

ОБЗОРЫ

УДК 577.175.1:631.811.98:581.143.6(048.8)

ЦИТОКИНИНЫ: ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А. А. ЗМУШКО

РУП «Институт плодоводства»,
ул. Ковалёва, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: temlein2015@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

Данная статья посвящена гормонам растений – цитокининам (природным и синтетическим). В ней рассмотрена классификация цитокининов по их химическому строению (цитокинины фенилмочевинного и аденинового типа, изопреноидные и ароматические цитокинины). Описывается роль данного класса фитогормонов в жизнедеятельности растения. Указывается, что ведущая роль при микроразмножении среди регуляторов роста на этапах инициации культуры *in vitro* и пролиферации отводится цитокининам. Два основных свойства цитокининов, которые полезны в культуре – это стимуляция деления клеток (часто вместе с ауксинами) и вывод боковых почек из состояния покоя. Подробно рассмотрены такие цитокинины, как 6-бензиладенин, кинетин, зеатин, iP, тидиазурон. Указан ряд аспектов применения цитокининов в микроразмножении: влияние концентрации на морфологию микропобегов; возможность использования смесей цитокининов; видоспецифичность в реакции на цитокинины в микроразмножении.

Ключевые слова: цитокинины, зеатин, кинетин, 6-бензиладенин, тидиазурон, культура *in vitro*.

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Первый цитокинин был обнаружен в лаборатории F. Skoog (США); это был 6-фурфуриламинопурин, который был назван кинетином. Он был получен из молока сельди [1–3]. Первый природный цитокинин был выделен и описан D. S. Letham с соавторами в 1963 г. и назван зеатином, поскольку его выделили из незрелых семян кукурузы (*Zea mays*). Это произошло спустя почти десятилетие после получения F. Skoog синтетического цитокинина кинетина. А биосинтез цитокининов в растениях был доказан японскими исследователями лишь в 2001 г. [2–7].

Ауксины, абсцизовая кислота, цитокинины, этилен и гиббереллины обычно признаются пятью основными классами встречающихся в природе растительных гормонов [8].

Цитокинины играют центральную роль в клеточном цикле и влияют на многочисленные программы развития [9]. Им принадлежит важная роль в жизнедеятельности растений: они участвуют в регуляции деления клеток и дифференцировке хлоропластов, индуцируют стеблевой морфогенез, задерживают старение листьев, участвуют в регуляции транспорта метаболитов в растении, с их помощью корневая система регулирует функциональную активность в надземных органах, в частности, в листьях [10–12].

Биосинтез цитокининов в растении происходит главным образом в кончике корня, откуда пассивным транспортом вместе с водой и питательными веществами они разносятся по всему растению [3].

Цитокининам отводится ведущая роль на этапах введения в культуру *in vitro* и собственно микроразмножения [13]. Два основных свойства цитокининов, которые полезны в культуре, – это стимуляция деления клеток (часто вместе с ауксинами) и вывод боковых почек из состояния

покоя [8]. Цитокинины способствуют снятию апикального доминирования и увеличению коэффициента размножения из-за развития пазушных меристем [13, 14].

Классификацию цитокининов можно увидеть на следующей схеме (рис. 1):



Рис. 1. Классификация цитокининов

II. ЦИТОКИНИНЫ АДЕНИНОВОГО ТИПА

Природные цитокинины растений представляют собой N^6 -замещенные адениновые производные [15]. При этом они замещены на терминальном N^6 на производную от изопрена боковую цепь (изопреноидные цитокинины) или на боковую цепь ароматического производного (ароматические цитокинины) [10] (рис. 2).

	R =	R =
	 бензиладенин	 транс-зеатин
	 орто-тополин	 цис-зеатин
	 мета-тополин	 дигидрозеатин
	ароматические цитокинины	изопреноидные цитокинины

Рис. 2. Цитокинины аденинового типа

Рибоза или рибоза-5'-фосфат могут быть присоединены к N^9 -атому аденинового кольца с образованием рибозидов или риботидов цитокинина (рис. 3), и они обычно также проявляют цитокининовую активность [11].

R ₁		
 транс-зеатин (tZ)	транс-зеатин (tZ)	транс-зеатин рибозид (tZR)
 дигидрозеатин (DZ)	дигидрозеатин (DZ)	дигидрозеатин рибозид (DZR)
 орто-тополин (oT)	орто-тополин (oT)	орто-тополин рибозид (oTR)

Рис. 3. Рибозиды цитокининов

Рассмотрим отдельно изопреноидные и ароматические цитокинины аденинового типа.

III. ИЗОПРЕНОИДНЫЕ ЦИТОКИНИНЫ

Изопентениладенин (iP), зеатин (Z) и дигидрозеатин (DZ) преобладают в высших растениях. Считается, что свободные основания и их рибозиды (iPR, ZR, DZR) являются биологически активными соединениями [9]. К природным цитокининам, наиболее часто используемым в культуре растительных тканей, относятся зеатин, изопентениладенин, дигидрозеатин и зеатин-рибозид [8].

ЗЕАТИН

Зеатин был первым цитокинином, обнаруженным в растениях. Свое название он получил, поскольку был выделен из незрелых семян кукурузы (*Zea mays*) [3].

Транс-зеатин считается наиболее распространенным и активным цитокинином в растениях [2].

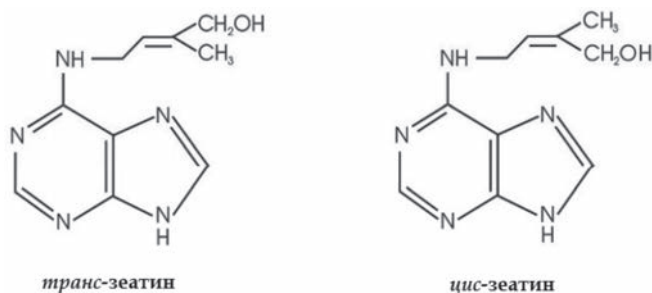


Рис. 4. Транс- и цис-зеатин

Цис-зеатин обычно является минорным компонентом, хотя существуют исключения [16]. Большие количества *цис*-зеатина найдены в семенах нута [17]. Было показано, что морские водоросли – богатый источник природного *цис*-зеатина [18]. Эти результаты указывают, что *цис*-изомер имеет намного более широкое распространение и значение, чем первоначально считалось. Синтетические препараты зеатина часто состоят из смеси *цис*- и *транс*-изомеров, но *цис*-форма имеет намного меньшую цитокининовую активность [14, 19].

Дигидрозеатин (DZ), аналог зеатина с насыщенной боковой цепью, идентифицирован у многих видов (рис. 5) [16]. Дигидрозеатин, природный метаболит зеатина, обладает цитокининовой активностью; он устойчив к окислению благодаря его насыщенной боковой цепи и иногда рассматривается как запасная форма зеатина [14].

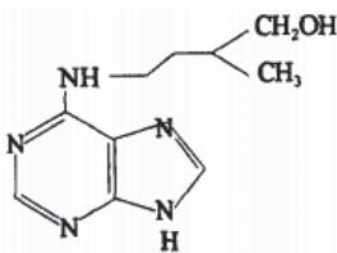


Рис. 5. Дигидрозеатин

Зеатин-рибозид высокоактивен, как цитокинин, и использовался в ряде экспериментальных работ по культуре тканей (рис. 6) [14]. Например, P. G. Goussard изучал влияние цитокининов на виноград, культивируемый *in vitro*. Он культивировал побеги, полученные из апексов винограда, на питательных средах, содержащих различные концентрации 6-бензиламинопурина (БАП) и зеатин-рибозид (ZR). Оптимальная пролиферация побегов была достигнута на среде с комбинацией цитокининов, каждый в концентрации 2 мг/л [20].

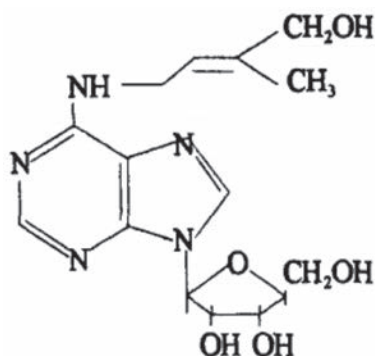


Рис. 6. Зеатин-рибозид

Применение зеатина в культуре *in vitro*. Зеатин нередко используется в работах по микро-размножению растений. Например, зеатин эффективен на этапе инициации (Debnath и McRae, 2001), для пролиферации побегов (Debnath и McRae, 2001) и для укоренения (Debnath и McRae, 2005) видов рода *Vaccinium* [21, 22]. R. Tao и A. Sugiura утверждают, что зеатин особенно эффективен для микроразмножения японской хурмы (*Diospyros kaki* L.) [23].

Можно выделить некоторые общие закономерности влияния зеатина на микрорастения.

1. Вытягивание микрорастений. Ряд исследователей отмечает, что зеатин способствует вытягиванию растений. Например, О. В. Матушкина и И. Н. Пронина отмечают, что зеатин усиливал рост микрорастений (клоновых подвоев и сортов яблони и груши) и способствовал образованию большого количества побегов оптимальной для укоренения длины [13]. С. S. Debnath указывает, что зеатин преодолевает вызванное тидиазуроном ингибирование удлинения стеблей земляники. Он отмечает, что зеатин способствовал образованию более длинных и крепких побегов, с большим количеством листьев на побег, чем тидиазурон [24]. К. Nirmal Babu et al. отмечают, что среда, дополненная одним только зеатином или смесью зеатина и кинетина, была наилучшей с точки зрения удлинения стеблей и размера листьев *Cinnamomum camphora* [25]. Т. А. Крицкая, А. С. Кашин отмечают, что при микроразмножении лапчатки волжской (*Potentilla vulgarica*) на питательной среде с добавлением зеатина размножение практически отсутствовало, однако наблюдалось формирование плотной розетки, максимальная длина и развитие листьев [26].

2. Способствует укоренению. С. S. Debnath указывает, что зеатин способствует укоренению культуры земляники *in vitro* [25]. Зеатин был эффективен в пролиферации побегов и укоренении клюквы [22].

3. Меньшая токсичность. Т. Eccher и N. Noè (1989) изучали смеси зеатина и iP для улучшения иницирования побегов голубики. Смеси двух цитокининов были менее фитотоксичны для новых эксплантов, чем iP сам по себе, и приводили к более высокой эффективности инициации [27].

2-ИЗОПЕНТЕНИЛАДЕНИН (iP, 2iP, 2-iP)

2-изопентениладенин (2iP) – природный цитокинин (рис. 7) [8].

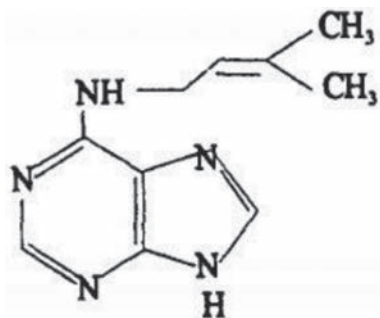


Рис. 7. 2-изопентениладенин (2-iP)

Культивирование *in vitro*. 2-изопентениладенин (iP) применяется для размножения *in vitro* различных культур. Например, Serres и соавт. (1994) установили, что среда WPM, содержащая iP, была эффективна для пролиферации *in vitro* побегов сортов брусники [28]. М. Marcotrigiano и S. P. McGlew; J. M. Smagula и J. Harker рекомендовали использовать высокие концентрации iP вместе с ауксином (ИУК или ИМК) в культуральной среде для увеличения пролиферации побегов клюквы [29, 30]. А. Sereme и соавт. использовали среду, содержащую iP и ИУК при микро-размножении западно-африканского дикого винограда (*Lannea microcarpa*) [31].

Концентрации: iP при микроразмножении некоторых растений используют в концентрациях, которые на порядок выше применяемых концентраций БА [32, 33].

Улучшение качества побегов. В. А. Высоцкий было изучено влияние ряда цитокининов на развитие микрорастений ирги. Он отметил, что качество побегов улучшалось практически при всех испытанных концентрациях iP. Побеги при использовании iP были длиннее и большего диаметра, а имеющиеся на них листья – крупнее [34].

Фитотоксичность. Т. Escher и N. Noë указывают, что iP демонстрирует некоторую фитотоксичность при высоких дозах (при размножении голубики), особенно на стадии инициации, когда многие экспланты коричневеют и в конечном итоге погибают [27].

IV. АРОМАТИЧЕСКИЕ ЦИТОКИНИНЫ

Минусом природных цитокининов iP и зеатина является их стоимость [14]. Наиболее часто используемые цитокинины – замещенные пурины: кинетин и 6-бензиладенин (БА) [8].

БЕНЗИЛАДЕНИН (БА)

В первые годы исследований только цитокинины с изопреноидной боковой цепью считались эндогенными соединениями, однако затем БА и его производные были идентифицированы как природные цитокинины [2, 16, 35].

Бензиладенин – ароматический цитокинин аденинового типа (рис. 8).

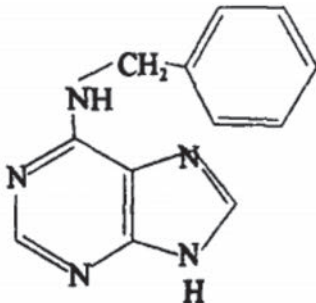


Рис. 8. 6-бензиладенин

Первоначально 6-бензиладенин считался синтетическим цитокинином. Однако в настоящее время обнаружен природный 6-бензиладенин [2, 35]. В растениях также обнаружен рибозид 6-БА [3].

6-бензиладенин используется в размножении *in vitro* большого числа культур [36–38], в частности, сливы домашней [39], винограда [40, 41], земляники садовой [42], вишни [43], смородины черной и красной, крыжовника, жимолости синей [42], малины [38], ежевики, рябины, аронии черноплодной, хеномелеса японского и др. [42].

ТОПОЛИНЫ

Гидроксильированные формы БА, *мета*- и *орто*-тополин встречаются в природе вместе с сопутствующими нуклеозидами, нуклеотидами и О-глюкозидами (рис. 9). Мета-тополин гораздо активнее, чем *пара*- и *орто*-производные. Другие метаболиты включают 3-, 7- и 9-глюкозиды и 9-аланин на адениновом кольце и глюкозид, связанный с рибозильной группой [16].

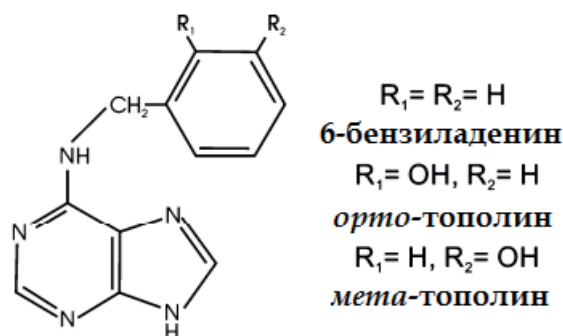


Рис. 9. 6-бензиладенин и его производные

КИНЕТИН

Кинетин (рис. 10) является известным цитокинином с кольцевой заменой в N^6 -позиции [16, 13]. Кинетин – синтетический ароматический цитокинин, он не встречается в растительных тканях [3, 14].

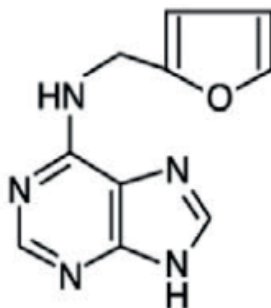


Рис. 10. Кинетин

Первый обнаруженный цитокинин был выделен в лаборатории профессора F. Skoog в Университете Висконсина [14]. В поисках факторов, вызывающих дифференциацию клеток каллуса табака (т. е. формирование нормальных тканей листа, корня и т. п.), Скуг обнаружил, что особенно эффективны для образования листовых зачатков старые или автоклавированные препараты ДНК из молок сельди. В 1955 г. была установлена химическая структура активного компонента, образующегося из ДНК. Им оказался 6-фурфуриламинопурин [3]. Новый ростовой фактор был назван «кинетин», так как он стимулировал клеточное деление в клетках, которые в противном случае могли стать многоядерными [14]. Общий термин «цитокинин» был предложен позднее, чтобы охватить все соединения, имеющие сходную активность [14, 44].

Кинетин нередко применяется в культуре *in vitro*, например, для культивирования земляники [45], лаванды узколистной [46], белены египетской [47], смородины черной [48], жимолости, малины, ежевики [49] и др.

V. ЦИТОКИНИНЫ ФЕНИЛМОЧЕВИНОВОГО ТИПА

Цитокинины фенилмочевинного типа – синтетические соединения [10]. Нет никаких доказательств того, что цитокинины фенилмочевинного типа встречаются естественным образом в растительных тканях [16].

Дифенилмочевина (DPU) была первой идентифицированной фенилмочевинной с цитокининовой активностью. Это случайное открытие привело к синтезу ряда мощных аналогов, таких как CPPU и тидиазурон (TDZ), с цитокининовой активностью, превышающей активность зеатина (рис. 11). В отличие от зеатина, эти активные фенилмочевины являются высокостабильными [16].

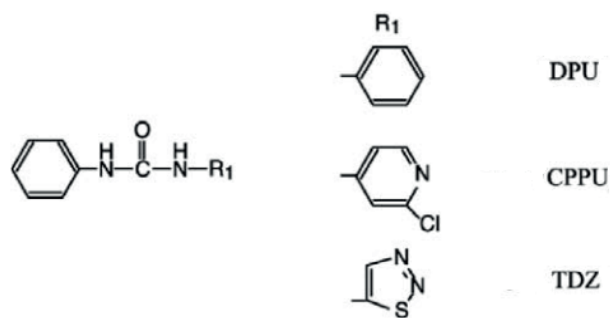


Рис. 11. Цитокинины фенилмочевинового типа

ТИДИАЗУРОН

Тидиазурон (TDZ) – замещенная фенилмочевина, созданная для механизированной уборки коробочек хлопчатника (дефолиант), и которая, как выяснилось, является высокоэффективным биорегулятором морфогенеза в культуре тканей многих видов растений [14, 50–52].

Тидиазурон имеет высокую цитокининовую активность [14, 53]. Применение тидиазурана вызывает множество различных культуральных ответов – от стимуляции каллусообразования до формирования соматических эмбрионов [50].

TDZ может быть высокоэффективен в стимулировании образования пазушных побегов в культуре побегов (например, у *Rorippa* [54], *Rhododendron* [55], *Malus domestica* [14, 56]).

Однако применение тидиазурана сдерживается тем, что он ингибирует удлинение стеблей у ряда культур [14], а также ведет к возникновению нежелательных морфологических аномалий.

Например, у многих сортов азалии (*Rhododendron*) тидиазурон приводил к образованию большого числа побегов, но плохого качества, поскольку они были низкорослыми и витрифицированными [14]. При использовании в качестве цитокинина TDZ у ремонтантной малины отмечалось каллусообразование у основания побега, что нежелательно при микроразмножении, так как затрудняется поступление питательных веществ в растение [38]. Отмечено специфичное действие тидиазурана на клоновые подвои и сорта яблони и груши: он хотя и увеличивал коэффициент размножения, но способствовал образованию очень мелких побегов с видоизмененными листьями, которые не пригодны для укоренения [13].

У некоторых растений тидиазурон более эффективен для стимуляции образования адвентивных (придаточных) побегов, чем основанные на аденине соединения. Однако образование адвентивных побегов нежелательно при микроразмножении [14, 57].

VI. ЦИТОКИНИНЫ В МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ

Существенным моментом, обеспечивающим активную пролиферацию микропобегов *in vitro*, является правильный выбор цитокинина и его концентрации [38]. Рассмотрим некоторые аспекты применения цитокининов в микроразмножении.

Видоспецифичность воздействия цитокининов. Влияние цитокининов на разные виды растений может сильно различаться. Например, БА стимулирует пролиферацию пазушных почек *Castanea* в экспериментах А. М. Vieitez и М. L. Vieitez [58], тогда как эффект кинетина отсутствует. Elliott (1970) обнаружил, что кинетин неспособен стимулировать рост верхушек побегов розы. С другой стороны, 0,5–5,0 мг/л кинетина (вместе с гибберелловой кислотой) индуцировали пролиферацию побегов картофеля, а вот БА и iP не были эффективны в этом [14, 59].

Смеси цитокининов. У некоторых видов смеси двух соединений могут дать лучшие результаты, чем каждое из веществ по отдельности [14, 27]. Например, А. А. Батукаев, А. А. Зармаев, М. С. Батукаев утверждают, что присутствие кинетина в питательной среде в комбинации с БА положительно влияло на развитие эксплантов винограда. Так, на фоне концентрации БА 0,5 мг/л присутствие кинетина (0,5 мг/л) обеспечило максимальный коэффициент размножения для испытываемых сортов винограда [60].

Концентрации цитокининов. Высокие концентрации цитокининов могут оказывать негативный эффект на процесс микроразмножения.

Во-первых, слишком высокий уровень цитокинина приводит к образованию множества мелких побегов, которые обычно не удлиняются [14]. Например, О. В. Матушкина, И. Н. Пронина при изучении пролиферации клоновых подвоев яблони 62-396, 57-195, груши № 10 и сортов яблони Вишневое и груши Осенняя Яковлева отмечали, что повышение концентрации БА от 1,0 до 3,0 мг/л приводило к увеличению коэффициента размножения, однако по мере повышения содержания БАП в среде, количество микропобегов оптимальной для укоренения длины уменьшилось в 2 раза. При длительном культивировании эксплантов на средах с высоким содержанием БА наблюдалось образование очень коротких побегов [13].

Во-вторых, высокие концентрации цитокининов могут быть причиной того, что листья некоторых видов растений приобретают нетипичную форму [14].

В-третьих, высокие концентрации цитокининов могут вызывать гипергидрацию (витрификацию, стекловидность) побегов [14]. Например, Т. П. Кобринец, О. С. Иванова, Е. В. Поух выяснили, что при микроразмножении сливы (сорта Венгерка белорусская, Эмпресс, Президент) на среде с содержанием 6-БА, 1,5 мг/л, наблюдались витрифицированные микропобеги. Поэтому, несмотря на высокий коэффициент размножения, такая концентрация цитокинина (6-БА) для данных сортов нежелательна [39, 61].

В-четвертых, высокие концентрации цитокининов в среде могут приводить к появлению каллусных тканей. Например, Т. Т. Турдиев, И. Ю. Ковальчук, С. Н. Фролов утверждают, что при культивировании винограда *in vitro*, увеличение концентрации 6-БА в питательной среде (до 2,0 мг/л) приводит к образованию каллуса [40].

В-пятых, высокие концентрации цитокинина могут негативно влиять и на коэффициент размножения. Например, Д. С. Кульханова, Т. В. Плаксина, И. Д. Бородулина отмечают негативный эффект высоких концентраций 6-БА на коэффициент размножения ремонтантных сортов малины [38].

ВЫВОДЫ

Цитокинины – один из пяти основных классов встречающихся в природе растительных гормонов. Им принадлежит важная роль в течение всей жизни растений: они участвуют в регуляции деления клеток и дифференцировке хлоропластов, индуцируют стеблевой морфогенез, задерживают старение листьев, участвуют в регуляции транспорта метаболитов в растении, с их помощью корневая система регулирует функциональную активность в надземных органах, в частности, в листьях. Биосинтез цитокининов в растении происходит главным образом в кончике корня. Цитокинины способствуют снятию апикального доминирования и увеличению коэффициента размножения из-за развития пазушных меристем, что делает их чрезвычайно полезными в микроразмножении. По химическому строению они делятся на цитокинины фенилмочевинного типа (синтетические соединения – не встречаются естественным образом в растительных тканях) и цитокинины аденинового типа. Последние названы так потому, что представляют собой N^6 -замещенные адениновые производные. Они, в свою очередь, делятся на изопреноидные (зеатин, дигидрозеатин, изопентениладенин) и ароматические (6-бензиладенин, кинетин, тополины) цитокинины. Правильный выбор цитокинина и его концентрации обеспечивает активную пролиферацию микропобегов *in vitro*.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid / C. O. Miller, F. Skoog, M. H. Von Saltza, F. M. Strong // Journal of the American Chemical Society. – 1955. – Vol. 77, № 5. – P. 1392.
2. Романов, Г. А. Как цитокинины действуют на клетку / Г. А. Романов // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 295–319.
3. Захарычев, В. В. Фитогормоны, их аналоги и антагонисты в качестве гербицидов и регуляторов роста растений : учеб. пособие / В. В. Захарычев ; М-во образования Рос. Федерации, Рос. хим.-технол. ун-т им. Д. И. Менделеева. – М. : Изд-во РХТУ им. Д. И. Менделеева, 1999. – 55 с.

4. Letham, D. S. Zeatin, a factor inducing cell division isolated from *Zea mays* / D. S. Letham // *Life Sciences*. – 1963. – Vol. 2, № 8. – P. 569–573.
5. Letham, D. S. The structure of zeatin, a factor inducing cell division / D. S. Letham, J. S. Shannon, I. R. McDonald // *Proceedings of the Chemical Society*. – 1964. – Iss. July. – P. 230–231.
6. Kakimoto, T. Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate: ATP/ADP isopentenyltransferases / T. Kakimoto // *Plant and Cell Physiology*. – 2001. – Vol. 42, № 7. – P. 667–685.
7. Takei, K. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferases, a cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana* / K. Takei, H. Sakakibara, T. Sugiyama // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – Vol. 276, № 28. – P. 26405–26410.
8. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture / T. Gaspar, C. Kevers, C. Penel [et al.] // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. – 1996. – Vol. 32, № 4. – P. 272–289.
9. Regulation of plant growth by cytokinin / T. Werner, V. Motyka, M. Strnad, T. Schmülling // *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. – 2001. – Vol. 98, № 18. – P. 10487–10492.
10. Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action! / ed. P. J. Davies. – Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 2004. – 750 p.
11. Kakimoto, T. Perception and signal transduction of cytokinins / T. Kakimoto // *Annual Review of Plant Biology*. – 2003. – Vol. 54, № 1. – P. 605–627.
12. Кулаева, О. Н. Новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов и их участия в сигнальных системах целого растения / О. Н. Кулаева, В. В. Кузнецов // *Вестник Российского фонда фундаментальных исследований*. – 2004. – № 2 (36). – С. 12–36.
13. Матушкина, О. В. Особенности воздействия экзогенных цитокининов и их производных на регенерацию яблони и груши *in vitro* / О. В. Матушкина, И. Н. Пронина // *Достижения науки и техники АПК*. – 2010. – № 8. – С. 34–35.
14. Plant propagation by tissue culture / ed.: E. F. George, M. A. Hall, G.-J. De Klerk. – 3rd ed. – Dordrecht : Springer, 2008. – Vol. 1: The background. – 501 p.
15. Kende, H. The five 'classical' plant hormones / H. Kende, J. A. D. Zeevaart // *The Plant Cell*. – 1997. – Vol. 9, № 7. – P. 1197–1210.
16. Mok, D. V. S. Cytokinin metabolism and action / D. W. S. Mok, M. C. Mok // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 52. – P. 89–118.
17. *Cis*-isomers of cytokinins predominate *Cicer arietinum* throughout their development / R. J. N. Emery, L. Lepoint, J. E. Barton [et al.] // *Plant Physiology*. – 1998. – Vol. 117, № 4. – P. 1515–1523.
18. Cytokinins in macroalgae / W. A. Stirk, M. Strnad, O. Novak, J. van Staden // *Plant Growth Regulation*. – 2003. – Vol. 41, № 1. – P. 13–24.
19. Staden, J. The biological activity of cytokinin derivatives in the soybean callus bioassay / J. van Staden, F. E. Drewes // *Plant Growth Regulation*. – 1991. – Vol. 10, № 2. – P. 109–115.
20. Goussard, P. G. Morphological responses of shoot apices of grapevine cultured *in vitro*. Effects of cytokinins in routine subculturing / P. G. Goussard // *Vitis*. – 1982. – Vol. 21, № 4. – P. 293–298.
21. Debnath, S. C. *In vitro* culture of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.): the influence of cytokinins and media types on propagation / S. C. Debnath, K. B. McRae // *Small Fruits Review*. – 2001. – Vol. 1, iss. 3. – P. 3–19.
22. Debnath, S. C. A one-step *in vitro* cloning procedure for cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.): the influence of cytokinins on shoot proliferation and rooting / S. C. Debnath, K. B. McRae // *Small Fruits Review*. – 2005. – Vol. 4, iss. 3. – P. 57–75.
23. Tao, R. Micropropagation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* L.) / R. Tao, A. Sugiura // *Biotechnology in Agriculture and Forestry* / ed.: J. M. Widholm, J. Kumlehn, T. Nagata. – Berlin ; Heidelberg, 1992. – Vol. 18: High-Tech and Micropropagation II / ed. Y. P. S. Bajaj. – P. 424–440.
24. Debnath, C. S. Zeatin overcomes thidiazuron-induced inhibition of shoot elongation and promotes rooting in strawberry culture *in vitro* / C. S. Debnath // *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2006. – Vol. 81, № 3. – P. 349–354.
25. Micropropagation of camphor tree (*Cinnamomum camphora*) / K. Nirmal Babu, A. Sajina, D. Minoo [et al.] // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2003. – Vol. 74, № 2. – P. 179–183.
26. Крицкая, Т. А. Клональное микроразмножение лапчатки волжской (*Potentilla vulgarica*) / Т. А. Крицкая, А. С. Кашин // *Вавиловские чтения – 2014 : сб. ст. междунар. науч.-практ. конф., Саратов, 25–27 нояб. 2014 г. / М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, Саратов. гос. аграр. ун-т ; редкол.: Н. И. Кузнецов [и др.]*. – Саратов, 2014. – С. 114–116.
27. Eccher, T. Comparison between 2iP and zeatin in the micropropagation of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) / T. Eccher, N. Noè // *Acta Horticulturae*. – 1989. – Vol. 241. – P. 185–190.
28. Micropropagation of several lingonberry cultivars / R. A. Serres, S. Pan, B. M. McCown, E. J. Stang // *Fruit Varieties Journal*. – 1994. – Vol. 48, № 1. – P. 7–14.
29. Marcotrigiano, M. A two-stage micropropagation system for cranberries / M. Marcotrigiano, S. P. McGlew // *Journal of the American Society for Horticultural Science*. – 1991. – Vol. 116, № 5. – P. 911–916.
30. Smagula, J. M. Cranberry micropropagation using a lowbush blueberry medium / J. M. Smagula, J. Harker // *Acta Horticulturae*. – 1997. – Vol. 446. – P. 343–347.
31. Micropropagation of a West African wild grape (*Lannea microcarpa*) / A. Sereme, J. Millogo, S. Guinko, M. Nacro // *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 862–870.

32. Высоцкий, В. А. Клональное микроразмножение растений / В. А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология / АН СССР, Ин-т физиологии растений ; отв. ред. Р. Г. Бутенко. – М., 1986. – С. 91–102.
33. Регенерация растений *Brachanthemum baranovii* (Krasch. et Poljak) Krasch. в культуре *in vitro* / В. В. Соловьева, Н. А. Вечернина, О. К. Таварткиладзе, А. И. Шмаков // Известия Алтайского государственного университета. – 2003. – № 3 (29). – С. 108–111.
34. Высоцкий, В. А. Опыт клонального микроразмножения ирги / В. А. Высоцкий // Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. работ / Всерос. селекц.-технол. ин-т садоводства и питомниководства. – М., 1995. – Т. 2. – С. 123–127.
35. Strnad, M. The aromatic cytokinins / M. Strnad // Physiologia Plantarum. – 1997. – Vol. 101, № 4. – P. 674–688.
36. Плаксина, Т. В. Влияние регуляторов роста на клональное микроразмножение представителей рода актинидия / Т. В. Плаксина, И. Д. Бородулина // Acta Biologica Sibirica. – 2016. – Т. 2, № 3. – С. 54–60.
37. Кастрицкая, М. С. Микроразмножение сортов хмеля *in vitro* / М. С. Кастрицкая, Н. В. Кухарчик, О. А. Гашенко // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. – 2014. – № 2. – С. 75–80.
38. Кульханова, Д. С. Размножение *in vitro* ремонтантных сортов малины / Д. С. Кульханова, Т. В. Плаксина, И. Д. Бородулина // Известия Алтайского государственного университета. – 2012. – № 3-2 (75). – С. 42–45.
39. Кастрицкая, М. С. Микроразмножение растений рода *Prunus* L.: инициация и размножение / М. С. Кастрицкая, А. А. Змушко, Т. А. Красинская // Плодоводство : сб. науч. тр. / НАН Беларуси, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2018. – Т. 30. – С. 258–264.
40. Турдиев, Т. Т. Оптимизация минерального и гормонального состава питательных сред для культивирования винограда *in vitro* / Т. Т. Турдиев, И. Ю. Ковальчук, С. Н. Фролов // Сохранение биоразнообразия тропических и субтропических растений : материалы 2-й Междунар. науч. конф., Харьков, 7–10 окт. 2013 г. / М-во образования и науки Украины [и др.] ; редкол.: Т. Г. Орлова [и др.], отв. ред. А. А. Алехин. – Харьков, 2013. – С. 173–178.
41. Красинская, Т. А. Морфогенез растений-регенерантов сортов винограда в культуре *in vitro* при использовании 6-бензиладенина, кинетина и тидиазурина / Т. А. Красинская, М. И. Шокель, А. А. Змушко // Клеточная биология и биотехнология растений : тез. докл. II Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 28–31 мая 2018 г. / Белорус. гос. ун-т, Ин-т леса НАН Беларуси ; редкол.: И. И. Смолич (отв. ред.), В. В. Демидчик, В. Е. Падутов. – Минск, 2018. – С. 122–123.
42. Размножение плодовых, ягодных растений, винограда и хмеля в культуре *in vitro* / Н. В. Кухарчик, М. С. Кастрицкая, Е. В. Колбанова [и др.] ; под общ. ред. Н. В. Кухарчик. – Минск : Колорград, 2021. – 400 с.
43. Красинская, Т. А. Морфогенез растений-регенерантов сортов винограда в культуре *in vitro* при использовании биологически активных веществ синтетического происхождения / Т. А. Красинская, А. А. Змушко // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2018. – № 2. – С. 95–104.
44. Skoog, F. Cytokinins / F. Skoog, F. M. Strong, C. O. Miller // Science. – 1965. – Vol. 148, № 3669. – P. 532–533.
45. Карпушина, М. В. Технологический процесс микроклонального размножения посадочного материала земляники садовой сорта Мальвина / М. В. Карпушина, М. А. Амосова // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2022. – № 78 (6). – С. 263–274.
46. Особенности клонального микроразмножения лаванды узколистной / В. С. Власова, Н. А. Егорова, Л. А. Хасанова, З. М. Хасанова // Актуальная биотехнология. – 2021. – № 1 (35). – С. 71.
47. Абделаиз, В. М. А. Влияние кинетина на микроразмножение белены египетской / В. М. А. Абделаиз // Биосистемы: организация, поведение, управление : 70-я Всероссийская школа-конференция молодых ученых. – Нижний Новгород, 26–28 апреля 2017 г. – С. 4.
48. Райков, И. А. Особенности клонального микроразмножения растений смородины черной в зависимости от генотипа и применяемого цитокинина / И. А. Райков // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 26. – С. 368–374.
49. Панькова, О. А. Совершенствование технологических приемов клонального микроразмножения ягодных кустарников / О. А. Панькова, Н. П. Несмелова // Аграрная наука Евро-северо-востока. – 2008. – № 11. – С. 72–76.
50. Murthy, B. N. S. Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis / B. N. S. Murthy, S. J. Murch, P. K. Saxena // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. – 1998. – Vol. 34, № 4. – P. 267–275.
51. Arndt, F. SN 49537, a new cotton defoliant / F. Arndt, R. Rusch, H. V. Stillfried // Plant Physiology. – 1976. – Vol. 57, Suppl. – P. S99.
52. Изучение морфогенетического потенциала озимого рапса отечественной селекции в культуре *in vitro* / М. А. Чернобровкина, П. А. Хватков, А. В. Леонтьева, С. В. Долгов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 11, ч. 2. – С. 260–264.
53. Cytokinin activity of *N*-phenyl-*N'*-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea (thidiazuron) / M. C. Mok, D. W. S. Mok, D. J. Armstrong [et al.] // Phytochemistry. – 1982. – Vol. 21, № 7. – P. 1509–1511.
54. Gilby, A. C. Use of tissue culture in improvement of watercress (*Rorippa nasturtium aquaticum* L. Hayek) / A. C. Gilby, H. Wainwright // Acta Horticulturae. – 1989. – Vol. 244. – P. 105–113.
55. Fellman, C. D. Effects of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation / C. D. Fellman, P. E. Read, M. A. Hosier // HortScience. – 1987. – Vol. 22, № 6. – P. 1197–1200.
56. Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* cultured apples: effects of cytokinin, auxin, and leaf age / F. Fasolo, R. H. Zimmerman, I. Fordham, L. Falbo // HortScience. – 1988. – Vol. 23, № 3S. – P. 676.
57. Briggs, B. A. Micropropagation of azaleas using thidiazuron / B. A. Briggs, S. M. McCulloch, L. A. Edick // Acta Horticulturae. – 1988. – Vol. 226. – P. 205–208.

58. Vieitez, A. M. Culture of chestnut shoots from buds *in vitro* / A. M. Vieitez, M. L. Vieitez // Journal of Horticultural Science. – 1980. – Vol. 55, № 1. – P. 83–84.
59. Elliott, R. F. Axenic culture of meristem tips of *Rosa multiflora* / R. F. Elliott // Planta. – 1970. – Vol. 95, № 2. – P. 183–186.
60. Батукаев, А. А. Использование регуляторов роста в системе производства оздоровленного посадочного материала винограда / А. А. Батукаев, А. А. Зармаев, М. С. Батукаев // Труды БГУ. – 2013. – Т. 8, ч. 2. – С. 43–47.
61. Кобринец, Т. П. Микрклональное размножение районированных сортов сливы в РУП «Брестская ОСХОС НАН Беларуси» / Т. П. Кобринец, О. С. Иванова, Е. В. Поух // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2017. – Т. 4, № 1/2. – С. 53–56.

CYTOKININS: GENERAL INFORMATION AND APPLICATION IN *IN VITRO* CULTURE

A. A. ZMUSHKO

Abstract

This article is dedicated to plant hormones – cytokinins (both natural and synthetic). It presents a classification of cytokinins based on their chemical structure, including phenylurea-type and adenine-type cytokinins, as well as isoprenoid and aromatic cytokinins. The role of this class of phytohormones in plant physiology is described. It is noted that among growth regulators, cytokinins play a leading role in micropropagation during the initiation and proliferation stages of *in vitro* culture. The two key properties of cytokinins valuable in tissue culture are stimulation of cell division (often in conjunction with auxins) and release of lateral buds from dormancy. The article provides a detailed review of specific cytokinins such as 6-benzyladenine, kinetin, zeatin, iP, and thidiazuron. Several aspects of cytokinin application in micropropagation are discussed, including: the influence of concentration on microshoot morphology; the potential use of cytokinin mixtures; and species-specific responses to cytokinins in micropropagation.

Keywords: cytokinins, zeatin, kinetin, 6-benzyladenine, thidiazuron, *in vitro* culture.

Поступила в редакцию 17.03.2025