

УДК 634.8. 037: 581.143 6

**СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ
АНТИБИОТИКОВ
ГЕНТАМИЦИН И
ЦЕФОТАКСИМ ПРИ
КУЛЬТИВИРОВАНИИ
ВИНОГРАДА *IN VITRO***

Н. П. Дорошенко, Т. В. Жукова

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко»,
г. Новочеркасск, Россия,
e-mail: ruswine@yandex.ru

Аннотация. Приведены результаты применения в составе питательных сред комбинации антибиотиков гентамицин + цефотаксим. Лучшая регенерационная способность и улучшение показателей развития растений отмечены при минимальных концентрациях антибиотиков в комбинации ГМ 0,01+ЦФ 50,0мг/л.

Ключевые слова: бактериальная инфекция, химиотерапия, токсичность, гентамицин + цефотаксим, концентрации.

При клональном микроразмножении растений часто возникает опасность появления в них внутренних бактериальных инфекций. Контаминация быстро распространяется на неинфицированные культуры. Известно, что совместное культивирование в одном помещении контаминированных и свободных от микоплазм клеток уже через 1-2 пассажа приводит к инфицированию последних [1].

Бургутин А. Б. и др. при введении в культуру изолированных почек черешни и вишни отбирали клоны растений без визуальных признаков микробиологического «загрязнения». Первые три субкультивирования у полученных побегов не наблюдали контаминации. При дальнейшем культивировании для некоторых клонов наблюдали беловатую, либо желтоватую слизь в основании побегов на поверхности среды; в дальнейшем эта контаминация распространялась и в толще среды.

UDC 634.8. 037: 581.143 6

**COMBINED APPLICATION OF
ANTIBIOTICS GENTAMICIN
AND CEFOTAXIME FOR
CULTIVATION OF GRAPEVINE
*IN VITRO***

N.P. Doroshenko, T. V. Zhukova

All-Russian Research Ya.I.Potapenko
Institute for Viticulture and Winemaking,
Novocherkassk, Russia, e-mail:
ruswine@yandex.ru

Summary. Paper presents the results of application of antibiotics' combination gentamicin + tsefotaksim in the composition of nutrient media. The best regeneration ability and an improvement of indices of plant development are noted with the minimum concentrations of antibiotics in the combination GM of 0,01 +TsF of 50,0mg/l.

Keywords: bacterial infection, chemotherapy, toxicity, gentamicin + tsefotaksim, the concentration.

Постепенно все клоны оказались контаминированы и погибли; остались клоны, переведенные в почвенную культуру [2].

В таком случае проводят антибактериальную химиотерапию. Использование антибиотиков основано на их свойстве подавлять развитие патогенной микрофлоры. При выборе антибиотика необходимым условием является отсутствие токсичности. Проявления токсического действия антибиотиков очень разнообразны: задержка роста и развития растения, угнетение роста корней или надземных частей растения, нарушение процесса образования хлорофилла и др.

Рекомендуют проводить идентификацию бактериальных инфекций, что позволит выбрать наиболее эффективные антибиотики: широкого действия или комбинации специфических антибиотиков. Однако при этом следует учитывать, что некоторые сочетания антибиотиков могут быть химически несовместимы и нейтрализовывать действие друг друга [3].

Нами выявлено, что гентамицин оздоравливает растения от бактериальной инфекции, но угнетает ростовые процессы. Для цефотаксима характерно более мягкое воздействие на растения и даже наблюдается стимуляция морфогенеза.

В связи с этим была поставлена цель - исследовать совместное применение в составе питательных сред антибиотиков гентамицин и цефотаксим.

Таблица 1

Результаты совместного применения антибиотиков гентамицин и цефотаксим, сорт Баклановский, 2011 год

Варианты	Приживаемость, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт.	Скорость см/день	Кэф, полярности
		число, шт.	длина, см	ризог. зона, см				
34 дня культивирования								
ГМ 0,05	97,6	3,3	1,0	3,3	1,5	2,2	0,04	2,2
ЦФ 350	90,5	3,1	1,7	5,3	2,7	3,5	0,08	1,9
ГМ+ЦФ	100	2,4	0,8	1,9	1,4	2,7	0,04	1,4
57 дней культивирования								
ГМ 0,05	97,6	5,0	1,0	5,0	2,9	5,2	0,05	1,7
ЦФ 350	88,1	4,0	1,8	7,2	4,9	7,1	0,09	1,5

ГМ+ЦФ	97,6	3,4	1,2	4,1	2,3	4,6	0,04	1,8
86 дней культивирования								
ГМ 0,05	73,8	7,5	1,4	10,5	6,5	7,6	0,08	1,6
ЦФ 350	83,3	5,4	2,6	14,0	9,3	10,3	0,11	1,5
ГМ+ЦФ	73,8	5,7	1,7	9,7	4,8	7,6	0,06	2,0
148 дней культивирования								
ГМ 0,05	54,8	9,7	1,7	16,5	12,6	14,0	0,09	1,3
ЦФ 350	71,4	6,2	2,8	17,4	13,5	15,8	0,09	1,3
ГМ+ЦФ	47,6	9,2	1,9	17,5	11,4	14,7	0,08	1,5

В связи с этим внесли изменения в схему опыта (табл. 2). Для этого уменьшили концентрацию гентамицина до 0,01 мл/л. Это несколько изменило ситуацию.

Таблица 2

Снижение концентрации гентамицина при совместном применении с цефотаксимом, сорт Баклановский, 2011 год

Варианты	Приживаемость, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт.	Скорость см/день	Коэффициент полноты
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см				
38 дней культивирования								
ГМ 0,01	92,8	3,7	1,6	5,9	2,3	3,4	0,09	2,6
ЦФ 350	97,6	3,8	0,97	3,7	1,7	3,2	0,08	2,2
ГМ+ЦФ	97,6	3,5	0,9	3,4	1,3	2,6	0,06	2,6
70 дней культивирования								
ГМ 0,01	85,7	4,2	1,4	5,9	4,2	6,4	0,06	1,4
ЦФ 350	88,1	6,3	0,8	5,0	2,3	5,2	0,03	2,2
ГМ+ЦФ	61,9	4,7	0,9	4,2	1,8	4,0	0,06	2,3

В варианте с гентамицином параметры развития оказались лучше, чем в варианте с цефотаксимом. Однако при совместном применении антибиотиков растения оставались наиболее угнетенными.

Уменьшение концентраций цефотаксима до 50, 100, 150 и 200 мг/л (табл. 3) не дало желаемого результата. При применении цефотаксима отмечено некоторое улучшение корнеобразования по сравнению с применением одного гентамицина. Произошло увеличение ризогенной зоны наиболее значительное при 200 мг/л цефотаксима. Высота и облиственность растений были на одном уровне с применением гентамицина.

Такое положение отмечено у растений при культивировании их в течение месяца. При учете, проведенном через 66 дней культивирования,

положение в основном не изменилось. Во всех вариантах с цефотаксимом улучшилось образование корней и размер ризогенной зоны (табл. 3).

Таблица 3

Концентрации антибиотиков при совместном внесении, Кумшатский, 2012 год

Варианты	Приживаемость, %	Корни			Высота растений, см	Листьев, шт.
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см		
34 дня культивирования						
1. ГМ 0,01	96,4	5,1	1,2	6,4	2,1	4,3
2. ГМ 0,01+ЦФ 50,0 г/л	92,6	5,4	1,4	7,9	2,3	4,7
3. ГМ 0,01+ЦФ 100 мг/л	96,4	5,4	1,2	6,8	2,5	4,2
4. ГМ 0,01+ЦФ 150 мг/л	96,4	5,0	1,3	6,8	2,2	4,4
5. ГМ 0,01+ЦФ 200 мг/л	89,3	6,1	1,5	9,1	2,2	4,2
66 дней культивирования						
1. ГМ 0,01	96,4	6,9	1,2	4,0	7,4	7,4
2. ГМ 0,01+ЦФ 50,0 мг/л	92,6	6,9	1,4	9,6	7,6	7,6
3. ГМ 0,01+ЦФ 100 мг/л	92,6	6,4	1,5	9,6	7,3	7,3
4. ГМ 0,01+ЦФ 150 мг/л	82,1	6,0	1,8	10,8	7,4	7,4
5. ГМ 0,01+ЦФ 200 мг/л	75,0	6,7	2,0	13,4	7,1	7,1

Учитывая это и данные культивирования в течение 114 дней, следует отметить, что добавление цефотаксима несколько смягчает действие гентамицина и способствует улучшению ростовых процессов, особенно в концентрации 200 мг/л, но при этом снижается регенерационная способность растений. Лучшая регенерационная способность и улучшение показателей развития растений отмечены при минимальных концентрациях антибиотиков в комбинации ГМ 0,01+ЦФ 50,0 мг/л.

Таким образом, сочетание антибиотиков гентамицин и цефотаксим в составе питательных сред в концентрациях ГМ 0,01-0,05 + ЦФ 350 мг/л не уменьшает токсического влияния на ростовые процессы культивируемых растений. Применение антибиотиков в пониженных концентрациях несколько смягчает действие гентамицина. Лучшая регенерационная способность и улучшение показателей развития растений отмечены при

минимальных концентрациях антибиотиков в комбинации ГМ 0,01+ЦФ 50,0 мг/л.

Литература

1. Миллер, Г. Г. Контаменанты клеточных культур/ Г. Г. Миллер, И. В. Раковская, В. В. Неустроева, Н. В. Шалунова, Т. Д. Смирнова, С. Н. Борхсениус // Методы культивирования клеток. – Л.: Наука, 1987. – С 104-126.

2. Баргутин, А. Б. Определение видовой принадлежности бактерий контаминирующих культуру древесных растений *in vitro*/ А. Б. Баргутин, Н. В. Феоктистов, Н. В. Пунина, А. Н. Игнатов, В. С. Зотов, К. П. Корнев, Е. В. Матвеева // Тезисы IX Междунар. конф.: Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология. Звенигород, 2008. – С. 60.

3. Falkiner F. R. Antibiotics and Antibiotic Resistance Associated Witch Plants, Fruits and Vegetables.// Proc. Int. Symp. on Merth. and Marks. for Qual. Assur. in Micropropagation Eds. A. C. Cassels, B. M. Doyle, R. F. Curry. Acta Hort. 2000. V. 530. P. 83-91.