

Таким образом, улучшение газообмена, своевременная пересадка и подбор оптимальных концентраций компонентов культуральной среды для каждого конкретного вида растения позволит снизить степень появления признаков гиперпроводности у микроразмножаемых растений, поскольку при оптимальных условиях культивации явление витрификации исключено.

#### **PROBLEM OF VITRIFICATION IN MICROPROPAGATION**

**Yablonskaya M.I., Knishkaite A.V., Romanova E.V.**

##### **Summary**

In vitro clonal micropropagation of both woody and herbaceous plants often leads to the problem of vitrification or hyperhydric transformation. Based on various researches, it is likely that hyperhydricity in shoot cultures of plants could be prevented by sufficient gas exchange during culture, addition of proper concentrations of growth regulators and optimal constitute of culture media.

#### **ПРОБЛЕМА ОКИСЛЕНИЯ ФЕНОЛОВ ПРИ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ**

**Яблонская М.И., Книшкайте А.В., Романова Е.В.**

*Российский университет дружбы народов, Москва, Россия*

Фенольные соединения довольно часто встречаются в растительном мире и относятся к самой многочисленной группе вторичных метаболитов растений. Фенолы представляют собой соединения с одним бензольным кольцом и одной или несколькими гидроксильными группами. На данный момент изучено более 8 тысяч фенольных соединений, начиная от простых фенолосоединений и заканчивая высокомолекулярными танинами.

Клональное микроразмножение плодовых культур позволяет за короткое время получить большое количество генетически однородного посадочного материала. Но на процессы органогенеза негативно влияют присутствующие при культивировании ингибирующие вещества. Для большинства древесных и некоторых травянистых растений окисление фенольных соединений является серьезной проблемой в культуре *invitro*, особенно при размножении древесных тропических культур, так как в их тканях содержится высокая концентрация фенольных веществ.

Например, кофе отличается высоким содержанием фенолов, и при нарушении целостности его тканей эти соединения окисляются. В процессе окисления принимают участие медьсодержащие ферменты – дифенолоксидазы и тирозиназы, которые и вызывают изменение цвета питательной среды. В случае с тропическими и субтропическими древесными растениями потемнение культуральной среды можно наблюдать уже через час – два после высадки эксплантов (Ahmadetal, 2013). Окисление танинов и полифенолов приводит к образованию хинонов, которые, являясь токсичными для растений, вызывают потемнение их тканей.

Содержание фенолов в тканях растения зависит от физиологического возраста самого растения, размера экспланта, а также от комплекса биотических и абиотических факторов. Как правило, чем старше материнское растение, тем больше фенольных соединений выделяет эксплант и, тем самым, вызывает более сильное изменение цвета культуральной среды (Marquesetal, 1995; Laukkaren, 1997; Ozyigit, 2008).

Были изучены различные пути решения данной проблемы. Предварительная обработка эксплантов антиоксидантами, добавление антиоксидантов в среду, культивирование в темноте, пересадка эксплантов на свежие среды, – все эти приемы имели частичный успех.

Использование аскорбиновой кислоты и гексорезорцинола дало положительные результаты при микроразмножении груши (Ariasetal., 2007). Размножение побегов розы на среде MS с добавлением 3 мг/л БАП, 3 мг/л ИУК и 5 мг/л активированного древесного угля значительно затормозило процесс окисления фенолов и привело к более раннему началу пролиферации, увеличению длины побегов и количества листьев на каждом из побегов (Javedetal., 2003). Использование в качестве компонента среды активированного древесного угля также дало хороший результат при размножении орхидей (Yametal., 1990). Значительно сокращает выделение фенолов поливинилпирролидон. Однако внесение аскорбиновой и лимонной кислот, активированного древесного угля и поливинилпирролидона не оказывали нужного эффекта при размножении *invitro* сосны (Hostola, 1988).

Пересадка эксплантов на свежую среду через короткие промежутки времени считается самым успешным методом в борьбе с негативным воздействием окисленных фенолов (Kotomari и Murashige, 1965; Morel, 1972), однако он достаточно трудоемок.

Культивирование эксплантов в течение нескольких дней в темноте или при пониженной освещенности также частично помогает решить проблему, поскольку при отсутствии света снижается активность ферментов, отвечающих за синтез и окисление фенолов (George и Sherrington, 1984). Например, при размножении земляники апикальные меристемы побегов выдерживали при низкой освещенности (500 люкс) на безгормональной среде до развития микропобегов, в результате чего выживаемость после первого этапа размножения *invitro* по трем сортам составила 89 – 100 % (Bhatt и Dhar, 2000). В другом исследовании гибель побегов *Annonasquamosa* в результате окисления фенольных соединений сократилась со 100 до 48 % при размножении на среде MS с 12-часовым фотопериодом при освещенности 1000-1500 люкс (ZhenXia и YuZhong, 2009).

По данным (Titovetal., 2006) выделение фенольных веществ было остановлено в результате окунания побегов банана в 0,125 % раствор цитрата калия перед высадкой на питательную среду. Очень хорошие результаты были получены при предпосадочном выдерживании эксплантов *Proteacynaroides* в течение 1 часа в растворе антиоксидантов, содержащем 100 мг/л аскорбиновой кислоты и 150 мг/л лимонной кислоты (Wu и duToit, 2004).

Другие данные свидетельствуют о том, что большая выживаемость эксплантов груши на этапе инициации наблюдалась в весенний (77,88 %) и зимний (76,21%) периоды (Anirudh и Kanvar, 2008), что может быть вызвано более низким содержанием фенолов в маточных растениях в это время. Кроме того, экспланты хризантемы, взятые с маточных побегов с мая по август, вызвали сильное изменение цвета культуральной среды, в то время как экспланты, полученные с декабря по март, вызвали относительно небольшое потемнение (Prasad и Chaturvedi, 1988).

Фенольные соединения, являясь вторичными метаболитами в растениях, образуются в ответ на стресс, вызванный биотическими или абиотическими факторами. Таким образом, они участвуют в защитном механизме растительного организма. Но в культуре *invitro* при окислении фенолов затрудняется поступление питательных веществ к эксплантам, что может вызвать их гибель. Опираясь на результаты многочисленных исследований, решить проблему можно, подобрав оптимальные компоненты культуральной среды и условия культивирования для каждого конкретного вида размножаемого растения.

## OVERCOMING OXIDATION OF PHENOLIC COMPOUNDS *IN VITRO*

Yablonskaya M.I., Knishkaite A.V., Romanova E.V.

### Summary

The high mortality rate of explants caused by the detrimental phenolic browning is one of the difficulties during *in vitro* plant establishment. It might be minimized by use of different absorbents and antioxidants.