

УДК 577.13 : 57.085.23

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И СИНТЕЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АСКОРБАТА МИКРОРАСТЕНИЯМИ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ С РАЗНЫМ МИНЕРАЛЬНЫМ, УГЛЕВОДНЫМ И ГОРМОНАЛЬНЫМ СОСТАВОМ

© 2014 г. *Е.В. Березина, Ю.С. Носкова, М.Н. Агеева, А.А. Брилкина, А.П. Веселов*

Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

berezina.kat@gmail.com

Поступила в редакцию 03.03.2014

Исследована морфология стерильных растений клюквы крупноплодной и способность накапливать фенолы и аскорбат в зависимости от состава среды. Наибольшее количество фенолов содержалось в растениях на среде Андерсона с сахарозой, катехинов – WPM с сахарозой, аскорбата – Андерсона с фруктозой. Растения на гормональных средах накапливают почти вдвое меньше фенолов, чем на безгормональной среде.

Ключевые слова: *Oxycoccus macrocarpus*, клюква крупноплодная, *in vitro*, фенолы, катехины, аскорбат.

Введение

Представители семейства Вересковые (*Ericaceae* Juss.) – ценные в пищевом, фармацевтическом и декоративном отношении растения. Вместе с тем это трудноразмножаемые вегетативным способом культуры, поэтому использование метода клонального микроразмножения может служить цели получения здорового посадочного материала в большом количестве при возможности проведения работ круглый год и экономии площадей для выращивания [1]. Различными авторами исследовались особенности клонального микроразмножения у таких представителей семейства, как клюква крупноплодная [2–4], брусника [5], голубика [6], рододендроны [7, 8].

Немалый интерес представляет полифенольный комплекс вересковых, который в настоящее время в основном изучается зарубежными коллективами у ягод голубики щитковой [9] и клюквы крупноплодной [10]. Внимание исследователей привлекает также содержание витамина С в ягодах растений этого семейства [11]. Подробное исследование фенольного метаболизма различных видов рододендрона как *in vivo*, так и *in vitro* проведено В.М. Костиной [7]. Вместе с тем, влияние компонентов питательной среды на синтез вторичных метаболитов, в частности фенолов и аскорбата, в стерильных микрорастениях остается малоизученным.

Известно, что не только разные виды, но даже разные сорта предъявляют различные требо-

вания к условиям выращивания *in vitro* [12]. Поэтому подбор питательных сред является важным этапом в биотехнологических работах, особенно в случае решения задачи получения сверхпродукции интересующих метаболитов. Стимулировать или тормозить биосинтез вторичных метаболитов, а также влиять на рост и морфологию культур могут минеральные и углеводные компоненты питательных сред, гормоны [13], антиоксиданты и другие вещества, не входящие в состав базовых сред. При этом подход к подбору среды для каждой конкретной культуры остается эмпирическим [14].

Цель нашего исследования – выявление влияния минеральных, углеводных и фитогормональных компонентов питательной среды на морфологию и синтез фенольных соединений и аскорбиновой кислоты микрорастениями клюквы крупноплодной.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили стерильные микрорастения клюквы крупноплодной (*Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers.; сорт Стивенс), которые были введены в культуру *in vitro* с помощью пазушных почек [2]. Выбранный сорт – самый популярный в США [4]; культивируется он также в европейских странах и России [15].

При исследовании влияния минерального и углеводного компонентов питательной среды на морфологические и биосинтетические характеристики растения выращивали на средах WPM

и Андерсона, содержащих 30 г/л сахарозы или глюкозы, или фруктозы. Базовые питательные среды WPM и Андерсона отличаются по составу [16]: содержание многих солей (нитрата аммония, сульфата калия и др.) в среде Андерсона ниже, чем в среде WPM. Содержание дигидрофосфата калия примерно одинаково. Еще одно отличие – в состав среды Андерсона входит аденинсульфат – предшественник биосинтеза цитокининов. pH всех вариантов питательной среды до автоклавирования – 5.0.

При исследовании влияния фитогормонов использовали питательную среду Андерсона с сахарозой, дополненную одновременно ауксинами и цитокининами (в концентрациях 0.5/2 и 4/15 мг/л). Концентрация экзогенных гормональных регуляторов роста 0.5/2 мг/л была использована ранее в работе [2], а 4/15 – в [17]. В качестве ауксинов использовали индолилуксусную (ИУК) и индолилмасляную (ИМК) кислоты, цитокининов – кинетин (Кин) и бензиламинопуридин (БАП).

Во всех экспериментах длительность культивирования составляла два месяца при температуре 22–26°C, освещение 3000 лк, продолжительность освещения 16 ч/сут. Эксплантами являлись черенки клюквы крупноплодной с 2–3 листьями, которые высаживали по 20 штук в колбы Эрленмейера на 300 мл (объем питательной среды – 40 мл).

Количественное определение фенольных соединений проводили в 80%-ных этанольных экстрактах спектрофотометрическим методом (UV-1700, Shimadzu). Содержание суммы растворимых фенольных соединений (СРФС) определяли с помощью реактива Фолина–Дениса в пересчете на рутин; катехинов – с помощью ванилинового реактива в пересчете на катехин [18]. Анализ содержания аскорбата проводили согласно методике, описанной В.В. Полевым и С.М. Щипаревым [19], фотосинтетических пигментов – В.Ф. Гавриленко и Т.В. Жигаловой [20].

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами параметрической статистики [21]. На графиках представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки (два опыта, каждый из которых проведен в трехкратной биохимической повторности). Достоверность значений определяли, используя коэффициент Стьюдента с поправкой Бонферрони (статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$).

Результаты и их обсуждение

На процесс микроклонального размножения *in vitro* большое влияние оказывают как внутренние (генотип экспланта, физиологические особенности), так и внешние (физические условия культивирования, состав питательной среды) факторы. Важную роль в индукции деления клеток экспланта, морфогенезе играют минеральный состав среды, источник углеродного питания, регуляторы роста и экологические факторы [22]. Для выяснения влияния минерального и углеводного компонентов среды на морфологию и способность накапливать вторичные метаболиты растения клюквы крупноплодной сорта Стивенс культивировали на следующих вариантах питательных сред: WPM+глюкоза, WPM+фруктоза, WPM+сахароза, Андерсон+глюкоза, Андерсон+фруктоза, Андерсон+сахароза.

Клюква, выращенная на средах WPM и Андерсона с добавлением сахарозы, отличалась более крупными размерами: средняя длина побега – 2.6 и 4.9 см, максимальная – 7.2 и 9.2 см соответственно; только в случае WPM+сахароза растения были мелколистными (таблица). Самыми маленькими размерами обладали растения на среде Андерсон+глюкоза – 1 см, к тому же они характеризовались короткими междоузлиями и мелколистностью.

Таким образом, растения хорошо росли на средах с сахарозой (особенно на питательной среде Андерсона), быстро наращивали вегетативную массу в культуральных сосудах и характеризовались высокой жизнеспособностью при пересадке в грунт. Сахароза используется во многих исследованиях, т.к. легко транспортируется и не подвергается ферментативному расщеплению [5]. В частности, S.C. Debnath [5] при микроразмножении брусники указывает на предпочтительное использование сахарозы (20 г/л) наряду с глюкозой (10 г/л). На сахарозе и глюкозе также отмечается лучший рост клеточных культур [23]. Однако, согласно результатам наших исследований, глюкоза, равно как и фруктоза, не может являться предпочтительным углеводом при клональном микроразмножении клюквы крупноплодной.

Минеральный состав питательной среды Андерсона, на которой лучше развивались объекты исследования, сбалансирован в соответствии с требованиями представителей семейства Вересковые [16]. Весьма характерным свойством этих растений является их способность произрастать в неблагоприятных условиях, на кислых и бедных (особенно по азоту) почвах [24]. В этой связи питательная среда Андерсона, уступающая WPM по концентрации многих компонентов (в том числе азотсодержащих веществ), оказалась более выгодной для

клонального микроразмножения клюквы крупноплодной, хотя в некоторых работах [4] пред-

суде Андерсон+сахароза, был минимальным, тогда как на средах Андерсон+фруктоза, Ан-

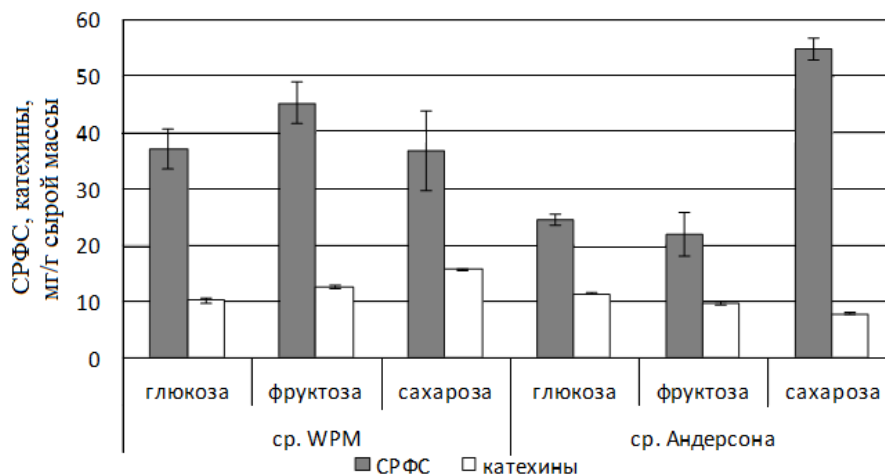


Рис. 1. Содержание суммы растворимых фенольных соединений и катехинов в листьях пробирочных растений клюквы крупноплодной сорта Стивенс при выращивании их на средах разного минерального и углеводного состава

лагается выращивать ее также на среде WPM.

Реакция микрорастений на состав питательной среды проявилась и в способности накапливать вторичные метаболиты фенольной природы. Содержание суммы растворимых фенольных соединений в растениях на среде Андерсона с сахарозой было высоким – 55 мг/г сырой массы, однако статистически значимых различий со всеми вариантами среды WPM не обнаружено ($p < 0.05$) (рис. 1). В растениях на средах Андерсона с глюкозой и фруктозой фенолов синтезировалось в 2–2.5 раза меньше, чем на среде Андерсона с сахарозой.

Самым многочисленным классом фенольных соединений являются флавоноиды, к которым относятся катехины. Согласно Ж.А. Рупасовой и др. [25], доминирующее положение в структуре флавоноидного комплекса интактных растений клюквы крупноплодной на протяжении большей части вегетационного периода принадлежит именно катехинам.

По количеству катехинов вариант Андерсон+сахароза (8 мг/г сырой массы) уступал остальным вариантам культивирования в 1.2–2 раза; максимум в содержании этих полифенольных соединений был отмечен в варианте WPM+сахароза. Возрастание содержания катехинов в микрорастениях наблюдалось в ряду глюкоза – фруктоза – сахароза в случае культивирования на среде WPM; обратная закономерность выявлена в случае культивирования на среде Андерсона. Интересно отметить, что вклад катехиновых соединений в полифенольный комплекс стерильных микрорастений сортовой клюквы крупноплодной, выращенных на

дерсон+глюкоза и WPM+сахароза – самым высоким среди рассматриваемых вариантов. Очевидно органические и минеральные компоненты питательной среды оказывают сочетанное действие на накопление растениями определенных фенольных соединений.

По способности накапливать аскорбиновую кислоту растения варианта Андерсон+сахароза (0.09 мг/г сырой массы) уступали прочим вариантам в 2.5–5.2 раза и в 31 раз – варианту Андерсон+фруктоза (рис. 2). Заметим, что при малом содержании аскорбата растения, выращенные на среде Андерсон+сахароза, характеризуются высоким содержанием фенольных антиоксидантов, тогда как для растений, выращенных на среде Андерсон+фруктоза, картина обратная. Это свидетельствует о разных стратегиях метаболизма микрорастений, направленных на поддержание антиоксидантного статуса в условиях различного углеводного питания. Тем не менее, указанные углеводы могут непосредственно включаться в реакции биосинтеза аскорбиновой кислоты, способствуя ее накоплению. Считается, что наиболее вероятными предшественниками аскорбата выступают галактоза и глюкоза, однако данный вопрос остается дискуссионным [26].

В литературе имеются данные о том, что высокий уровень синтеза вторичных метаболитов свойствен клеточным культурам на сахарозе, а на средах с глюкозой он часто сильно ослаблен [23]. В нашем случае такая закономерность отмечена для СРФС при культивировании на среде Андерсона и катехинов при культивировании на среде WPM.

В.М. Костиной [7] показано, что другие

представители семейства Вересковые – рододендроны Смирнова, Ледебура и японский, полученные на среде Андерсона, – синтезировали от 10 до 60 мг/г сырой массы фенолов (в эквивалентах эпикатехина). В нашем исследовании

культуре *in vitro* исследовано влияние таких веществ, как индолилмасляная [3], нафтилуксусная кислоты, тидиазурон, изопентениладенин [4]. В нашей работе для исследования влияния на морфологию и способность к синтезу полифенолов

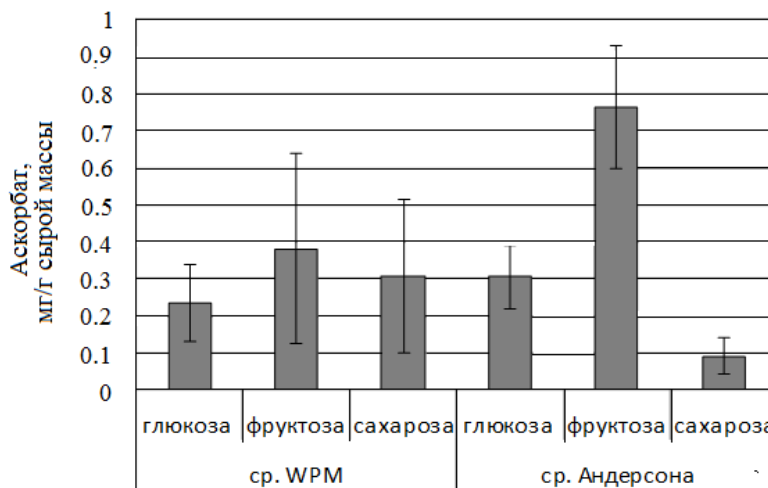


Рис. 2. Содержание аскорбата в листьях пробирочных растений клюквы крупноплодной сорта Стивенс при выращивании их на средах разного минерального и углеводного состава

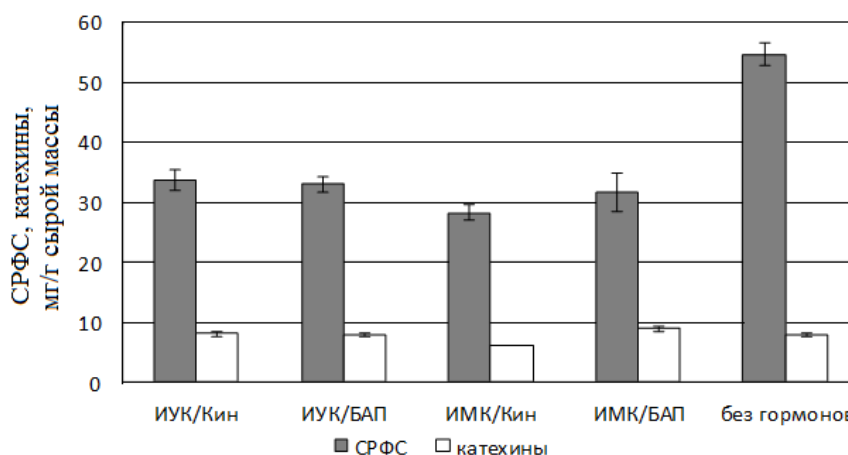


Рис. 3. Содержание суммы растворимых фенольных соединений и катехинов в листьях пробирочных растений клюквы крупноплодной сорта Стивенс при выращивании их на средах разного гормонального состава

во всех рассмотренных случаях микрорастения клюквы крупноплодной сорта Стивенс накапливали СРФС от 22 до 55 мг/г сырой массы (в эквивалентах рутина). Кроме того, при культивировании данного сорта клюквы крупноплодной на среде Андерсона с сахарозой содержание СРФС (мг/г сырой массы) в листьях (55) достоверно выше, чем у другого сорта – Ранний черный, выращенного в тех же условиях (44), а содержание катехинов приблизительно одинаково [27].

Еще одним фактором, влияющим на морфологические и биосинтетические характеристики микрорастений, является гормональный состав питательной среды. Согласно данным литературы, по регенерации клюквы крупноплодной в

мы использовали индолилуксусную и индолилмасляную кислоты, кинетин, бензиламинопури, которые добавляли в питательную среду Андерсона с сахарозой.

Присутствие в питательной среде фитогормонов приводило к образованию ярко-зеленой каллусной ткани у основания экспланта. На среде с ИУК/БАП (0.5/2 и 4/15) побеги образовывались из каллусов, в случае с остальными вариантами – из пазушных почек эксплантов.

Известно, что в нативных, естественных условиях активация пазушных меристем регулируется степенью апикального доминирования, которое контролируется, в частности, факторами фитогормонального характера [16].

Ауксины и цитокинины в соотношении 4/15 практически не имели активирующего влияния на пазушные почки эксплантов клюквы; на этих средах длина побегов не превышала 1 см, корни

массы). Следовательно, такое сочетание гормонов оказывает наиболее выраженное ингибирующее действие на синтез вторичных метаболитов катехиновой природы.

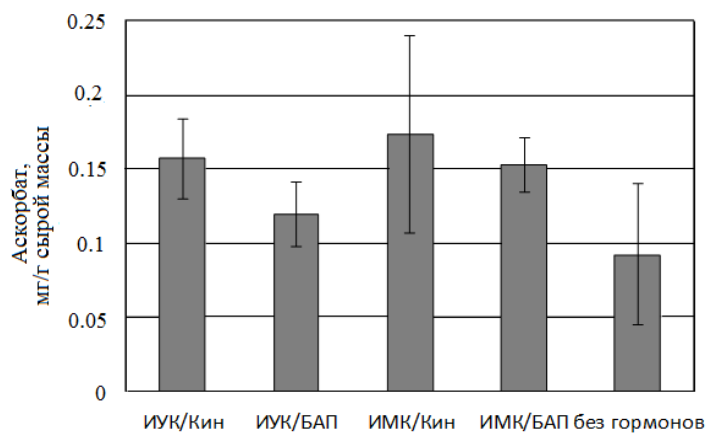


Рис. 4. Содержание аскорбата в листьях пробирочных растений клюквы крупноплодной сорта Стивенс при выращивании их на средах разного минерального и углеводного состава

Таблица

Длина растений-регенерантов на средах разного минерального и углеводного состава

Среда	Углевод	Средняя длина побега, см	Максимальная длина побега, см	Примечание
WPM	Глюкоза	2.0±0.1	4.7	–
	Фруктоза	2.6±0.1	4.8	–
	Сахароза	2.6±0.2	7.2	Мелколистность
Андерсона	Глюкоза	1.0±0.1	3.1	Мелколистность, короткие междоузлия
	Фруктоза	2.6±0.2	4.7	Короткие междоузлия
	Сахароза	4.9±0.4	9.2	–

не образовывались.

При соотношении фитогормонов 0.5/2 в зависимости от гормонального состава средняя длина побегов составляла 5–9 см. Гормональные эффекторы оказывали на габитус растений определенное влияние. В частности, присутствие в среде ИУК и ИМК стимулировало образование толстых меланизированных корней, и образующиеся побеги зачастую характеризовались мелколистностью. На средах с БАП, как правило, междоузлия были удлиненные, а на средах с Кин – наоборот. При этом сочетание ИУК/Кин в наименьшей степени влияло на морфологию микрорастений; сочетание ИМК/БАП имело мультиплицирующий эффект.

При выращивании растений на гормональных средах отмечено почти двукратное снижение содержания СРФС по сравнению с таковым у растений, выращенных на безгормональной среде: 28–34 и 55 мг/г сырой массы соответственно (рис. 3). Природа гормонов в этом снижении существенного значения не имела.

Количество катехинов у микрорастений на среде с ИМК/Кин (6 мг/г сырой массы) достоверно ниже, чем на других гормональных средах и на среде без гормонов (8–9 мг/г сырой

Стоит отметить, что снижение содержания полифенолов, многие из которых являются ингибиторами роста, наряду с наличием в питательной среде гормонов, способствующих росту и делению клеток, сказалось на увеличении средней длины побегов стерильных растений, выращенных на гормональных средах, по сравнению с безгормональной средой.

По количеству (мг/г сырой массы) аскорбиновой кислоты исследуемые варианты культивирования не отличались: на гормональных средах – 0.12–0.16, на среде без гормонов – 0.09 (рис. 4). Очевидно экзогенные фитогормоны оказывают меньшее влияние на накопление аскорбата, чем источник органического углерода в сочетании с минеральными компонентами питательной среды.

При оценке адаптивных возможностей растений к внешним условиям важное значение имеет изучение пластичности фотосинтетического аппарата [28]. В нашей работе в случае характеристики фотосинтетических пигментов во всех вариантах культивирования статистически значимых различий не выявлено. Содержание хлорофилла *a* составило 0.7–0.9, хлорофилла *b* – 0.3–0.6, каротиноидов – 0.5–0.6 мг/г сы-

рой массы. Наиболее стабильным показателем было соотношение каротиноиды/сумма хлорофиллов – 0.45–0.50, тогда как диапазон значений соотношения хлорофиллов *a/b* широкий – 1.6–2.8. Последнее соотношение в норме должно соответствовать 2.2–3.0 [28]. Для вариантов с глюкозой и с ИУК обнаружена тенденция к теневыносливости в связи с повышенным содержанием хлорофилла *b* и малым значением соотношения хлорофиллов *a/b*. На большую теневыносливость стерильных растений (по сравнению с интактными) указывали также С.Ю. Тищенко и Р.А. Карначук [29] при работе с сенполией.

Пониженное содержание вторичных метаболитов в растениях, выросших на средах с гормонами, объясняется, возможно, влиянием регуляторов роста на ферменты синтеза фенольных соединений, форсированием синтеза веществ первичного происхождения для обеспечения корне- (эффект ауксинов) и побегообразования (эффект цитокининов). Вероятно некоторую роль здесь играет и изменение соотношения хлорофиллов *a/b*.

Заключение

Проведенное комплексное исследование выявило некоторые особенности культуры клюквы крупноплодной *in vitro*. Так, среди испытанных сред различного минерального и углеводного состава стерильные растения достигали наибольшей длины на среде Андерсон+сахароза. Кроме того, эти растения характеризовались высоким содержанием СРФС. В отличие от данного варианта культивирования, наличие в среде Андерсона глюкозы или фруктозы приводило к снижению содержания СРФС в 2–2.5 раза. Что касается катехинов и аскорбиновой кислоты, то больше всего их накапливалось на средах WPM+сахароза и Андерсон+фруктоза; на среде Андерсон+сахароза их количество было наименьшим.

В ходе исследования некоторых морфологических и биохимических особенностей стерильных культур было также показано, что внесением фитогормонов в концентрации 0.5/2 можно, в первую очередь, добиться образования более мощной корневой системы, а также большей длины побегов. Однако при этом было отмечено снижение содержания суммы фенолов, а на среде с ИМК/Кин – еще и катехинов. Невысокие биосинтетические характеристики таких растений (по сравнению с теми, которые были получены на безгормональной среде) и, что особенно важно, образование побегов через стадию каллуса требуют осторожности в широком исполь-

зовании фитогормонов для размножения сортовых растений.

Полученные результаты важны для проведения целенаправленных работ по созданию коллекции культур тканей и клеток клюквы, характеризующихся стабильным ростом и высоким уровнем синтеза вторичных метаболитов, при сохранении естественных популяций и, одновременно, более широкой интродукции данного высокопродуктивного вида.

Работа поддержана грантом (соглашение от 27 августа 2013 г. № 02.В.49.21.0003 между Министерством образования и науки РФ и ННГУ).

Список литературы

1. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Дегтярев С.В. и др. Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник / Под ред. В.С. Шевелухи. М.: Высшая школа, 1998. 416 с.
2. Брилкина А.А., Лобов В.П., Давыдов И.В., Мальшева О.В. Получение культуры *in vitro* растений клюквы крупноплодной и болотной // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология. 2006. Вып. 1. С. 88–90.
3. Debnath S.C., McRae K.B. An efficient *in vitro* shoot propagation of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) by axillary bud proliferation // Plant. Cell. Tiss. Organ. Cult. 2008. V. 93. P. 231–240.
4. Polashock J.J., Vorsa N. Cranberry transformation and regeneration // In: Transgenic plants and crops. NY: Marcel Dekker Inc, 2002. P. 383–396.
5. Debnath S.C. Effects of carbon source and concentration on development of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) shoots cultivated *in vitro* from nodal explants // In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant. 2005. V. 41. P. 145–150.
6. Ondrušková E., Laimer M. Biotechnology of *Vaccinium* species for the conservation and utilization of valuable genetic resources // Abstracts of COST863 Management committee meeting, Oeiras, 2009. P. 8.
7. Костина В.М. Особенности фенольного метаболизма растений рода *Rhododendron* L. *in vivo* и *in vitro*. Автореферат дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т физиологии им. К.А. Тимирязева РАН, 2009. 22 с.
8. Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение рододендронов и их практическое использование. Минск: Беларус. навука, 2009. 188 с.
9. Dragović-Uzelac V., Savić Z., Brala A., Levaj B., Kovačević D.B., Bičko A. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the Northwest Croatia // Food Technol. Biotechnol. 2010. V. 48. № 2. P. 214–221.
10. He X., Liu R.H. Cranberry phytochemicals: isolation, structure elucidation and their antiproliferative and antioxidant activities // J. Agric. Food Chem. 2006. V. 54. № 19. P. 7069–7064.
11. Тяк Г.В., Черкасов А.Ф., Алтухова С.А. Результаты интродукции брусники в Костромской области // В сб.: Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. М.: Изд-во РАЕН, 2002. Вып. 6. С. 58–60.

12. Ostrolucká M.G., Gajdošová A., Ondrušková E., Latečková M., Libiaková G. Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. cultivars // Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica. 2010. V. 52. № 2. P. 92–96.
13. Сапко О.А., Мухамеджанов Б.Г., Кунаева Р.М. Образование фенольных соединений в культуре ткани верблюжьей колючки // Физиология растений. 1992. Т. 39. Вып. 5. С. 1197–1207.
14. Величко Н.А. Научные основы индуцированного синтеза алкалоидов в клеточной культуре *Catharanthus roseus* L. (Don). Автореферат дис. ... д-ра техн. наук. Красноярск: Сибирский госуд. технологич. ун-т, 2004. 44 с.
15. Курлович Т.В. Брусника, голубика, клюква, черника. М.: Издательский Дом МСП, 2005. 128 с.
16. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992. 232 с.
17. Сидорович Е.А., Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений. Минск.: Навука і тэхніка, 1996. 246 с.
18. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // В кн.: Биохимические методы в физиологии растений / Под. ред. О.А. Павлиновой. М.: Наука, 1971. С. 185–197.
19. Полевой В.В., Щипарев С.М. Практикум по биохимии растений. СПб.: Изд-во С.-Петербургского университета, 1996. 200 с.
20. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу: Учеб. пособие для студ. вузов / Под. ред. И.П. Ермакова. М.: Издательский центр «Академия», 2003. 256 с.
21. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с.
22. Мокшин Е.В. Морфо-физиологические особенности клонального микроразмножения *in vitro* различных сортов лилий (*Lilium* L.) и гладиолусов (*Gladiolus* L.). Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород, 2005. 20 с.
23. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. М.: Наука, 1991. 280 с.
24. Жизнь растений. В 6-ти т. / Гл. ред. Ал.А. Федоров. Т. 5. Ч. 2. Цветковые растения / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1980. 576 с.
25. Рупасова Ж.А., Игнатенко В.А., Русаленко В.Г., Рудаковская Р.Н. Развитие и метаболизм клюквы крупноплодной в Белорусском Полесье. Минск: Наука и техника, 1989. 205 с.
26. Чупахина Г.М. Система аскорбиновой кислоты растений: Монография. Калининград: Изд-во Калинингр. ун-та, 1997. 120 с.
27. Березина Е.В., Брилкина А.А. Содержание фенольных соединений у *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. (сорт «Ранний черный») в условиях *in vivo* и *in vitro* // Известия УНЦ РАН. 2013. № 3. С. 91–94.
28. Кислицина М.Н. Исследование фотосинтетического аппарата водных растений в условиях загрязнения // Известия УНЦ РАН. 2013. № 3. С. 34–36.
29. Тищенко С.Ю., Карначук Р.А. Рост и фотосинтетический аппарат сенполии (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl), полученной размножением *in vitro* и *in vivo* // Тез. докл. VII Междунар. конф. «Биология клеток растений *in vitro*, биотехнология и сохранение генофонда», Москва, 1997. С. 469–470.
4. Polashock J.J., Vorsa N. Cranberry transformation and regeneration // In: Transgenic plants and crops. NY: Marcel Dekker Inc, 2002. P. 383–396.
5. Debnath S.C. Effects of carbon source and concen-

References

AMERICAN CRANBERRY MORPHOLOGICAL PECULIARITIES AND PHENOLIC AND ASCORBATE SYNTHESIS WHILE CULTURING ON NUTRITIONAL MEDIA WITH DIFFERENT MINERAL, CARBOHYDRATE AND HORMONE COMPOSITION

E.V. Berezina, Yu.S. Noskova, M.N. Ageeva, A.A. Brilkina, A.P. Veselov

Morphology and phenolic accumulation ability of American cranberry sterile plants are studied as dependent on medium composition. The highest amount of phenolics is observed in plants culturing on Anderson's medium with sucrose, catechins–WPM with sucrose, ascorbate–Anderson's medium with fructose. Plants culturing on hormonal media accumulate phenolics nearly two-fold less than on hormoneless media.

Keywords: *Oxycoccus macrocarpus*, American cranberry, *in vitro*, phenolics (phenols), catechins, ascorbate.

Uchebник / Pod red. V.S. Sheveluhi. M.: Vysshaya shkola, 1998. 416 s.

2. Brillkina A.A., Lobov V.P., Davydov I.V., Malysheva O.V. Poluchenie kul'tury *in vitro* rastenij klyukvy krupnoplodnoj i bolotnoj // Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo. Seriya Biologiya. 2006. Vyp. 1. S. 88–90.

3. Debnath S.C., McRae K.B. An efficient *in vitro* shoot propagation of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) by axillary bud proliferation // Plant. Cell. Tiss. Organ. Cult. 2008. V. 93. P. 231–240.

tration on development of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) shoots cultivated *in vitro* from nodal explants // In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant. 2005. V. 41. P. 145–150.

6. Ondrušková E., Laimer M. Biotechnology of *Vaccinium* species for the conservation and utilization of valuable genetic resources // Abstracts of COST863 Management committee meeting, Oeiras, 2009. P. 8.

7. Kostina V.M. Osobennosti fenol'nogo metabolizma rastenij roda *Rhododendron* L. *in vivo* i *in vitro*.

- Avtoreferat dis. ... kand. biol. nauk. M.: In-t fiziologii im. K. A. Timiryazeva RAN, 2009. 22 s.
8. Kutas E.N. Klonal'noe mikrorazmnozhenie rododendronov i ih prakticheskoe ispol'zovanie. Minsk: Belarusskaya nauka, 2009. 188 s.
9. Dragović-Uzelac V., Savić Z., Brala A., Levaj B., Kovačević D.B., Bičko A. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the Northwest Croatia // Food Technol. Biotechnol. 2010. V. 48. № 2. P. 214–221.
10. He X., Liu R.H. Cranberry phytochemicals: isolation, structure elucidation and their antiproliferative and antioxidant activities // J. Agric. Food Chem. 2006. V. 54. № 19. P. 7069–7064.
11. Tyak G.V., Cherkasov A.F., Altuhova S.A. Rezultaty introdukcii brusniki v Kostromskoj oblasti // V sb.: Netradicionnye prirodnye resursy, innovacionnye tekhnologii i produkty. M.: Izd-vo RAEN, 2002. Vyp. 6. S. 58–60.
12. Ostrolucká M.G., Gajdošová A., Ondrušková E., Latečková M., Libiaková G. Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. cultivars // Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica. 2010. V. 52. № 2. P. 92–96.
13. Sapko O.A., Muhamedzhanov B.G., Kunaeva R.M. Obrazovanie fenol'nyh soedinenij v kul'ture tkani verblyuzh'ej kolyuchki // Fiziologiya rastenij. 1992. T. 39. Vyp. 5. S. 1197–1207.
14. Velichko N.A. Nauchnye osnovy inducirovannogo sinteza alkaloidov v kletochnoj kul'ture *Catharanthus roseus* L. (Don). Avtoreferat dis. ... d-ra tekhn. nauk. Krasnoyarsk: Sibirskij gosud. tekhnologich. un-t, 2004. 44 s.
15. Kurlovich T.V. Brusnika, golubika, klyukva, chernika. M.: Izdatel'skij Dom MSP, 2005. 128 s.
16. Kalinin F.L., Kushnir G.P., Sarnackaya V.V. Tekhnologiya mikroklonal'nogo razmnozheniya rastenij. Kiev: Naukova dumka, 1992. 232 s.
17. Sidorovich E.A., Kutas E.N. Klonal'noe mikrorazmnozhenie novyh plodovo-yagodnyh rastenij. Minsk: Nauka i tekhnika, 1996. 246 s.
18. Zaprometov M.N. Fenol'nye soedineniya i metody ih issledovaniya // V kn.: Biohimicheskie metody v fiziologii rastenij / Pod. red. O.A. Pavlinovoj. M.: Nauka, 1971. S. 185–197.
19. Polevoj V.V., Shchiparev S.M. Praktikum po biohimii rastenij. SPb.: Izd-vo S.-Peterburgskogo universiteta, 1996. 200 s.
20. Gavrilenko V.F., Zhigalova T.V. Bol'shoj praktikum po fotosintezu: Ucheb. posobie dlya stud. vuzov / Pod. red. I.P. Ermakova. M.: Izdatel'skij centr «Akademiya», 2003. 256 s.
21. Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika. Per. s angl. M.: Praktika, 1998. 459 s.
22. Mokshin E.V. Morfo-fiziologicheskie osobennosti klonal'nogo mikrorazmnozheniya *in vitro* razlichnyh sortov lilij (*Lilium* L.) i gladiolusov (*Gladiolus* L.). Avtoreferat dis. ... kand. biol. nauk. N. Novgorod, 2005. 20 s.
23. Biologiya kul'tiviruemyh kletok i biotekhnologiya rastenij. M.: Nauka, 1991. 280 s.
24. Zhizn' rastenij. V 6-ti t. / Gl. red. A.I.A. Fedorov. T. 5. Ch. 2. Cvetkovye rasteniya / Pod red. A.L. Tahtadzhyana. M.: Prosveshchenie, 1980. 576 s.
25. Rupasova Zh.A., Ignatenko V.A., Rusalenko V.G., Rudakovskaya R.N. Razvitie i metabolizm klyukvy krupnoplodnoj v Belorusskom Poles'e. Minsk: Nauka i tekhnika, 1989. 205 s.
26. Chupahina G.M. Sistema askorbinovoj kisloty rastenij: Monografiya. Kaliningrad: Izd-vo Kalaninigr. un-ta, 1997. 120 s.
27. Berezina E.V., Brilkina A.A. Soderzhanie fenol'nyh soedinenij u *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. (sort «Rannij chernyj») v usloviyah *in vivo* i *in vitro* // Izvestiya UNC RAN. 2013. № 3. S. 91–94.
28. Kislicina M.N. Issledovanie fotosinteticheskogo apparata vodnyh rastenij v usloviyah zagryazneniya // Izvestiya UNC RAN. 2013. № 3. S. 34–36.
29. Tishchenko S.Yu., Karnachuk R.A. Rost i foto-

sinteticheskij apparat senpolii (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl), poluchenoj razmnozheniem *in vitro* i *in vivo* // Tez. dokl. VII Mezhdunar. konf. «Biologiya kletok rastenij *in vitro*, biotekhnologiya i sohranenie genofonda», Moskva, 1997. S. 469–470.