



www.volsu.ru

НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В АГРОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ



DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2021.3.6>

UDC 606:581.143.6:661.183

LBC 30.16

SORBENTS OF PHENOLS AS A COMPONENTS OF THE NUTRITIONAL MEDIUM IN MICROCLONAL REPRODUCTION OF PLANTS

Anna M. Pugacheva

Federal Research Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences, Volgograd, Russian Federation

Kristina R. Bikmetova

Federal Research Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences, Volgograd, Russian Federation

Yuliya S. Smirnova

Federal Research Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences, Volgograd, Russian Federation

Abstract. In the process of microclonal reproduction, plants secrete various substances into the nutrient medium, for example, phenolic compounds, which act as inhibitors of growth processes and, accordingly, prevent the normal development of explants *in vitro*. Plant tissues are treated with stabilizing substances, and various sorbents are also used as components of the nutrient medium to neutralize the negative effects of phenols. This paper presents an overview of the approved methods for solving the problem of sorption of phenolic compounds during microclonal propagation of plants. Various studies are considering the addition of certain components to the nutrient medium that prevent the release of harmful growth-inhibiting substances. Most often, various carbon compounds, such as activated carbon, are used as an adsorbent. The authors, based on the analysis of domestic and foreign literature on this topic, conclude that the most effective and frequently used are carbon compounds and the polymer polyvinyl pyrrolidone, less common is the use of the following inhibitory substances: ascorbic and citric acids, silver nitrate and mercury chloride. According to the results of the conducted analytical studies, the prospects of using such substances as thermally expanded graphite (TEG) and colloidal silicon dioxide as sorbents in the composition of the drug "Polysorb" were revealed. Due to the inhomogeneous porous structure, including both micropores and meso- or macropores, TEG is able to adsorb pollutants both from the solution and from the water surface, which makes it a potential sorbent for phenolic compounds. The effect of silicon dioxide, in amorphous form, on plants *in vitro* has already been successfully tested by some researchers, which indicates the prospects of its study.

Key words: sorbents, phenols, activated carbon, silicon dioxide, thermally expanded graphite, *in vitro*.

Citation. Pugacheva A.M., Bikmetova K.R., Smirnova Yu.S. Sorbents of Phenols As a Components of the Nutritional Medium in Microclonal Reproduction of Plants. *Prirodnye sistemy i resursy* [Natural Systems and Resources], 2021, vol. 11, no. 3, pp. 39-48. DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2021.3.6>

СОРБЕНТЫ ФЕНОЛОВ КАК КОМПОНЕНТЫ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ В МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ РАСТЕНИЙ

Анна Михайловна Пугачева

ФНЦ агроэкологии РАН, г. Волгоград, Российская Федерация

Кристина Романовна Бикметова

ФНЦ агроэкологии РАН, г. Волгоград, Российская Федерация

Юлия Сергеевна Смирнова

ФНЦ агроэкологии РАН, г. Волгоград, Российская Федерация

Аннотация. В процессе микроклонального размножения растения выделяют в питательную среду различные вещества, например, фенольные соединения, которые действуют как ингибиторы ростовых процессов и, соответственно, препятствуют нормальному развитию эксплантов в условиях *in vitro*. Для нейтрализации отрицательного воздействия фенолов ткани растений обрабатывают стабилизирующими веществами, а также используют различные сорбенты в качестве компонентов питательной среды. В данной работе представлен обзор апробированных способов решения проблемы сорбции фенольных соединений при микроклональном размножении растений. В различных исследованиях рассматривается добавление в питательную среду тех или иных компонентов, препятствующих выделению вредных подавляющих рост веществ. Чаще всего в качестве адсорбирующего вещества используют различные углеродные соединения, например активированный уголь. Авторы на основе анализа отечественной и иностранной литературы по данной теме делают вывод о том, что наиболее эффективными и часто используемыми являются соединения углерода и полимер поливинилпирролидон, менее встречаемым является использование следующих ингибирующих веществ: аскорбиновая и лимонная кислоты, нитрат серебра и хлорид ртути. По результатам проведенных аналитических исследований выявлена перспективность использования в качестве сорбентов таких веществ, как терморасширенный графит (ТРГ) и коллоидный диоксид кремния в составе лекарственного препарата «Полисорб». Благодаря неоднородной пористой структуре, включающей как микропоры, так и мезо- или макропоры, ТРГ способен адсорбировать загрязняющие вещества как из раствора, так и с поверхности воды, что и делает его потенциальным сорбентом фенольных соединений. Влияние диоксида кремния, в аморфной форме, на растения в условиях *in vitro* уже было успешно протестировано некоторыми исследователями, что свидетельствует о перспективности его исследования.

Ключевые слова: сорбенты, фенолы, активированный уголь, диоксид кремния, терморасширенный графит, *in vitro*.

Цитирование. Пугачева А. М., Бикметова К. Р., Смирнова Ю. С. Сорбенты фенолов как компоненты питательной среды в микроклональном размножении растений // Природные системы и ресурсы. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 39–48. – DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2021.3.6>

Введение

На приживаемость эксплантов оказывают влияние следующие факторы: стерилизующие агенты, сроки введения в стерильную культуру, исходный материал, окисление фенолами питательной среды и эксплантов, состав питательной среды. Часто при введении растений в культуру *in vitro* возникает довольно серьезная проблема – ингибирование ростовых процессов экспланта токсическими веществами

(фенолами), которые выделяются в среду в результате травмы при изолировании.

Выделение эксплантами фенольных соединений большинства видов в культуральную среду вызывает потемнение и препятствует регенерации растений *in vitro* [10; 11]. Для снятия отрицательного воздействия фенолов растительные ткани обрабатывают стабилизирующими веществами, а также используют различные сорбенты в качестве компонентов питательной среды.

Данное исследование представляет анализ способов решения обозначенной проблемы, как сорбция фенольных соединений при микроклональном размножении растений.

Соединения углерода как сорбенты фенолов

В литературе часто встречаются упоминания о добавлении в питательную среду тех или иных компонентов, препятствующих выделению вредных подавляющих рост веществ. Чаще всего в качестве адсорбирующего вещества используют различные углеродные соединения, например активированный уголь [7]. Он имеет очень тонкую сеть пор с большой внутренней поверхностью, на которой могут адсорбироваться многие вещества [25].

Количество выделяемых фенолов можно измерить методом спектрофотометрии, как описано в статье Ozyigit [18]. В данной работе автор измерял общее содержание фенольных соединений в листьях, побегах и питательной среде Мурасиге – Скуга на 7, 14, 21 и 28-й день органогенеза. Наибольшая концентрация фенолов в исследуемом материале определялась на третьей неделе онтогенеза.

Rabha Abdelwahd с соавторами проводили исследование по изучению влияния адсорбента и антиоксиданта для уменьшения воздействия выщелочных фенолов при регенерации проростков фасоли *in vitro* [10]. Результаты показали снижение латерального потемнения эксплантов и улучшение регенерации побегов при добавлении в питательную среду активированного угля в концентрации 10 г/л или аскорбиновой кислоты в концентрации 1 мг/л. Экспланты проращивали на среде Мурасиге и Скуга с 3 % сахарозой, 0,8 % агаром, с содержанием фитогормонов 2 мг/л 6-бензиламинопурина и 2 мг/л тиадазурина. В результате был сделан вывод о положительном адсорбирующем действии активированного угля, благодаря которому улучшилась регенерация экспланта в условиях *in vitro*.

В 2006 г. была опубликована работа на тему влияния активированного угля на культуру тканей *in vitro* [23]. Исследование проводилось на суспензии клеток дикой моркови (*Daucus carota*) и гаглопаппуса (*Haplopappus*

gracilis) и суспензии каллусов лука многоярусного (*Allium cepa var. proliferum*) на питательной среде с активированным углем и без него. Дифференциация произошла в тех культурах клеток, которые содержали древесный уголь. Методом масс-спектрометрии было показано, что питательная среда без древесного угля содержит большое количество фенилуксусной кислоты и р-ОН-бензойной кислоты (*Daucus*), 2,6-ОН-бензойной кислоты (*Allium*) и бензойной кислоты, пеларгоновой кислоты и каприловой кислоты (*Haplopappus*), а среда с активированным углем – нет. Также было показано, что р-ОН-бензойная кислота оказывает ингибирующее действие на эмбриогенез в культурах тканей *Daucus*.

Enni Suwarsi Rahayu в своем исследовании выявляет оптимальный состав питательной среды для выращивания Элеокарпуса крупноцветкового (*Elaeocarpus grandiflorus*) в условиях *in vitro* [24]. В двухфакторном эксперименте, в котором варьировали тип питательной среды, Мурасиге – Скуга (MS) и питательная среда для древесных растений (WPM), а также антиоксидантные агенты, активированный уголь и поливинилпирролидон (ПВП). ПВП представляет собой адсорбирующее соединение, которое связывается с фенолами и, следовательно, предотвращает окисление. Роль активированного угля включает в себя инактивацию свободных радикалов или восстановление пероксидов. Данное исследование показало, что оба типа антиоксидантов были эффективны в развитии эксплантата *E. grandiflorus*. Культивирование эксплантов на среде MS с добавлением ПВП привело к тому, что большинство эксплантатов сформировали побеги, а на среде WPM, дополненной ПВП или активированным углем, большинство эксплантатов регенерировали каллус.

В.Л. Налобова и В.В. Акименко в работе по микроклональному размножению котоника гибридного использовали в качестве сорбентов несколько веществ [5]. Питательную среду Мурасиге – Скуга модифицировали ингибиторами фенолов – активированным углем (10 % от объема), витамином С (аскорбиновой кислотой) – 1 мл/л, а также увеличением доли ИМК с 0,2 до 0,5 мл/л. В процессе исследований выявлено, что на среде, содержащей активированный уголь, образовывались

регенеранты в виде конгломератов, состоящих из большого количества побегов, в то же время на среде без активированного угля образуются одиночные регенеранты. Добавление в среду витамина С не вызывало каких-либо видимых изменений в развитии растений *in vitro*. Таким образом, был сделан вывод о том, что активированный уголь является лучшим ингибитором фенолов, чем аскорбиновая кислота.

Ученые Всероссийского научно-исследовательского института сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова в одной из своих работ модифицировали питательную среду с целью укоренения эксплантов [1]. Для этого рекомендуется вводить индолилмасляную кислоту (ИМК) и нафтилуксусную кислоту (НУК) в различных концентрациях. Однако ауксины могут оказывать отрицательное влияние на процесс корнеобразования *in vitro*. Поэтому Е.Н. Васильченко с соавторами с целью устранения нежелательных последствий увеличения концентрации ауксинов в питательную среду добавляли активированный уголь. Внесение данного вещества в концентрации 3 мг/л оказало положительное влияние на ризогенез, а именно повышало частоту образования корней на 7,8–10,7 %.

В исследовании Roberson Dibax было обнаружено, что, помимо подавления действия фенольных соединений и, следовательно, потемнения, добавление активированного угля к питательной среде для регенерации эвкалипта *in vitro* усиливает рост побегов и улучшает окраску листьев [19].

В монографии Т.М. Червченко «Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*» говорится о том, что активированный уголь часто вносят в среды для укоренения на последнем этапе микроразмножения [9]. Предполагается, что он связывает ингибиторы фитогормонов, в результате чего стимулируется эмбриогенез. А также указывается, что некоторые растения лучше развиваются на затемненной питательной среде.

Dennis Thomas в своей работе рассматривает различные аспекты применения активированного угля в качестве компонента питательной среды [25]. Он часто используется в культуре тканей для улучшения роста и развития клеток, а также играет решающую

роль в микроразмножении, прорастании семян орхидей, соматическом эмбриогенезе, культивировании пыльников, производстве синтетических семян, культивировании протопластов, укоренении, удлинении стебля, формировании луковиц и т. д. Промотирующие эффекты активированного угля на морфогенез могут быть обоснованы его необратимой адсорбцией ингибирующих веществ в культуральной среде и существенным снижением содержания токсических метаболитов, фенольной экссудацией и накоплением коричневого экссудата. В дополнение к этому активированный уголь участвует в ряде стимулирующих и ингибирующих действий, включая высвобождение веществ, которые способствуют росту, изменению и потемнению питательных сред, а также адсорбции витаминов, ионов металлов и регуляторов роста растений, включая абсцизовую кислоту и газообразный этилен. Влияние данного вещества на поглощение регуляторов роста до сих пор неясно, по мнению ряда исследователей активированный уголь может постепенно высвобождать определенные адсорбированные продукты, такие как питательные вещества и регуляторы роста, которые становятся доступными для растений.

В 2015 г. группа ученых исследовала применение хлорида ртути ($HgCl_2$) и древесного угля в микроразмножении тикового дерева (*Tectona grandis*) [27]. Изучено влияние $HgCl_2$ в различных концентрациях (0,05, 0,1 и 0,15 %) с различным временем экспозиции 5, 10 и 15 минут. Авторы обнаружили, что обработка 0,1 % $HgCl_2$ в течение 5 минут показала лучшее распускание почек, в то время как грибковое и бактериальное загрязнение было наименьшим при применении 1 % и 0,15 % растворов. Процент грибковых и бактериальных загрязнений были ниже при обработке 1,5 % $HgCl_2$ в течение 15 минут. Комбинация древесного угля с $HgCl_2$ оказывает значительное влияние на распускание почек и потемнение. При добавлении 0,5 г/л древесного угля с 0,01 % $HgCl_2$ скорость распускания почек была максимальной.

Ю.В. Береснева с соавторами в своих исследованиях описывают результаты по изучению физико-химических свойств терморасширенного графита (ТРГ) [4; 6; 8; 14]. Особый интерес представляют конкретно сор-

бционные свойства полученного терморасширенного графита: с помощью УФ-спектроскопии исследователями была определена сорбционная емкость ТРГ по отношению к растворенному в воде фенолу. Предельное значение сорбционной емкости в исследуемом диапазоне концентраций составило 6,95 г/г сорбента. Определено, что тип изотерм адсорбции зависит от природы и концентрации исследуемого вещества в растворе, а также от природы и морфологии сорбента. Таким образом, терморасширенный графит, полученный на основе соединений соинтеркалирования нитрата графита, обладает высокой сорбционной емкостью по отношению к фенолу, что наталкивает на возможность добавления ТРГ в питательную среду в качестве сорбента.

Полимеры и другие вещества как сорбенты фенолов

М.В. Скапцов с коллегами тестировали добавление в питательную среду дополнительных компонентов в отношении их влияния на накопление фенольных соединений и жизнеспособность каллусных клеток [7]. В качестве сорбента использовали поливинилпирролидон, а в качестве антиоксиданта – тиосульфат натрия. В результате эксперимента было установлено, что каллусы, выращенные на модифицированной среде, содержат в два раза меньше фенольных соединений, чем каллусы, выращенные на среде со стандартным составом [17].

В 2014 г. проводилось исследование с целью изучения влияния антиоксидантного действия аскорбиновой кислоты на контроль летального потемнения, вызванного фенольными соединениями, в культуре *in vitro* *Brachylaena huillensis* с использованием узловых сегментов [13; 14]. Модификация питательной среды включала добавление аскорбиновой кислоты в концентрациях 50–250 мг/л вместе с цитокинином бензиламинопурином (6-БАП). Результаты данного эксперимента показали, что выделение фенольных соединений эксплантами в значительной степени контролировалось за счет включения в среду более высоких концентраций аскорбиновой кислоты. Лучший эффект был достигнут при добавлении 200–250 мг/л аскорбиновой кислоты в

среду для древесных растений (WPM) с добавлением 6-БАП.

Sanyal с соавторами в своей статье «Опосредованная *Agrobacterium* трансформация нута (*Cicer arietinum* L.) геном *cryIAc Bacillus thuringiensis* устойчивости к насекомому *Helicoverpa armigera*» в качестве антиоксидантов использовали 1 %-ный раствор нитрата серебра на среде Мурасиге – Скуга с индол-3-масляной кислотой (ИМК) [12]. Нитрат серебра является ингибитором этилена, его добавление поддерживало максимальное восстановление эксплантов после агроинокуляции. Добавление данного вещества привело к выделению большого количества предполагаемых трансформантов за относительно короткий период времени в культуре и устранило химер.

В 2015 г. была опубликована работа о влиянии концентрации неорганических веществ и поливинилпирролидона на корневища вишни *in vitro* [21]. В работе рассмотрено влияние добавления ПВП в пяти концентрациях в питательную среду различной силы на укоренение нескольких сортов вишни в условиях *in vitro*. В результате эксперимента были получены данные о том, что при добавлении 5 г/л ПВП к среде половинной крепости и 1 г/л ПВП число корней (5,8) было наибольшим, что привело к 80-процентному укоренению. А при применении 1 г/л ПВП в среде половинной крепости число корней составило 6,3, а процент укоренения – 90,9 %. Напротив, длина корня была максимальной (примерно 36,2 мм) в среде полной крепости без добавления ПВП. Однако, данное вещество является многообещающим средством для ингибирования фенольных соединений и укоренения в системах культур *in vitro*.

Qu и Chaudhury обрабатывали экспланты аскорбиновой кислотой с последующим культивированием в MS с добавлением поливинилполипирролидона, что значительно снизило потемнение и улучшило регенерацию [19].

H. Strosse с соавторами во время исследования культуры клеток и тканей банана в качестве антиоксидантов использовали растворы аскорбиновой и лимонной кислоты в концентрациях 10–150 мг/л [22]. Данные вещества добавляли в питательную среду для предотвращения ее потемнения, то есть с це-

люю адсорбции фенольных соединений, или сами эксплантаты погружали в раствор антиоксиданта до помещения их в пробирки, что оказывало положительное влияние на рост микроклонов.

Проведенное ранее исследование также показало, что поливинилпирролидон можно добавлять в среду для уменьшения окисления и, как следствие, потемнения культивируемых тканей [16; 26].

О.Ю. Гусева с коллегами проводили масштабную работу по оптимизации условий культивирования *in vitro* и *ex vitro* ювенильного материала дуба черешчатого [2]. Исследователи рекомендуют использовать материал от молодых саженцев, меристемные структуры, а также добавлять в состав питательной среды цитокинин 6-БАП, аденин и поливинилпирролидон, в качестве сорбционного агента. Так как дуб является трудноразмножаемой культурой в условиях *in vitro*, а материал, взятый от многолетних дубов, обладает слабым ризогенным ответом, использование молодого материала и добавление сорбентов фенольных соединений позволяет получить качественные микроклоны дуба черешчатого в условиях клонального микроразмножения.

Однако поливинилпирролидон оказывает адсорбирующий эффект не со всеми видами растений. Исследование Prajapati и соавторов показало, что при добавлении данного полимера в питательную среду, ингибирующее действие на фенольные соединения не было оказано [20].

Sanyal с коллегами в результате своего исследования сообщили, что добавление таких антиоксидантов, как цистеин и нитрат серебра, улучшило прорастание нута *in vitro* после агроинокуляции [24]. Аналогичным образом в экспериментах Strosse было выявлено, что добавление цистеина к питательной среде уменьшает почернение экспланта и питательной среды в культуре ткани банана *in vitro* [22].

На основании проведенного анализа литературы можно выделить несколько часто применяемых в микроклональном размножении веществ, которые используют в качестве сорбентов фенольных соединений. На первом месте по применяемости, доступности и эффективности стоит древесный (активирован-

ный) уголь. Его концентрации варьируют от 0,5 до 10 г на литр питательной среды, в основном используют 5 и 10 г/л.

Сорбционная способность углеродных материалов является главным критерием, который следует учитывать при производстве сорбента, поскольку сорбционная емкость производимого сорбента напрямую зависит от изначальной сорбционной способности сырья. Результаты подобных исследований А.А. Войташ и Ю.В. Берестневой уже описаны выше, поэтому они в общем смысле свидетельствуют о перспективе использования различных модификаций графита в качестве сорбентов фенольных соединений, выделяемых растениями в условиях клонального микроразмножения. Благодаря неоднородной пористой структуре, включающей как микропоры, так и мезоили макропоры, ТРГ способен адсорбировать загрязняющие вещества как из раствора, так и с поверхности воды. Это указывает на целесообразность использования такого сорбента в качестве компонента питательной среды для микроклонального размножения растений *in vitro*.

Вторым по популярности и эффективности является поливинилпирролидон. Это водорастворимый полимер, составленный из мономерных единиц N-винилпирролидона, который входит в состав некоторых лекарственных препаратов, таких как «Энтеродез». Он оказывает дезинтоксикационное действие, заключающееся в способности к комплексообразованию. Механизм его действия заключается в способности активно связывать токсины, соответственно, он имеет высокую сорбционную способность по отношению к соединениям фенола, выделяемым микрорастениями в процессе развития в условиях *in vitro*, о чем свидетельствуют работы многих авторов.

Аналогичными свойствами обладает лекарственный препарат «Полисорб», основу которого составляет коллоидный диоксид кремния. Имеются немногочисленные данные о применении его в качестве компонента питательной среды, которые свидетельствуют о том, что данное вещество вовлечено в процесс снижения стресса у растений, а также повышает иммунитет организма. Ю.А. Зюзина и Е.В. Немцова исследовали влияние синтетического аморфного диоксида кремния

на растения в условиях *in vitro* [3]. При добавлении в питательную среду препарата, содержащего диоксид кремния в концентрациях 50, 100 и 150 г/л, выявлено, что добавление данного вещества в концентрации 100 мг/л привело к увеличению коэффициента размножения эксплантов больше чем в 1,5 раза, а при концентрации 50 мг/л наблюдалась самая большая длина микропробегов. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии диоксида кремния на культивирование растений в условиях *in vitro*, а также оставляет перспективу для дальнейшего исследования влияния диоксида кремния в составе препарата «Полисорб» на развитие микроклонов.

Среди часто используемых веществ можно выделить следующие соединения: аскорбиновая и лимонная кислоты, нитрат серебра и хлорид ртути. Однако в составе питательной среды они чаще используются благодаря своим антиоксидантным свойствам, а не сорбционными способностям.

Заключение

Добавление в питательную среду таких сорбентов, как активированный уголь и его различные модификации, а также водорастворимого полимера поливинилпирролидона является необходимым для успешного получения микроклонов растений в условиях *in vitro*. Вышеперечисленные вещества успешно сорбируют фенольные соединения, препятствуя ингибированию регенерационного потенциала растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильченко, Е. Н. Индукция ризогенеза у сахарной свеклы в культуре *in vitro* / Е. Н. Васильченко, Е. О. Колесникова, Т. П. Жужалова // Сборник трудов Восемнадцатой Международной научно-практической конференции. – 2019. – С. 42–50.
2. Гусева, О. Ю. Оптимизация условий культивирования *in vitro* и *ex vitro* ювенильного материала дуба черешчатого / О. Ю. Гусева, Л. М. Стародубцева, В. Н. Попов // Сибирский лесной журнал. – 2019. – № 5. – С. 81–89.
3. Зюзина, Ю. А. Влияние синтетического аморфного диоксида кремния на растения *Rhododendron roseum* (L.) в культуре *in vitro* / Ю. А. Зюзина, Е. В. Немцова // Разнообразие растительного мира. – 2017. – Т. 2, № 10. – С. 48–54.
4. Исследование сорбции ароматических соединений из водных растворов терморасширенным графитом / А. А. Войташ, Ю. В. Берестнева, Е. В. Ракша, А. А. Давыдова, М. В. Савоськин // Химическая безопасность. – 2020. – Т. 4, № 1. – С. 144–156. – DOI: <https://doi.org/10.25514/CHS.2020.1.17010>.
5. Налобова, В. Л. Микроклональное размножение котловника гибридного / В. Л. Налобова, В. В. Акименко // Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экономического пространства стран Содружества : материалы Междунар. науч.- практ. конф., 25–28 мая 2005 г., Минск – Нарочь. – Минск : РИВШ, 2005. – С. 154–155.
6. Очистка воды от нефтепродуктов сорбентом на основе терморасширенного графита для орошения сельскохозяйственных угодий / А. А. Войташ, Ю. В. Берестнева, Е. В. Ракша, М. В. Савоськин // Научно-агрономический журнал. – 2020. – Т. 110, № 3. – С. 4–8. – DOI: <https://doi.org/10.34736/FNC.2020.111.4.006.29-34>
7. Скапцов, М. В. Оптимизация сред для культивирования растений *in vitro* на примере щавеля водного (*Rumex aquaticus* L.) / М. В. Скапцов, Д. В. Балабова, М. Г. Куцев // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 1. – С. 32–35.
8. Сорбционные свойства терморасширенного графита нитрата графита, соинтеркалированного этилформиатом и уксусной кислотой / А. А. Давыдова, А. А. Войташ, Ю. В. Берестнева [и др.] // Химическая безопасность. – 2019. – Т. 3. – С. 39–48. – DOI: <https://doi.org/10.25514/CHS.2019.Special.2>.
9. Черевченко, Т. М. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro* / Т. М. Черевченко, А. Н. Лаврентьева, Р. В. Иванников. – Киев : Наукова думка, 2008. – 559 с.
10. Abdelwahd, R. N. Use of an Adsorbent and Antioxidants to Reduce the Effects of Leached Phenolics in In Vitro Plantlet Regeneration of Faba Bean / R.N. Abdelwahd, M. Hakam, S.M. Labhilili // African Journal of Biotechnology. – 2008. – Vol. 7, № 8. – P. 997–1002.
11. Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation of Local Cultivars of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) / R.A. Sharmin, J. Akter, R.H. Sarker [et al.] // Plant Tissue Cult. & Biotech. – Vol. 22, № 1. – P. 41–50.
12. Agrobacterium-Mediated Transformation of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) with *Bacillus Thuringiensis* Cry1Ac gene for Resistance Against pod Borer Insect *Helicoverpa Armigera* / I. Sanyal, A.K. Singh, M. Kaushik [et al.] // Plant Sci. – 2005. – Vol. 168, № 4. – P. 1135–1146. – DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.12.015>.

13. Arditti, J. Micropropagation of Orchids / J. Arditti, R. Ernst. – New York : John Wiley and Sons, 1993. – 640 p.

14. Effects of Ascorbic Acid in Controlling Lethal Browning in in vitro Culture of *Brahylaena Huillensis* Using Nodal Segments / C. F. Ndakidemi, E. Mneney, P. Alois, A. Ndakidemi // *American Journal of Plant Sciences*. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 187–191. – DOI: <https://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.51024>.

15. Exfoliated Graphite from Graphite Nitrate Cointercalation Compounds: Production and Some Applications / A. A. Voitash, V. Yu. Vishnevsky, Yu. V. Berestneva [et al.] // *Applied Aspects of Nano-Physics and Nano-Engineering* / ed. by K. Levine, A. G. Syrkov. – New York : Nova Science Publishers Inc., 2019. – Vol. 1. – P. 25–28.

16. Gupta, P. K. Eucalyptus / P. K. Gupta, A. F. Mascarenhas // *Cell and Tissue Culture in Forestry*. Vol. 3 / ed. by J. Bonga, D. J. Durzan. – Dordrecht : Martinus Nijhoff publisher, 1987. – P. 385–402.

17. Murashige, T. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Plant Physiol.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

18. Ozyigit, I. I. Phenolic Changes During *in vitro* Organogenesis of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Shoot Tips / I. I. Ozyigit // *Afr. J. Biotechnol.* – 2008. – № 7. – P. 1145–1150.

19. Plant Regeneration from Cotyledonary Explants of *Eucalyptus Camaldulensis* / R. Dibax, C. L. Eisfeld, F. L. Cuquel [et al.] // *Scientia Agricola*. – 2005. – Vol. 62, № 4. – P. 406–412. – DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162005000400016>.

20. Prajapati, H. A. Direct in vitro Regeneration of *Curculigo Orchioides* Gaertn. An Endangered Anticarcinogenic Herb / H. A. Prajapati, R. B. Subramanian, D. H. Patel, S. R. Mehta // *Curr. Sci.* – 2003. – Vol. 84, № 6. – P. 747–749.

21. Sarropoulou, V. Medium Strength in Inorganics and PVP Concentration Effects on Cherry Rootstocks in vitro Rooting / V. Sarropoulou, K. Dimassi-Therious, I. Therios // *Hort. Sci. (Prague)*. – 2015. – Vol. 42, № 4. – P. 185–192. – DOI: <https://dx.doi.org/10.17221/359/2014-HORTSCI>.

22. Strosse, H Banana Cell and Tissue Culture – Review / H. Strosse, I. Van den Houwe, B. Panis. – 2004. – P. 1–12. – Electronic text data. – Mode of access: https://www.researchgate.net/publication/244995411_Banana_cell_and_tissue_culture_-_review. – Title from screen.

23. The Effect of Activated Charcoal on Tissue Cultures: Adsorption of Metabolites Inhibiting Morphogenesis / G. Fridborg, M. Pedersen, L. Landstrom [et al.] // *Physiol. Plant.* – 2006. – Vol. 43, № 2. – P. 104–106. – DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1978.tb01575.x>.

24. The Optimal Sterilizing Compound and Culture Medium in *Elaeocarpus grandiflorus* L. in vitro Shoot Induction / E. S. Rahayu, T. Widiatningrum, L. Herlina [et al.] // *Journal of Physics: Conference Series*. – Vol. 1321, № 3. – 032040.

25. Thomas D. The Role of Activated Charcoal in Plant Tissue Culture / D. Thomas // *Biotechnology Advances*. – 2008. – № 26. – P. 618–631.

26. Tissue Culture of Forest Trees: Clonal Multiplication of *Tectona grandis* L. by Tissue Culture / P. K. Gupta, A. L. Nadgir, A. F. Mascarenhas [et al.] // *Plant Sci. Lett.* – 1980. – Vol. 17. – P. 259–268.

27. Toji, A. Application of Mercuric Chloride and Charcoal in Micro-Propagation of Teak (*Tectona Grandis*) / A. Toji, A. Moham, K. Vikas // *Indian Journal of Tropical Biodiversity*. – 2015. – Vol. 23, № 2. – P. 157–166.

REFERENCES

1. Vasil'chenko E.N., Kolesnikova E.O., Zhuzhzhhalova T.P. Indukcija rizogeneza u saharnoj svekly v kul'ture in vitro [Induction of Rhizogenesis in Sugar Beet in In Vitro Culture]. *Sbornik trudov Vosemnadcatoj mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii* [Proceedings of the 18th International Scientific and Practical Conference], 2019, pp. 42-50.

2. Guseva O.Ju., Starodubceva L.M., Popov V.N. Optimizacija uslovij kul'tivirovanija in vitro i ex vitro juvenil'nogo materiala duba chereschatogo [Optimization of Cultivation Conditions In Vitro and Ex Vitro of Juvenile Material of Pedunculate Oak]. *Sibirskij lesnoj zhurnal*, 2019, no. 5, pp. 81-89.

3. Zjuzina Ju.A., Nemcova E.V. Vlijanie sinteticheskogo amorfnogo dioksida kremnija na rastenija *Rhododendron roseum* (L.) v kul'ture in vitro [Influence of Synthetic Amorphous Silicon Dioxide on *Rhododendron roseum* (L.) Plants in In Vitro Culture]. *Raznoobrazie rastitel'nogo mira*, 2017, vol. 2, no. 10, pp. 48-54.

4. Vojtash A.A., Berestneva Ju.V., Raksha E.V., Davydova A.A., Savos'kin M.V. Issledovanie sorbcii aromaticshestkih soedinenij iz vodnyh rastvorov termorasshirenym grafitom [Investigation of Sorption of Aromatic Compounds from Aqueous Solutions with Thermally Expanded Graphite]. *Himicheskaja bezopasnost'* [Chemical Safety Science], 2020, vol. 4, no. 1, pp. 144-156. DOI: <https://doi.org/10.25514/CHS.2020.1.17010>.

5. Nalobova V.L., Akimenko V.V. Mikroklonal'noe razmnozhenie kotovnika gibridnogo [Microclonal Reproduction of the Hybrid Catnip]. *Perspektivy i problemy razvitija biotekhnologii v ramkah edinogo jekonomicheskogo prostranstva*

stran Sodruzhestva: materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., 25–28 maya 2005 g., Minsk – Naroch' [Prospects and Problems of Biotechnology Development Within the Common Economic Space of the Commonwealth Countries. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, May 25–28, 2005, Minsk – Naroch]. Minsk, RIVSh, 2005, pp. 154-155.

6. Vojtash A.A., Berestneva Ju.V., Raksha E.V., Savos'kin M.V. Ochistka vody ot nefteproduktov sorbentom na osnove termorasshirennogo grafita dlja oroshenija sel'skohozjajstvennyh ugodij [Water Purification from Oil Products by a Sorbent Based on Thermally Expanded Graphite for Irrigation of Agricultural Lands]. *Nauchno-agronomicheskij zhurnal*, 2020, vol. 110, no. 3, pp. 4-8. DOI: <https://doi.org/10.34736/FNC.2020.111.4.006.29-34>.

7. Skapcov M.V., Balabova D.V., Kucev M.G. Optimizacija sred dlja kul'tivirovanija rastenij in vitro na primere shhavelja vodnogo (*Rumex aquaticus* L.) [Optimization of Media for Cultivation of Plants In Vitro on the Example of Water Sorrel (*Rumex Aquaticus* L.)]. *Sel'skohozjajstvennaja biologija* [Agricultural Biology], 2014, no. 1, pp. 32-35.

8. Davydova A.A., Vojtash A.A., Berestneva Ju.V. et al. Sorbcionnye svojstva termorasshirennogo grafita nitrata grafita, sointerkalirovannogo jetilformiatom i uksusnoj kislotoj [Sorption Properties of Thermally Expanded Graphite Nitrate, Co-Intercalated with Ethyl Formate and Acetic Acid]. *Himicheskaja bezopasnost'* [Chemical Safety Science], 2019, vol. 3, pp. 39-48. DOI: <https://doi.org/10.25514/CHS.2019.Special.2>.

9. Cherevchenko T.M., Lavrent'eva A.N., Ivannikov R.V. *Biotehnologija tropicheskij i subtropicheskij rastenij in vitro* [Biotechnology of Tropical and Subtropical Plants In Vitro]. Kiev, Naukova dumka Publ., 2008. 559 p.

10. Abdelwahd R.N., Hakam M., Labhilili S.M. Use of an Adsorbent and Antioxidants to Reduce the Effects of Leached Phenolics in In Vitro Plantlet Regeneration of Faba Bean. *African Journal of Biotechnology*, 2008, vol. 7, no. 8, pp. 997-1002.

11. Sharmin R.A., Akter J., Sarker R.H. et al. Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation of Local Cultivars of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *Plant Tissue Cult. & Biotech*, vol. 22, no. 1, pp. 41-50.

12. Sanyal I., Singh A.K., Kaushik M. et al. Agrobacterium-Mediated Transformation of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) with Bacillus Thuringiensis Cry1Ac Gene for Resistance Against Pod Borer Insect *Helicoverpa Armigera*. *Plant Sci*, 2005, vol. 168, no. 4, pp. 1135-1146. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.12.015>.

13. Arditti J., Ernst R. *Micropropagation of Orchids*. New York, John Wiley and Sons, 1993. 640 p.

14. Ndakidemi C.F., Mneney E., Alois P., Ndakidemi A. Effects of Ascorbic Acid in Controlling Lethal Browning in In Vitro Culture of *Brahylaena Huillensis* Using Nodal Segments. *American Journal of Plant Sciences*, 2014, vol. 5, no. 1, pp. 187-191. DOI: <https://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.51024>.

15. Voitash A.A., Vishnevsky V.Yu., Berestneva Yu.V. et al. Exfoliated Graphite from Graphite Nitrate Cointercalation Compounds: Production and Some Applications. Levine K., Syrkov A.G., eds. *Applied Aspects of Nano-Physics and Nano-Engineering*. New York, Nova Science Publishers Inc, 2019, vol. 1, pp. 25-28.

16. Gupta P.K., Mascarenhas A.F. Eucalyptus. Bonga J., Durzan D.J., eds. *Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol. 3*. Dordrecht, Martinus Nijhoff publisher, 1987, pp. 385-402.

17. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiol*, 1962, vol. 15, pp. 473-497.

18. Ozyigit I.I. Phenolic Changes During In Vitro Organogenesis of Cotton (*Gossypium Hirsutum* L.) Shoot Tips. *Afr. J. Biotechnol*, 2008, vol. 7, pp. 1145-1150.

19. Dibax R., Eisefeld C.L., Cuquel F.L. et al. Plant Regeneration from Cotyledonary Explants of *Eucalyptus Camaldulensis*. *Scientia Agricola*, 2005, vol. 62, no. 4, pp. 406-412. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162005000400016>.

20. Prajapati H.A., Subramanian R.B., Patel D.H., Mehta S.R. Direct In Vitro Regeneration of *Curculigo Orchoides* Gaertn. An Endangered Anticarcinogenic Herb. *Curr. Sci.*, 2003, vol. 84, no. 6, pp. 747-749.

21. Sarropoulou V., Dimassi-Theriu K., Therios I. Medium Strength in Inorganics and PVP Concentration Effects on Cherry Rootstocks In Vitro Rooting. *Hort. Sci. (Prague)*, 2015, vol. 42, no. 4, pp. 185-192. DOI: <https://dx.doi.org/10.17221/359/2014-HORTSCI>.

22. Strosse H., Van den Houwe I., Panis B. *Banana Cell and Tissue Culture – Review*, 2004, pp. 1-12. URL: https://www.researchgate.net/publication/244995411_Banana_cell_and_tissue_culture_review.

23. Fridborg G., Pedersen M., Landstrom L. et al. The Effect of Activated Charcoal on Tissue Cultures: Adsorption of Metabolites Inhibiting Morphogenesis. *Physiol. Plant*, 2006, vol. 43, no. 2, pp. 104-106. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1978.tb01575.x>.

24. Rahayu E.S., Widiatmingrum T., Herlina L. et al. The Optimal Sterilizing Compound and Culture Medium in *Elaeocarpus Grandiflorus* L. In Vitro Shoot Induction. *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1321, no. 3, 032040.

25. Thomas D. The Role of Activated Charcoal in Plant Tissue Culture. *Biotechnology Advances*, 2008, no. 26, pp. 618-631.

26. Gupta P.K., Nadgir A.L., Mascarenhas A.F. et al. Tissue Culture of Forest Trees: Clonal Multiplication of *Tectona Grandis* L. by Tissue Culture. *Plant Sci. Lett*, 1980, vol. 17, pp. 259-268.

27. Toji A., Moham A., Vikas K. Application of Mercuric Chloride and Charcoal in Micro-Propagation of Teak (*Tectona Grandis*). *Indian Journal of Tropical Biodiversity*, 2015, vol. 23, no. 2, pp. 157-166.

Information About the Authors

Anna M. Pugacheva, Candidate of Sciences (Agriculture), Scientific Secretary, Acting Deputy Director, Federal Research Research Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences, Prosp. Universitetsky, 97, 400062 Volgograd, Russian Federation, pugachevaa@vfanc.ru

Kristina R. Bikmetova, Junior Researcher, Biotechnology Laboratory, Federal Research Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences, Prosp. Universitetsky, 97, 400062 Volgograd, Russian Federation, c.bicmetowa@yandex.ru

Yuliya S. Smirnova, Junior Researcher, Biotechnology Laboratory, Federal Research Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences, Prosp. Universitetsky, 97, 400062 Volgograd, Russian Federation, smirnova-yu@vfanc.ru

Информация об авторах

Анна Михайловна Пугачева, кандидат сельскохозяйственных наук, ученый секретарь, и. о. заместителя директора по научной деятельности, ФНЦ агроэкологии РАН, просп. Университетский, 97, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация, pugachevaa@vfanc.ru

Кристина Романовна Бикметова, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологий, ФНЦ агроэкологии РАН, просп. Университетский, 97, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация, c.bicmetowa@yandex.ru

Юлия Сергеевна Смирнова, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологий, ФНЦ агроэкологии РАН, просп. Университетский, 97, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация, smirnova-yu@vfanc.ru