

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕНОВ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ В КУЛЬТУРЕ  
*IN VITRO***

**М.А. Трейлиб**, магистрант

Научный руководитель – **Л.С. Цвирко**, д.б.н., профессор;

**Н.В. Водчиц**, зав. ОЛ "ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве"

**Полесский государственный университет**

Сирень – одно из наиболее популярных декоративных древесных растений. С помощью технологии *in vitro* можно быстро произвести необходимое количество растений нового сорта или сохранить коллекцию, а так же получить оздоровленный посадочный материал в короткие сроки. Практически на всех этапах размножения возникают сложности, связанные в первую очередь с

биологическими особенностями сирени. В связи с этим оптимизация этапов клонального микро-размножения отдельных сортов имеет особую актуальность [1, с.32, 2, с.56].

**Цель работы** – определить видовую и родовую принадлежность микроорганизмов, поражающих экспланты сирени обыкновенной в условиях *in vitro*.

Исследования проводились на базе отраслевой лаборатории "ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве" биотехнологического факультета УО "Полесский государственный университет" в ноябре – декабре 2023 года.

В качестве объекта исследования использовали микроорганизмы, поражающие регенеранты сирени обыкновенной 4 сортов: Зорка Венера, Маршал Жуков, Великая Победа, Память о Колесникове.

Регенерацию *Syringa vulgaris in vitro* проводили на питательных агаризованных средах Му-расиге-Скуга стандартного состава с добавлением фитогормона 6-Бензиламинопурина, концентрацией 1 мг/л [3, с.302, 4, с.301].

Емкости с эксплантами размещали на стеллажах световой установки культурального помещения при температуре +25 °С, фотопериоде день/ночь – 16/8 ч, освещенности 6000 лк, относительной влажности воздуха 70 %.

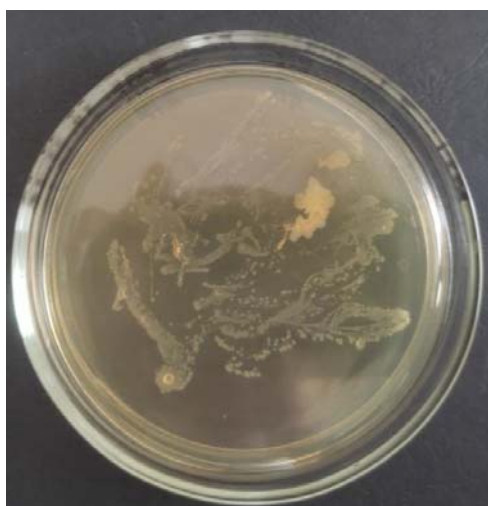
Определение микроорганизмов выполняли микроскопическим и культуральным методом, чувствительность определяли диско-диффузионным методом.

Выращивание растений методом клонального микро-размножения *in vitro* сталкивается с рядом проблем: в частности, инфицированием материала, которое проявляется в росте микроорганизмов на питательной среде в виде помутнения, хлопьев, точек или колоний [5, с.10]. Для эффективной борьбы с микроорганизмами необходимо определить их таксономический статус.

В ходе исследований был выполнен посев микроорганизмов из инфицированных колб с растительным материалом сирени обыкновенной на питательную среду Сабуро, содержащую левомицетин.

Через три дня культивирования в термостате при температуре +27 °С рост патогенов отмечен не был, что дало возможность судить об отсутствии грибковой инфекции и наличии бактериальной.

Далее определяли видовую принадлежность бактерии. Для этого производили посев культуры на ГРМ-агар [6, с.55], где был отмечен рост колоний микроорганизмов (рисунок 1).



**Рисунок 1.** – Рост колоний бактерий на ГРМ-агаре

Из колоний готовили мазки, окрашивали их методом Грама по стандартной методике [7, с.4,]. В ходе проведенных исследований удалось выяснить, что это бактерии рода *Пантоя*.

В последующем была приготовлена питательная среда MS, с добавлением антибиотиков: в первом случае – левомицетина, во втором – цефтриаксона по 500 мг/л каждого, на которую были пересажены регенеранты сирени обыкновенной из зараженных колб [8, с.5, 9, с.14].

Через 20 дней культивирования выявили, что в колбах с питательной средой Мурасиге-Скуга, содержащей цефтриаксон, наблюдались признаки инфицирования и угнетение роста эксплантов (рисунок 2 А).



**Рисунок 2.** – Экспланты сирени обыкновенной *in vitro* на питательной среде Мурасиге-Скуга, содержащей антибиотика цефтриаксон (А) и левомицетин (Б) через 20 дней культивирования

В среде, содержащей левомицетин, микрорастения активно росли, имели развитую листовую пластинку и образовывали каллусы (рисунок 2 Б). Доля регенерировавших эксплантов, относительно изначально введенных в стерильную культуру, составляла – 72 %.

На 30 сутки растения выглядели развитыми, визуальными не имели морфологических отклонений, выпадов не наблюдалось, приживаемость составила 100 %.

Установлено, что микроклоны сирени обыкновенной были контаминированы бактерией рода *Pantoea*. Стабильным санирующим эффектом обладает антибиотик левомицетин в концентрации – 500 мг/л. Отмечена неэффективность применения антибиотика цефтриаксон. При дальнейшем культивировании приживаемость регенерантов составляла – 100 %.

#### Список использованных источников

1. Спиридович, Е. В. Сирень из пробирки / Е. В. Спиридович // Наука и инновации. – 2019. – № 6. – 32–37 с.
2. Международная научная конференция, посвященная 85-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, материалы конференции, Минск, 6–8 июня 2017 г. / Национальная академия наук Беларуси, Центральный ботанический сад; редкол. : В. В. Титок [и др.]. – Минск, 2017. – Ч. 1. – С. 428–430.
3. Тимофеева, О. А., Невмержицкая, Ю. Ю. Клональное микроразмножение растений: учеб.-метод. Пособие / О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая. – Казань: Казанский университет, 2012. – 56 с.
4. Трейлиб, М. А. Совершенствование технологии ускоренного размножения сирени в условиях *in vitro* / М. А. Трейлиб // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы XVII международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 14 апреля 2023 г. : в 2-х ч. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.] ; редкол.: В.И. Дунай [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2023. – Ч. 2. – С. 301–303.
5. Лысак, В. В. Микробиология : учеб. пособие / В. В. Лысак. – Минск : БГУ, 2007. – 100 с
6. Желдакова, Р. А. Механизмы биосинтеза антибиотиков и их действие на клетки микроорганизмов : учеб.-метод. комплекс для студентов специальности 1-31 01 01 «Биология» / Р. А. Желдакова. – Мн.: БГУ, 2004. – 111 с.
7. Деменко, В. И. Микроклональное размножение садовых растений : учеб. пособие / В. И. Деменко. – Москва : ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА, 2007. – 55 с.
8. Блажевич, О. В. Культивирование клеток : учеб. пособие / О. В. Блажевич. – Минск : БГУ, 2004. – 79 с.
9. Кулуев, Б. Р. Основы биотехнологии растений : учеб. пособие / Б. Р. Кулуев [и др.]. – Уфа : Ринц БашГУ, 2017. – 245 с.