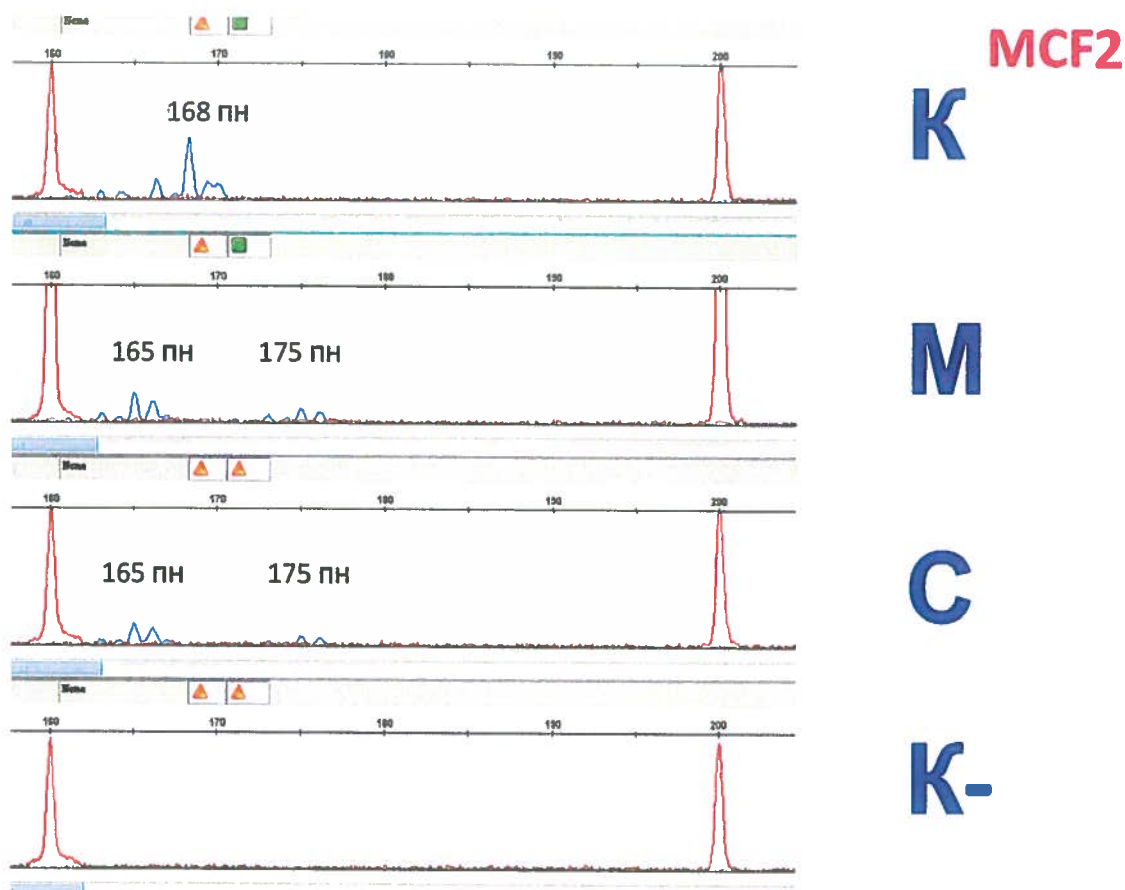


Рис. 2. Размеры амплифицируемых продуктов у различных образцов при использовании молекулярного маркера MCF2:
 К – контроль (*Ficus carica* L.), М – молодая смоковница, С – Смоковница Закхья,
 К- – отрицательный контроль (вода)

При использовании маркера Fsy08 амплифицируемые продукты у образцов Смоковницы Закхья и молодой смоковницы совпадали по размеру и имели по 2 максимума на уровне 194 и 205 пар нуклеотидов (рис. 3). У контрольного образца *Ficus carica* L. размер амплифицируемого продукта отличался от образцов смоковницы и имел 1 максимум 198 пн.

Аналогичная картина имела место и при использовании маркеров MFC3 (по 2 одинаковых максимума на уровне 105 и 110 пн у молодой смоковницы и Смоковницы Закхья), MFC5 (по 3 одинаковых максимума на уровне 123, 131 и 140 пн), Fsuc06 (по 2 одинаковых максимума на уровне 190 и 196 пн). Маркер MFC7 не обеспечивал воспроизводимую амплификацию на исследуемых образцах.

Следовательно, при использовании всех изученных маркеров амплифицируемые продукты у Смоковницы Закхья и молодой

смоковницы совпадали по размеру, что может являться доказательством идентичности геномов этих двух деревьев.

Ficus sycomorus L. относится к диплоидам и содержит в своем геноме 26 хромосом [4]. По большинству маркеров образцы двух смоковниц показывали более чем один максимум, что можно интерпретировать как гетерозиготность. При этом оба растения были гетерозиготны идентичными аллелями по нескольким локусам молекулярных маркеров, что ещё раз свидетельствует в пользу предположения о генетической близости Смоковницы Закхья и молодой смоковницы.

У контрольного образца *Ficus carica* L. размер амплифицируемого продукта всегда отличался от образцов, взятых с двух смоковниц. Это свидетельствует о видовых различиях *Ficus sycomorus* L. и *Ficus carica* L.



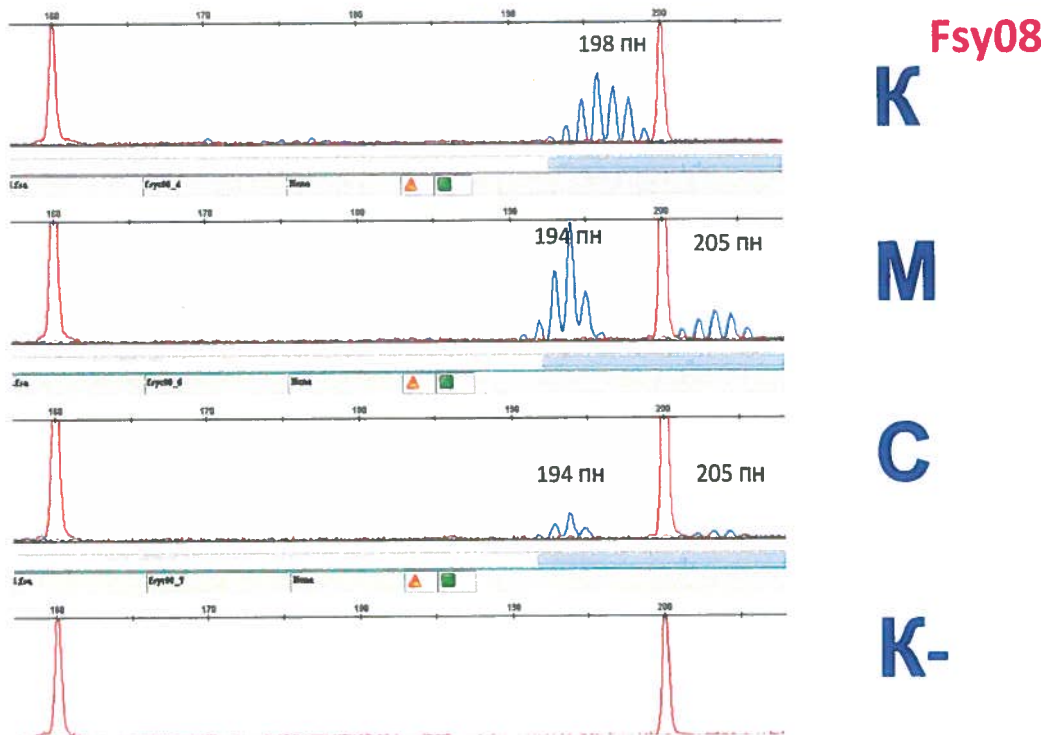


Рис. 3. Размеры амплифицируемых продуктов у различных образцов при использовании молекулярного маркера Fsy08:
 К – контроль (*Ficus carica* L.), М – молодая смоковница, С – Смоковница Закхея,
 К- – отрицательный контроль (вода)

На всех изученных маркерах наработка амплифицируемого продукта у Смоковницы Закхея проходила менее активно, чем у молодой смоковницы. Это может быть связано со спецификой биохимического состава двух деревьев и более высокой концентрацией соединений, ухудшающих амплификацию, в тканях Смоковницы Закхея по сравнению с более молодой смоковницей.

Таким образом, с достаточно высокой долей вероятности Смоковницу Закхея и молодую смоковницу можно признать идентичными. Молодая смоковница является потомством Смоковницы Закхея и в будущем сможет служить её преемницей.

В дальнейшем необходимо продолжить научно-исследовательские работы по изучению генетических и биологических особенностей Смоковницы Закхея.

14



Фото 2. Укоренение черенков Смоковницы Закхея (слева) и молодой смоковницы (справа)



Фото 3. Зеленый черенок смоковницы с зачатками корней



Фото 4. Растение, полученное из зеленого черенка смоковницы



Фото 5. Плодоношение смоковницы в условиях светокomнаты

Литература

1. Куликов И.М., Карпун Ю.Н. Смоковница Закхея в Иерихоне. Прошлое, настоящее, будущее // Садоводство и виноградарство, 2010. – № 2. – С. 45-48.
2. Куликов И.М., Упадышев М.Т. Смоковница Закхея: мониторинг состояния и агромероприятия по поддержанию жизнеспособности // Садоводство и виноградарство, 2013. – № 3. – С. 24-25.
3. Ahmed S., Dawson D.A., Compton S.G. Characterization of microsatellite loci in the African fig *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) // Molecular Ecology Notes, 2007. – № 7. – P. 1175-1177.

4. Khadari B., Hochu I., Santoni S., Kjellberg F. Identification and characterization of microsatellite loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus *Ficus* // Molecular Ecology Notes, 2001. – № 1. – P. 191-193.

5. Mihretie Z., Dagne K. Chromosome numbers of some indigenous tree species of Ethiopia // Ethiopian J. Biol. Sciences, 2013. – Vol. 12. – № 1. – P. 41-49.

I.M. Kulikov, M.T. Upadyshev

All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery

Identification of a relationship of Fig Zakchei by means of the molecular analysis

