

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ В ОЗДОРОВЛЕНИИ МИКРОКЛОНОВ ПОДВОЕВ МАХМА 14, GF 677, MYROBALAN 29C ОТ ИНФЕКЦИЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

THE EFFECTIVENESS OF ANTIBIOTICS IN THE RECOVERY OF MICROCLONES ROOTSTOCKS MAXMA 14, GF 677, MYROBALAN 29C FROM INFECTIONS OF VARIOUS ETIOLOGIES

Сулейманова С.Д.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт плодородства и чаеводства Министерства сельского хозяйства Азербайджана

² Научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия Министерства сельского хозяйства Азербайджана
E-mail: suleymanovas81@mail.ru

Suleimanova S.J.^{1,2}

¹ Research Institute of Fruit and Tea Growing of the Ministry of Agriculture of Azerbaijan

² Research Institute of Viticulture and Winemaking of the Ministry of Agriculture of Azerbaijan
E-mail: suleymanovas81@mail.ru

В статье приведены данные эксперимента по изучению эффективности различных групп антибиотиков в санации эксплантатов некоторых подвоев косточковых плодовых культур от инфекции различной этиологии, занесенной из окружающей среды, при нарушении правил стерильности в работе с культурой *in vitro*. Результаты исследования показали, что морфогенетическая реакция эксплантов клонированных подвоев на антибиотики зависит от их сортовой принадлежности. Так, большее количество введенных эксплантатов Myrobalan 29C некротирует (25–100%). Количество нормально развитых микрорастений для разных подвоев колеблется от 0 до 75. Было установлено, что все изучаемые концентрации антибиотиков, кроме цефтриаксона 10 мг/л и нистатина 100 мг/л, положительно влияют на жизнеспособность эксплантов клонированного подвоя MaxMa 14. Для подвоев Myrobalan 29C максимальное количество жизнеспособных эксплантов (60% здоровых эксплантатов) показали среды с антибиотиком нистатин в концентрации 200 мг/л. Для подвоев GF 677 максимальное количество хорошо развитых микропобегов наблюдалось на питательных средах с антибиотиками тетрациклин в концентрации 100 мг/л и цефтриаксон в концентрации 200 мг/л (60% здоровых эксплантатов в обоих вариантах).

Ключевые слова: подвой, MaxMa 14, GF 677, Myrobalan 29C, антибиотики, *in vitro*.

Для цитирования: Сулейманова С.Д. ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ В ОЗДОРОВЛЕНИИ МИКРОКЛОНОВ ПОДВОЕВ МАХМА 14, GF 677, MYROBALAN 29C ОТ ИНФЕКЦИЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ. Аграрная наука. 2019; (5): 75–78.
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-325-5-75-78>

The article presents experimental data on the effectiveness of various groups of antibiotics in the rehabilitation of the explants of some rootstocks of stone fruit crops from infections of various etiologies brought from the environment, in violation of the rules of sterility in working with an *in vitro* culture. The results of the study showed that the morphogenetic response of explants of clonal rootstocks to antibiotics depends on their varietal origin. Thus, a greater number of the introduced explants Myrobalan 29C necrotic (25–100%). The number of normally developed microplants for different rootstocks ranges from 0 to 75. It was found that all studied antibiotic concentrations, except ceftriaxone 10 mg/l and nystatin 100 mg/l, positively affect the viability of MaxMa 14. For rootstocks Myrobalan 29C maximum the number of viable explants (60% of healthy explants) showed the environment with the antibiotic nystatin at a concentration of 200 mg/l. For rootstocks GF 677, the maximum number of well-developed micro shoots was observed on nutrient media with antibiotics tetracycline at a concentration of 100 mg/l and ceftriaxone at a concentration of 200 mg/l (60% of healthy explants in both variants).

Key words: stock, MaxMa 14, GF 677, Myrobalan 29C, antibiotics, *in vitro*.

For citation: Suleimanova S.J. THE EFFECTIVENESS OF ANTIBIOTICS IN THE RECOVERY OF MICROCLONES ROOTSTOCKS MAXMA 14, GF 677, MYROBALAN 29C FROM INFECTIONS OF VARIOUS ETIOLOGIES. Agrarian science. 2019; (5): 75–78. (In Russ.)
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-325-5-75-78>

Введение

Питательные среды и эксплантаты, введенные в культуру, являются рассадниками грибной и бактериальной микрофлоры, так как на питательной среде имеются все благоприятные условия для их развития [1, 2]. В плодовых маточниках, где берется исходный материал для микроразмножения *in vitro*, циркулируют такие опасные заболевания, как корневой рак (*Bacterium tumefaciens* Smith and Townsend), бактериальный некроз (*Pseudomonas syringae* Van Hall) и др. [5]. На этапе введения в культуру *in vitro* с помощью меристем существует возможность освободить растения от большинства вирусных, фитоплазменных инфекций, а также инфекций бактериальной и грибной этиологии. При этом в процессе микроразмножения проводится оздоровление (санация) от инфекции, как занесенной в культуру *in vitro* с самими эксплантатами, так и попавшей из внешней среды во время пассажей. Для повышения эффективности санации помимо мероприятий по поддержанию стерильности используют антибиотики [4, 6].

Причиной контаминации эксплантатов на питательных средах являются эпифитные дрожжи и грибы *Cryptococcus laurentii* Kuff., *Cryptococcus album*, *Rhodotorula glutinis* Fresen. (дрожжи), *Penicillium cyclopium* Westling (рис. 1), а также ряд не идентифицированных объектов, занесенных из окружающей среды с нестерильными эксплантатами или другим путем [2, 6].

Цель исследования — изучить влияние антибиотиков на уровень контаминации эксплантатов на питательной среде, на рост и развитие растений.

Материалы и методика

Исследования проведены по общепринятой методике [3] в 2019 году в лаборатории биотехнологии НИИ плодородства и чаеводства Министерства сельского хозяйства Азербайджана.

Объекты исследования — эксплантаты подвоев косточковых плодовых культур MaxMa 14, Myrobalan 29C, GF 677; антибиотики: цефтриаксон, тетрациклин, нистатин.

При оценке результативности использования антибиотиков учитывали: уровень бактериального, грибного заражения и регенерации эксплантов (отношение числа регенерировавших эксплантов к числу высаженных).

Эксплантаты брали в первой половине февраля у растений с доказанной сортовой принадлежностью, содержащихся в закрытом помещении при температуре +3...+5 °С. Верхушечные и боковые почки очищали от поверхностной грязи в мыльном растворе в течение 10 минут при тщательном помешивании, затем тщательно промывали проточной водой. Эксплантаты стерилизовали 5%-ным раствором гипохлорита натрия в течение 20–30 мин. при активном перемешивании стерилизующего раствора. По истечении времени стерилизации раствор сливали и заливали эксплантаты стерильной водой на 3–5 минут. Промывку проводили минимум в 3 порциях воды. Простерилизованные и про-

Таблица 1.

Результативность введения в культуру *in vitro* клонового подвоя MaxMa 14 на среды с различными антибиотиками

Table 1. The effectiveness of the introduction into culture *in vitro* of the clonal rootstock MaxMa 14 on substratum with different antibiotics

Среда	Посажено эксплантов, шт.	Инфицировано эксплантов, %	Экспланты без инфекции, %
Контроль (без антибиотика)	100	70,0	30,0
Цефтриаксон 0,5 мг/л	100	40,0	60,0
Цефтриаксон 10 мг/л	100	33,0	67,0
Цефтриаксон 100 мг/л	100	56,0	44,0
Цефтриаксон 200 мг/л	100	33,0	67,0
Тетрациклин 0,5 мг/л	100	33,0	67,0
Тетрациклин 10 мг/л	100	33,0	67,0
Тетрациклин 100 мг/л	100	25,0	75,0
Тетрациклин 200 мг/л	100	33,0	67,0
Нистатин 0,5 мг/л	100	33,0	67,0
Нистатин 10 мг/л	100	44,0	56,0
Нистатин 100 мг/л	100	88,0	12,0
Нистатин 200 мг/л	100	33,0	67,0

Рис. 1. Эпифитные дрожжи и грибы, выделенные из загрязненных питательных сред (1 — *Cryptococcus laurentii*; 2 — *Rhodotorula glutinis*; 3 — *Cryptococcus albus*; 4 — *Penicillium cyclopum*)

Fig. 1. Epiphytic yeast and fungi isolated from contaminated nutrient substratum (1 — *Cryptococcus laurentii*; 2 — *Rhodotorula glutinis*; 3 — *Cryptococcus albus*; 4 — *Penicillium cyclopum*)



Таблица 2.

Результативность введения в культуру *in vitro* клонового подвоя GF 677 на среды с различными антибиотиками

Table 2. The effectiveness of introducing into culture *in vitro* clone rootstock GF 677 on substratum with different antibiotics

Среда	Посажено экплантов, шт.	Инфицировано экплантов, %	Экспланты без инфекции, %
Контроль (без антибиотика)	100	80,0	20,0
Цефтриаксон 0,5 мг/л	100	60,0	40,0
Цефтриаксон 10 мг/л	100	80,0	20,0
Цефтриаксон 100 мг/л	100	60,0	40,0
Цефтриаксон 200 мг/л	100	40,0	60,0
Тетрациклин 100 мг/л	100	40,0	60,0
Тетрациклин 200 мг/л	100	50,0	50,0
Нистатин 0,5 мг/л	100	60,0	40,0
Нистатин 10 мг/л	100	60,0	40,0
Нистатин 100 мг/л	100	100,0	0,0
Нистатин 200 мг/л	100	75,0	25,0

Таблица 3.

Результативность введения в культуру *in vitro* клонового подвоя Myrobalan 29C на среды с различными антибиотиками

Table 3. The effectiveness of the introduction into the culture of *in vitro* clone stock Myrobalan 29C on substratum with different antibiotics

Среда	Посажено экплантов, шт.	Инфицировано экплантов, %	Экспланты без инфекции, %
Контроль (без антибиотика)	100	65,0	35,0
Цефтриаксон 0,5 мг/л	100	80,0	20,0
Цефтриаксон 10 мг/л	100	75,0	25,0
Цефтриаксон 100 мг/л	100	75,0	25,0
Цефтриаксон 200 мг/л	100	100,0	0,0
Тетрациклин 100 мг/л	100	100,0	0,0
Тетрациклин 200 мг/л	100	100,0	0,0
Нистатин 0,5 мг/л	100	100,0	0,0
Нистатин 10 мг/л	100	70,0	25,0
Нистатин 100 мг/л	100	60,0	40,0
Нистатин 200 мг/л	100	40,0	60,0

мытые объекты помещали в стерильные чашки Петри или в баночки с крышкой.

Питательную среду готовили по прописи Мурасиге — Скуга с дополнением 6-БА 1 мг/л, тиамина 2,5 мг/л, инозитола 250 мг/л. Антибиотики растворяли в стерильной воде и добавляли в пробирки с питательной средой прямо перед автоклавированием. Концентрация препаратов: 0,5; 10; 100; 200 мг/л. В качестве контроля ис-

пользовали среду без антибиотиков. Учет состояния экплантов проводили через 30 дней после введения в культуру *in vitro*.

Результаты и обсуждение

Результаты изучения эффективности антибиотиков приведены в таблицах 1, 2, 3.

Как видно из таблицы 1, максимальное число прижившихся и нормально развивающихся (75%) микрорастений отмечено в варианте с использованием тетрациклина в концентрации 100 мг/л (рис. 2). Исследование показало, что, кроме цефтриаксона 10 мг/л и нистатина 100 мг/л, остальные изучаемые концентрации антибиотиков положительно влияют на жизнеспособность экплантов клонового подвоя *MaxMa 14*. Также было установлено, что тетрациклин в концентрации 100 мг/л положительно влияет на рост микрорастений данного подвоя (рис. 2).

По данным, приведенным в таблице 2, для экплантов клонового подвоя GF 677 наиболее эффективным оказались антибиотики цефтриаксон в концентрации 200 мг/л (60% здоровых экплантов), и тетрациклин — 100 мг/л (60% здоровых экплантов). По сравнению с контрольным вариантом значительно повышают жизнеспособность экплантов также препараты цефтриаксон в концентрации 0,5 мг/л, 100 мг/л, 200 мг/л, тетрациклин 100 мг/л, 200 мг/л, нистатин 0,5 мг/л, 10 мг/л.

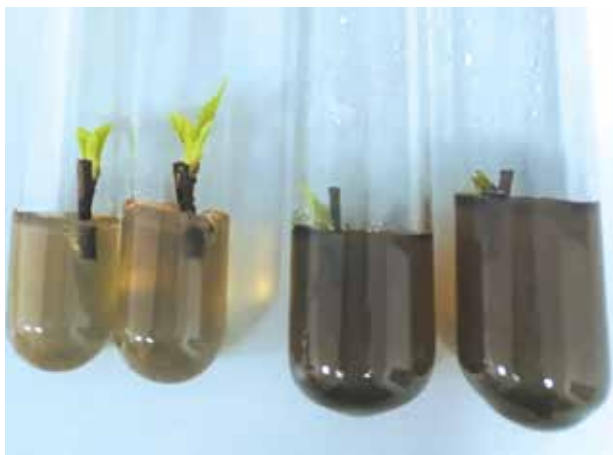
Согласно таблице 3, для экплантов подвоя Myrobalan 29C самый лучший результат получен в варианте с антибиотиком нистатин 200 мг/л (60% здоровых экплантов). Этот антибиотик оказался единственным из протестированных препаратов, который значительно повысил жизнеспособность экплантов.

Исходя из результатов исследования, можно сделать вывод, что морфогенетическая реакция экплантов клоновых подвоев на антибиотики зависит от их сортовой принадлежности. Так, большее количество введенных экплантов Myrobalan 29C некротирует (25–100%). Количество нормально развитых микрорастений для раз-

ных подвоев колеблется от 0 до 75. Было установлено, что все изучаемые концентрации антибиотиков, кроме цефтриаксона 10 мг/л и нистатина 100 мг/л, положительно влияют на жизнеспособность экплантов клонового подвоя *MaxMa 14*. Для подвоев Myrobalan 29C максимальное количество жизнеспособных экплантов (60% здоровых экплантов) показали среды с антибиотиком нистатин в концентрации 200 мг/л. Для

Рис. 2. Влияние тетрациклина на рост эксплантов подвоя MaxMa14 (слева в концентрации 100 мг/л, справа — 200 мг/л (19.02.2019)); дата введения в культуру: 05–07.02.2019

Fig. 2. Effect of tetracycline on the growth of MaxMa14 rootstock explants (on the left at a concentration of 100 mg/l, on the right — 200 mg/l (02/19/2019)); date of introduction into the culture: 05–07.02.2019



ЛИТЕРАТУРА

1. Баргутин А.Б., Феоктистов Н.В., Пунина Н.В. [и др.]. Определение видовой принадлежности бактерий контаминирующих культуру древесных растений in vitro // Тезисы IX Международной конференции: Биология клеток растений in vitro и биотехнология. — Звенигород, 2008. — С. 60.
2. Дунаева С.Е., Оследкин Ю.С. Бактериальные микроорганизмы, ассоциированные с тканями растений в культуре in vitro: идентификация и возможная роль // Сельскохозяйственная биология. — 2015. — Т. 50. — № 1. — С. 3–15.
3. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрочлониального размножения растений. — Киев: Наук. Думка, 1992. — 232 с.
4. Кухарчик Н.В. Научные и практические основы оздоровления от вирусов и размножения плодовых и ягодных культур in vitro: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.05. — Жодионо, 2006. — 40 с.
5. Технологический процесс получения безвирусного посадочного материала плодовых и ягодных культур: методические указания / под общ. ред. В.И. Кашина. — М.: Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, 2001. — 107 с.
6. Özbek B. Bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının in vitro çoğaltımı ve kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılıklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana, 2011. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://libratez.cu.edu.tr/tezler/8567.pdf>

подвоев GF 677 максимальное количество хорошо развитых микропобегов наблюдалось на питательных средах с антибиотиками тетрациклин в концентрации 100 мг/л и цефтриаксон в концентрации 200 мг/л (60% здоровых эксплантов в обоих вариантах).

Выводы

Анализ полученных данных проведенных экспериментов с добавлением антибиотиков цефтриаксон, тетрациклин, нистатин в концентрациях 0,5, 10, 100, 200 мг/л, показал, что на санацию питательной среды и общее развитие микрорастений подвоев GF 677, Myrobalan 29C наилучшее действие оказали антибиотик нистатин в концентрации 200 мг/л, тетрациклин в концентрации 100 мг/л, цефтриаксон в концентрации 200 мг/л. Для подвоя MaxMa14 хорошие результаты получены во всех вариантах, кроме вариантов с антибиотиками цефтриаксон 10 мг/л и нистатин 100 мг/л. Также было установлено, что нистатин 200 мг/л и тетрациклин 100 мг/л положительно влияют на рост экспериментальных растений.

REFERENCES

1. Bargutin A.B., Feoktistov N.V., Punina N.V. [et al.]. Determination of the species of bacteria contaminating the culture of woody plants in vitro // Abstracts of the IX International Conference: Plant cell biology in vitro and biotechnology. — Zvenigorod, 2008. P. 60.
2. Dunaeva S.E., Osledkin Yu.S. Bacterial microorganisms associated with plant tissues in an in vitro culture: identification and possible role // Agricultural Biology. 2015. T. 50. № 1. P. 3–15.
3. Kalinin F.L., Kushnir G.P., Sarnatskaya V.V. Technology of microclonal propagation of plants. Kiev: Sciences. Dumka, 1992. 232 p.
4. Kuharchik N.V. Scientific and practical bases of recovery from viruses and reproduction of fruit and berry crops in vitro: author. dis.: 06.01.05. Zhodino, 2006. 40 p.
5. The technological process of obtaining virus-free planting material of fruit and berry crops: guidelines. M.: All-Russian Breeding and Technological Institute of Horticulture and Nursery, 2001. 107 p.
6. Özbek B. Bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının in vitro çoğaltımı ve kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılıklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana, 2011. [Electronic resource]. Access mode: <http://libratez.cu.edu.tr/tezler/8567.pdf>

НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ •

В Смоленской области реализуется инвестпроект в отрасли растениеводства

Предприятие «Смолагро» планирует в текущем году на территории Сафоновского района Смоленской области произвести яровой сев на площади не менее 700 га, в том числе 200 га пшеницы и 500 га рапса. Отметим, что в 2018 году компания провела пробный посев яровой пшеницы на площади 50 га: в результате валовый сбор зерна составил почти 60 т. Для выполнения амбициозной задачи уже закуплено более 10 единиц специализированной техники и оборудования на 36 млн рублей. В ближайшее время запланировано приобрести зерноуборочный комбайн, укомплектованный рапсовым столом. Также предприятием закуплен и завезен необходимый объем минеральных удобрений и семян.

Помимо этого, в 2019 году сельскохозяйственным товаропроизводителем запланировано проведение культурно-технических мероприятий на площади более 150 гектар. В настоящее время предприятием проводится подборка полей для составления проектно-сметной документации. Как отметил и.о. начальника Департамента Смоленской области по сельскому хозяйству и продовольствию Александр Царев, развитие компании «Смолагро» активно поддерживает Департамент Смоленской области по сельскому хозяйству и продовольствию.

«По поручению губернатора Смоленской области Алексея Владимировича Островского мы стараемся помочь каждому сельхозтоваропроизводителю региона. В текущем году предприятие может претендовать на получение субсидии на приобретение сельхозтехники: вся необходимая информация уже доведена до руководства «Смолагро», — сказал Александр Царев.