

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Центральный ботанический сад
Научно-практический центр по биоресурсам
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича
Институт леса



Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов

Материалы III Международной конференции,
посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского
(7–9 октября 2015 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях
Часть 1**

**Секция 1. Ресурсы и биоразнообразие растительного мира:
современное состояние, воспроизводство, охрана
и устойчивое использование**

**Секция 2. Современные направления изучения
ботанических коллекций для сохранения
и рационального использования
биоразнообразия растительного мира**

Минск
«Конфидо»
2015

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

П78

Редакционная коллегия:

д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.В. Титок (ответственный редактор),

д.б.н. Е.И. Анисимова,

к.б.н. Б.Ю. Аношенко,

к.б.н. Д.Б. Беломесецева,

к.б.н. П.Н. Белый,

д.б.н. Е.И. Бычкова,

к.б.н. Т.В. Волкова,

к.б.н. Л.В. Гончарова,

д.б.н. С.А. Дмитриева,

к.б.н. Е.Я. Куликова,

к.б.н. А.В. Пугачевский,

д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.П. Семенченко,

к.б.н. В.А. Цинкевич

Материалы печатаются в авторской редакции.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.

П78 **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов:** материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. (7–9 октября 2015, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – 514 с.

ISBN 978-985-6777-74-8.

В сборнике представлены материалы III Международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов», посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. Часть 1: секция 1 «Ресурсы и биоразнообразие растительного мира: современное состояние, воспроизводство, охрана и устойчивое использование» и секция 2 «Современные направления изучения ботанических коллекций для сохранения и рационального использования биоразнообразия растительного мира».

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

ISBN 978-985-6777-74-8

© ГНУ «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси», 2015
© Оформление. ЗАО «Конфидо», 2015

Оздоровление растений *Melittis sarmatica* в культуре *in vitro*

Сахвон Е.В.¹, Фоменко Т.И.²

¹Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь, selena.bel@mail.ru

²Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь.

Резюме. Исследовано действие цефтриаксона на растения *Melittis sarmatica*, культивируемые *in vitro*.

Кадило сарматское (*Melittis sarmatica*) известно как ценнейшее лекарственное, пряно-ароматическое, медоносное и декоративное растение. Является редким, находится под охраной в Беларуси, Литве и Польше [7]. В последние годы потребность в нем возрастает из-за содержания в растении таких веществ, как кумарины, флавоноиды, эфирное масло, соединения меди, марганца, серебра, ванадия [6]. Увеличивающийся спрос на продукцию этого растения стимулирует исследования, связанные с его воспроизводством, в том числе и с применением микроразмножения в условиях *in vitro*. Клональное микроразмножение находит широкое применение для решения многих научно-теоретических и практических задач. Метод дает возможность при недостатке исходного материала в кратчайшие сроки получить большое количество растений, генетически идентичных исходному виду или форме [9].

При клональном микроразмножении растений часто возникает опасность как проявления внутренних бактериальных инфекций, так и обсеменения клонируемого материала извне. При культивировании *in vitro* растительных объектов характерно длительное бессимптомное присутствие бактерий. Они могут устойчиво сохраняться в пассируемых культурах. Бактериальные контаминации способны угнетать регенерацию, микрклональное размножение, вызывать гибель культивируемых *in vitro* растительных объектов, служить препятствием для воспроизводимости протоколов. Причем такое их действие на растения может проявиться только в условиях *in vitro* [1]. Некоторые представители родов

бактерий, например *Enterobacter*, *Bacillus*, являются патогенными исключительно в культуре *in vitro* [4].

В таком случае целесообразно проведение антибактериальной хемотерапии, основанной на применении антибиотиков [3]. Ткани растений имеют различную чувствительность к антибиотикам, и эта реакция зависит от генотипа растений. Состав культуральной среды также может снижать активность антибиотиков [2, 5]. Большое значение имеет правильно подобранная концентрация действующего вещества, так как помимо бактерицидного действия антибиотики могут угнетать рост растений, уменьшать их жизнеспособность и коэффициент размножения [8].

Объектом исследования явились растения *Melittis sarmatica* Klok., выращиваемые *in vitro* на агаризованной среде Мурасиге-Скуга с добавлением 0,5 мг/л БАП. В марте 2015 года при длительном пассировании культуры *in vitro Melittis sarmatica* для некоторых клонов в толще среды наблюдали беловатые «нити» в основании побега и листьев, касающихся среды. В дальнейшем контаминация распространилась и на поверхность среды. При дальнейшем черенковании зараженных побегов отмечали либо отсутствие контаминанта, либо возобновление заражения. Постепенно все клоны оказались контаминированы. При анализе установлено, что проявившиеся микроорганизмы относятся к грамотрицательным облигатным анаэробам.

Для устранения контаминации в питательную среду вводили антибиотик цефтриаксон. Цефтриаксон – широко применяемый полусинтетический цефалоспориновый антибиотик третьей генерации широкого спектра действия. Активен в отношении грамотрицательных микроорганизмов, а также эффективен против грамположительных возбудителей инфекций. Может действовать на штаммы, толерантные к пенициллинам и цефалоспорином первых поколений и аминогликозидам.

Цефтриаксон вводили в питательную среду в концентрациях 100–350 мг/л. Отсутствие контаминации определяли визуально. Жизнеспособность *in vitro* растений определяли по следующим показателям: высота растений, число листьев (зеленых, желтых, сухих). Измерения проводили спустя 24 дня после пассажа.

Установлено, что при концентрации цефтриаксона более 200 мг/л не наблюдалось видимого проявления контаминации (табл. 1). Однако лишь концентрация антибиотика 250 мг/л и более давала устойчивый результат при дальнейшем размножении растений.

Таблица 1. Характеристика воздействия цефтриаксона на контаминант растений *Melittis sarmatica* в культуре *in vitro*

Концентрация цефтриаксона, мг/л	Присутствие контаминации	
	при добавлении в среду	при последующих пассажах
100	+	+
150	+	+
200	-	+
250	-	-
300	-	-
350	-	-

Исходя из данных стандартного отклонения (табл. 2), видно, что увеличение концентрации цефтриаксона ведет к изменению характера его влияния на отдельные экспланты растения *Melittis sarmatica*. Величина стандартного отклонения высоты растений колеблется от 2,12 (100 мг/л цефтриаксона) до 6,22 (350 мг/л цефтриаксона). Эта же величина для числа сухих листьев лежит в диапазоне от 0,67 (150 мг/л цефтриаксона) до 1,62 (1,62 мг/л цефтриаксона).

Ориентируясь на средние показатели, можно отметить, что наибольшую высоту имели растения при обработке цефтриаксоном в концентрациях 200–300 мг/л. При обработке

Таблица 2. Характеристика жизнеспособности растений *Melittis sarmatica* в культуре *in vitro* при воздействии цефтриаксона в концентрациях 100–350 мг/л

Концентрация цефтриаксона, мг/л	Высота растения*, мм	Показатель жизнеспособности – число листьев*, шт.		
		зеленых	желтых	сухих
100	23,83±2,12	4,17±1,34	0,25±0,45	2,50±0,80
150	24,25±2,42	5,08±1,24	0,42±0,52	2,50±0,67
200	29,16±3,06	6,92±1,08	0,25±0,62	0,17±0,39
250	31,00±3,04	8,25±0,97	0,75±0,87	0,42±0,67
300	28,58±3,91	8,25±1,14	0,92±0,79	0,58±0,67
350	23,75±6,22	7,5±1,09	1,08±0,79	1,58±1,62

* Показано среднее значение ± стандартное отклонение.

в концентрациях 250–300 мг/л показатель числа зеленых листьев был наилучшим, однако при обработке антибиотиком в концентрации 300 мг/л также увеличивалось число желтых и сухих листьев по сравнению с обработкой в концентрации 250 мг/л.

Подводя итог, можно констатировать, что обработка контаминированных растений *Melittis sarmatica* Клок. в условиях *in vitro* препаратом цефтриаксона в концентрации 250 мг/л дает наилучший результат по показателям жизнеспособности, а также устойчивое подавление проявления контаминации при дальнейших пассажах растений.

Список литературы

1. Дунаева, С.Е., Бактериальные микроорганизмы, ассоциированные с тканями растений в культуре *in vitro*: идентификация и возможная роль / С.Е. Дунаева, Ю.С. Оследкин // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50, № 1. – С. 3–15.
2. Falkiner, F.R. Antibiotics and antibiotic resistance associated with plants, fruits and vegetables / F.R. Falkiner // Acta Hort. – 2000. – Vol. 530. – P. 83–86.
3. Определение видовой принадлежности бактерий, контаминирующих культуру древесных растений *in vitro* / А.Б. Ургутич [и др.] // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тезисы докладов IX Междунар. конф. Звенигород, 8–12 сентября, 2008.
4. Cassels, A.S. Problems in Tissue Culture: Culture Contamination / A.S. Cassels // Micropropagation Technology and Application. – 1991. – P. 31–44.
5. Контаминация растений фитопатогенными микроорганизмами и оздоровление в культуре *in vitro* / А.Б. Бургутин [и др.] // Защита картофеля. – 2014. – № 2. – С. 9–11.
6. Гречаный, И.А. Полный справочник лекарственных трав и целительных сборов / И.А. Гречаный. – Белгород: Книжный клуб «Клуб семейного досуга», 2013. – 543 с.
7. Красная книга Республики Беларусь: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / Гл. ред. И.М. Качановский. – 4-е изд. – Минск: Беларус. энцыкл. імя П. Броўкі, 2015. – 448 с.
8. Дорошенко, Н.П. Физиологическое обоснование применения препарата эмистим при клональном микроразмножении винограда. Научный журнал КубГАУ, 2010, № 58 (04). – Режим доступа: http://rus.neicon.ru:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1848/71_22.pdf?sequence=1.
9. Абдулалишоева, С.Ф. Использование методов биотехнологии при сохранении ценных сортов винограда / С.Ф. Абдулалишоева, Х.И. Бободжанова, Н.В. Кухарчик // Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений: материалы Междунар. науч. конф., Минск, 18–20 августа 2014 г. / ГНУ «Центральный ботанический сад Академии наук Беларуси»; редкол.: Н.В. Решетников [и др.]. – Минск, 2014. – С. 14–17.