

**СТЕРИЛИЗАЦИЯ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ (*VACCINUM MACROCARPUM*)
СОРТОВ МАК ФАРЛИН И СТИВЕНС НА ЭТАПЕ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO**

М.А. Михальчук, 5 курс

Научный руководитель – **Н.П. Дмитривич**, к.с.х.н., доцент

Полесский государственный университет

Клюква крупноплодная (*Vaccinum macrocarpum*) является нетрадиционной культурой семейства брусничных для территории Республики Беларусь в отличие от клюквы болотной (*Vaccinum oxycoccus*). В нашей стране исследования по интродукции клюквы крупноплодной начались в 1970-х годах, а с 1980 г. началось активное выращивание на промышленных плантациях [1, с. 58].

Клюква обладает ценными биологически активными веществами, которые оказывают гипогликемическое, противовоспалительное, ранозаживляющее, противораковое, противосклеротическое действие, снижают концентрацию липопротеидов и холестерина в крови. По этой причине ее часто используют в кулинарии и фармацевтике [2, с. 16].

Кустарник хорошо поддается вегетативному размножению и не прихотлив к минеральному питанию. Несмотря на положительную биологическую отзывчивость на различные агротехнические приемы при размножении и выращивании культуры традиционными способами, применение микрореклонального размножения в условиях in vitro является более качественным и современным методом размножения растений. Введение в культуру данного вида позволит оперативно получать сортовой материал с ценными свойствами в больших количествах с высоким уровнем устойчиво-

сти к болезням и вредителям [3, с. 119]. Поэтому оптимизация методов введения и размножения в культуре *in vitro* ценных растений представляет высокий интерес с научной и практической точки зрения.

На данный момент существует множество протоколов введения в искусственные условия различных культур растений, включающие, в том числе, и этап стерилизации эксплантов. Несмотря на разработанные эффективные методы стерилизации у растений в культуре *in vitro* могут сохраняться эндофитные бактерии. Подобные организмы при обработке стерилизующими агентами могут оставаться в недоступных для растворов местах, таких как закрытые устьица, пространства между эпидермальными клетками и оставаться в тканях в течение длительных пассажей, никак не проявляя себя. Для определения подобного рода инфекционных агентов применяются молекулярно-генетические технологии, основанные на использовании метагеномной ДНК и соответствующих специфических праймеров [4, с. 3].

С целью элиминации скрытых инфекций можно прибегнуть к антибиотикам, которые обязательно должны быть нетоксичными для человека и растения, растворимыми в питательных средах и не изменять их pH, бактерицидными, сочетаться в комбинациях с другими антибиотиками и не реагировать с другими компонентами питательных сред [4, с. 10].

Цель исследования: изучить эффективность различных стерилизующих агентов и антибиотиков в питательных средах при введении в культуру *in vitro* двух сортов клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpum*).

Маточные культуры двух сортов клюквы крупноплодной для исследования взяты из питомника ООО «ПолесьеЦентр». Опыты проводились на базе лаборатории микроклонального размножения предприятия.

Для заготовки материала с маточных культур срезали молодые неодревесневшие черенки (2–5 см) и удаляли мелкие листья. Тщательно промывали под проточной холодной водой с хозяйственным мылом в течение двух минут, после чего смывали остатки мыла и упаковывали в мешки. Стерилизацию проводили под вытяжным шкафом в трех вариантах растворов: Риндомил Голд – 18 мин и хлорная известь – 25 мин, 70 % спирт – 5 мин и гипохлорит кальция – 15 мин, 3 % лизоформин – 10 мин и гипохлорит кальция – 15 мин. После проводили трехкратную отмывку в стерильных условиях в дистиллированной воде (таблица).

Таблица – Варианты стерилизации и питательных сред для эксплантов каждого сорта клюквы крупноплодной

	Вариант питательной среды		
	Аскорбиновая кислота + цефотаксим	Аскорбиновая кислота + гентамицина сульфат	Аскорбиновая кислота
Варианты стерилизующих растворов	Риндомил Голд – 18 мин и хлорная известь – 25 мин		
	70 % спирт – 5 мин и хлорная известь – 15 мин		
	3 % лизоформин – 10 мин и хлорная известь – 15 мин		

Экспланты с удаленными апексами из каждого варианта стерилизации были помещены на три варианта питательной среды Андерсена в трех повторностях. В качестве контроля была взята питательная среда без добавления антибиотиков. Культивирование осуществляли в стандартных условиях согласно протоколам, принятым в производственной лаборатории предприятия.

Все три способа стерилизации растительных эксплантов на питательной среде Андерсена с аскорбиновой кислотой в сочетании с антибиотиками и без них на двух сортах клюквы крупноплодной показали хорошие результаты. Видимых признаков бактериального роста в течение всего периода культивирования не наблюдалось на всех вариантах питательных сред. Поражение грибковой инфекцией наблюдалось лишь в одной пробирке из трех повторностей сорта Стивенс при выращивании на среде Андерсена без антибиотика и стерилизация лизоформинном в течении 10 мин и хлорной известью – 15 мин.

Приживаемость эксплантов у клюквы сортов Мак Фарлин и Стивенс составила 100,0 % и 96,3 % соответственно, а процент видимой зараженности – 0,0 % и 3,7 %. Низкий процент видимого

заражения в контрольных группах – показатель подходящих схем стерилизации. В таком случае применение антибиотиков в питательных средах не является обязательным.

После первой недели культивирования черенки пустили из боковых почек по 1–2 ростка, к концу 4-й недели были перенесены на питательную среду Андерсена для регенерации. Коэффициент размножения у сорта Мак фарлин и Стивенс при первом пассаже составил 2,9 и 2,4 соответственно. При втором пассаже – 3,2 и 3,0.

Проявления инфекции не наблюдалось, что свидетельствовало об эффективности исследуемых стерелизующих агентов. Однако не следует исключать наличие скрытой инфекции в эксплантах после их обработки. Для доказательства отсутствия скрытой инфекции необходимо проведение дополнительных молекулярно-генетических исследований, благодаря которым можно будет с уверенностью говорить об эффективности и целесообразности использования антибиотиков аминогликозидной и цефалоспориновой группы.

Таким образом, при введении в культуру *in vitro* двух сортов клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpum* Mac Farlin и *Vaccinium macrocarpum* Stevens) стерелизующим эффектом обладали все используемые агенты. Отсутствие видимого роста микроорганизмов позволило сделать вывод о возможности применения питательных сред без добавления антибиотиков при используемых схемах стерилизации. Отмечено также, что приживаемость эксплантов у клюквы сорта Мак Фарлин составила 100,0 %, а сорта Стивенс – 96,3 %.

Список использованных источников

1. Курлович, Т. В. Продуктивность и морфологические особенности плодов сортовой клюквы крупноплодной / Т. В. Курлович // Вестник Нижегородского университета Н. И. Лобачевского. – 2014. – № 3(3). – С. 58–62.
2. Смирнов, А. Г. Исторический опыт и перспективы использования сырья клюквы (*Oxycoccus*) в медицине и фармации / А. Г. Смирнов, Н. В. Бирюкова. // *The scientific heritage*. – 2021. – № 66. – С. 14–18.
3. Копотева, Т. А. Результаты интродукции сортовой клюквы на юге российского дальнего востока / Т. А. Копотева, А. В. Великов. // Вестник КрасГАУ. – 2008. – № 5. – С. 118–125.
4. 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: обзоры, проблемы, итоги. – 2015. – № 1. – С. 3–15.