

УДК 634.83:631.537:631.532:581.522.4

*Н. М. Зеленянська, д-р с.-г. наук,
О. І. Гоголінська, канд. с.-г. наук,
М. М. Артюх, канд. с.-г. наук,
В. В. Борун, канд. с.-г. наук*

Національний науковий центр
«Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова»

e-mail: natalyanikolaevna2019@ukr.net

ЗАСТОСУВАННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ПРИЙОМУ ЕТІОЛЯЦІЇ НА ЕТАПІ ВВЕДЕННЯ ЕКСПЛАНТІВ ВІНОГРАДУ В УМОВАХ IN VITRO ДЛЯ БОРОТЬБИ З ЇХ ФЕНОЛЬНИМ ОКИСЛЕННЯМ

Мікроклональне розмноження винограду є важливим у виноградному розсадництві багатьох країн світу. Культивування винограду in vitro може мати ряд труднощів, зокрема, під час введення ініціальних експлантів з їх тканин вивільняється велика кількість фенольних речовин, які гальмують регенераційні процеси рослин в умовах in vitro, часто це може призводити до загибелі культур. Для вирішення проблеми фенольного окислення застосовують різні прийоми, такі як попереднє замочування експлантів у розчині антиоксидантів або ж додавання антиоксидантів та/або адсорбентів у поживне середовище, культивування деякий період у темряві (їх етіоляція), однак ефективність цих методів варіює в залежності від виду та фізіологічного стану рослини, типу експлантів та потребує перевірки на практиці для багатьох сільськогосподарських рослин, в тому числі і для винограду. Метою роботи було визначити ефективність внесення антиоксиданту аскорбінової кислоти у поживне середовище та застосування прийому етіоляції експлантів на етапі введення винограду у культуру in vitro.

Введення в культуру in vitro та вирощування мікроклонів здійснювали за загальноприйнятою методикою, у поживне середовище МС додавали 1,5-3,0 мг/л аскорбінової кислоти та/або витримували у темряві 15 діб. Визначили, що найсприятливішим для приживлюваності та проліферації вічок експлантів винограду було поживне середовище з 3 мг/л аскорбінової кислоти як за умов етіоляції, так і при освітленні з 12-годинним фотоперіодом. Вміст поліфенольних сполук у зелених тканинах дослідних експлантів цих варіантів був меншим, ніж у контролі, через 15 діб після введення по завершенню періоду етіоляції, а через 30 діб кількість поліфенолів зростала, що у поєднанні з гарними біометричними показниками мікроклонів свідчило про оптимальні умови росту та розвитку мікроклонів.

Ключові слова: експланти винограду, культура тканин in vitro, фенольне окислення, аскорбінова кислота, етіоляція, приживання, проліферація вічка, вміст поліфенолів.

Вступ. Мікроклональне розмноження винограду є важливим у виноградному розсадництві багатьох країн світу, оскільки дозволяє у короткі терміни отримати високоякісний генетично ідентичний, вільний від вірусів та хвороб садивний матеріал, що є основою довговічності та рентабельності багаторічних насаджень. Цей метод полягає у культивування експлантів рослин у асептичних умовах у поживному середовищі з регуляторами росту. Етапами мікроклонального розмноження є відбір та підготовка експлантатів, їх стерилізація та введення в культуру in vitro, розмноження та укорінення мікропагонів, адаптація рослин до умов in vivo.

Культивування винограду in vitro може мати ряд труднощів, зокрема, під час введення ініціальних експлантів з їх тканин вивільняється велика кількість темно забарвлених фенольних речовин (так звана проблема потемніння (покоричневіння) тканин та поживного

середовища) [1]. Поліфеноли – широко розповсюджені рослинні сполуки, які здійснюють важливі фізіологічні та структурні функції у процесах росту та розвитку рослин, забезпечують захист від ультрафіолетового випромінювання та озону, від пошкоджень вільними радикалами, а також мають деякі антибактеріальні та фунгіцидні властивості [2]. Однак при пошкодженні рослинних тканин ці сполуки окислюються до хінонів і у результаті взаємодії з клітинними ферментами утворюють токсичні речовини, які гальмують регенераційні процеси рослин в умовах *in vitro*, часто це може призводити до загибелі культури [3-5].

Аналіз останніх досліджень. Для вирішення проблеми фенольного окислення застосовують різні прийоми, такі як попереднє замочування експлантів у розчині антиоксидантів або ж додавання антиоксидантів та/або адсорбентів у поживне середовище, культивування деякий період у темряві та часте субкультивування експлантів, однак ефективність цих методів варіює в залежності від виду та фізіологічного стану рослини [6]. Антиоксиданти (аскорбінова, лимонна та винна кислота, L-цистеїн, глутатіон та ін.) здатні взаємодіяти з фенольними речовинами та пригнічувати активність ферментів, які каталізують їх синтез та окислення [7]. Дослідження показують, що аскорбінова кислота здатна не лише запобігати потемнінню експлантів, а й зупиняти цей процес в уже потемнілих тканинах [8]. Адсорбенти (активоване вугілля, полівінілпіролідон, синтетичні кремнієві сполуки) не застосовують так широко з причини їх активного поглинання не лише фенольних сполук, а й інших складових поживного середовища. Наприклад, в дослідженні формування мікрокалюсів з протопластів винограду *V. vinifera* L. активоване вугілля запобігало потемнінню культури, однак негативно впливало на результати культивування [9]. У інших дослідженнях було встановлено, що додавання 0,3 г/л полівінілпіролідону та 0,2 мг/л аскорбінової кислоти до поживного середовища ефективно запобігало фенольному потемнінню експлантів ківі [10]. Подібний вплив аскорбінової кислоти в середовищі для культивування експлантів (1,5 мг/л) зареєстрований під час мікророзмноження банана [11]. Культуру персика вдалося успішно розмножити на поживному середовищі, доповненому 50 мл/л аскорбінової кислоти та 20 мг/л вітамінної суміші Stabs [12]. Patil та ін. (2011) досягли найкращих результатів у запобіганні потемнінню культур гранату при застосуванні 150 мг/л аскорбінової кислоти та 100 мг/л лимонної кислоти [13].

Відомо, що експланти, які культують в умовах затемнення чи дефіциту світла менше накопичують фенольні сполуки порівняно з тими, які витримують на світлі та демонструють нижчий рівень потемніння [14]. Ймовірно, витримування у темряві (етіоляція) експлантів зменшує активність ферментів, що беруть участь як у біосинтезі, так і в окисленні фенолів [15]. Власне, етіоляція – це зміни в будові рослини, яка росте в темряві, а саме відсутність продукування хлорофілу в тканинах (хлороз) та швидке подовження стебла, тобто видовження міжвузлів, на світлі відбувається процес деетіоляції. Також, етіоляція викликає ювенілізацію тканин рослин, сприяє запуску біохімічних процесів, які викликають швидке витягування пагонів, підвищує рівень ендогенних ауксинів і запобігає їх розкладу під впливом світла, стимулює ріст та розтягування клітин, індукує закладку коренів [16]. Підтверджено, що етіоляційна обробка призводила до помітного зниження активності поліфенолоксидази та вмісту поліфенолів експлантів манго на стадії до культивування та фенольної ексудації на стадії після культивування, що, у свою чергу, підвищувало рівень приживлюваності експлантів в поживному середовищі МС [17]. А для кращого приживання на етапі введення в культуру *in vitro* експланти винограду відбирали з пророщених у темряві пагонів [18].

Таким чином, ефективність вказаних методів для запобігання фенольного окислення *in vitro* варіює залежно від виду, фізіологічного стану рослини, типу експлантів та потребує перевірки на практиці для багатьох сільськогосподарських рослин, в тому числі і для винограду.

Метою роботи було визначити ефективність внесення аскорбінової кислоти у поживне середовище та застосування прийому етіоляції експлантів на етапі введення

винограду у культуру

Методи досліджень. Дослідження проводили в лабораторії культури винограду *in vitro* відділу розсадництва, розмноження та біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ імені В.Є. Таїрова». У роботі було використано столові сорти винограду Аркадія та Загадка селекції ННЦ «ІВіВ імені В.Є. Таїрова».

Введення в культуру *in vitro* та вирощування мікроклонів здійснювали за загальноприйнятою методикою [19]. Підготовлену лозу винограду попередньо пророщували у боксі, після чого з зелених пагонів відбирали експланти – фрагменти стебла з вузловими вічками. Перед початком стерилізації з вічок знімали покривні луски, а тоді послідовно витримували у розчинах препарату «Лізоформін» 2% (15 хв), хінозолу 2 г/л (20 хв) та етилового спирту 96% (2-3 с), щоразу промиваючи їх стерильною дистильованою водою. Після стерилізації виділені експланти висаджували на поживне середовище Мурасіге-Скуга (МС), виготовлене за стандартною схемою та доповнене 0,4 мг/л 6-бензиламінопурина (6-БАП). Для запобігання фенольному окисненню у поживне середовище додавали 1,5-3,0 мг/л аскорбінової кислоти, а також витримували у темряві без освітлення (етіоляція).

Схема досліду: Варіант 1 – культивування на стандартному поживному середовищі МС, освітлення з фотоперіодом 12 год (*контроль*);

Варіант 2 – культивування на поживному середовищі МС з аскорбіновою кислотою 1,5 мг/л з фотоперіодом 12 год;

Варіант 3 – культивування на поживному середовищі МС з аскорбіновою кислотою 3,0 мг/л з фотоперіодом 12 год;

Варіант 4 – культивування на стандартному поживному середовищі МС, етіоляція (без освітлення) протягом перших 15 діб;

Варіант 5 – культивування на поживному середовищі МС з аскорбіновою кислотою 1,5 мг/л, етіоляція протягом 15 діб;

Варіант 6 – культивування на поживному середовищі МС з аскорбіновою кислотою 3,0 мг/л, етіоляція протягом 15 діб.

Через 50-60 днів експланти пересаджували на поживне середовище МС для мікророзмноження, що містило половинний склад макросолей, 0,3 мг/л 6-БАП та 0,3 мг/л ІОК (індолілоцтова кислота).

Мікроклони вирощували у культуральному боксі при температурі 25-27 °С, освітленні 2000-2500 люкс з фотоперіодом 12 год та при вологості повітря 60-70%.

Через 7, 15 та 30 діб після висаджування проводили обліки приживлюваності, проліферації (розпускання вічок) та ризогенезу експлантів, також через 15 та 30 діб визначали вміст поліфенольних сполук у зелених тканинах методом Фоліна-Чекальтеу. Через 60 діб вимірювали основні показники росту та розвитку мікроклонів. Дослідження виконували в триразовій повторності, дані обробляли статистично за допомогою програми ANOVA та прикладним пакетом програм Microsoft Excel

Результати. На попередньому етапі роботи експланти винограду висаджували на поживне середовище МС з різним вмістом аскорбінової кислоти та розміщували у культуральному боксі з освітленням, або ж витримували у темряві певний період після висаджування [20]. Приживання та проліферація дослідних експлантів були кращими, ніж у контрольних, також не було візуальних ознак фенольного отруєння тканин. Це підтверджує і той факт, що у тканинах пророщених експлантів винограду був нижчий вміст поліфенолів.

У даній роботі вивчали одночасну дію двох факторів – внесення аскорбінової кислоти у поживне середовище та освітлення (або його відсутність для етіоляції експлантів). Відмітили позитивний сумарний вплив аскорбінової кислоти та прийому етіоляції на приживання і проліферацію експлантів двох сортів винограду (Рис. 1, 2). Найкращий їх розвиток спостерігали у варіантах з вмістом аскорбінової кислоти 3,0 мг/л у поживному середовищі МС, як на світлі, так і у темряві (варіанти 3 та 6). Так, на 30-ту добу після висаджування приживання експлантів сорту Аркадія було на рівні 78,5-80,5%, а проліферація пазушних вічок – 71,7-72,4%, що більше, ніж у контролі на 14,5-15,2%. А у

сорту Загадка приживання експлантів у варіанті 6 перевищувало контроль на 25,6%, проліферація – на 15,0%.

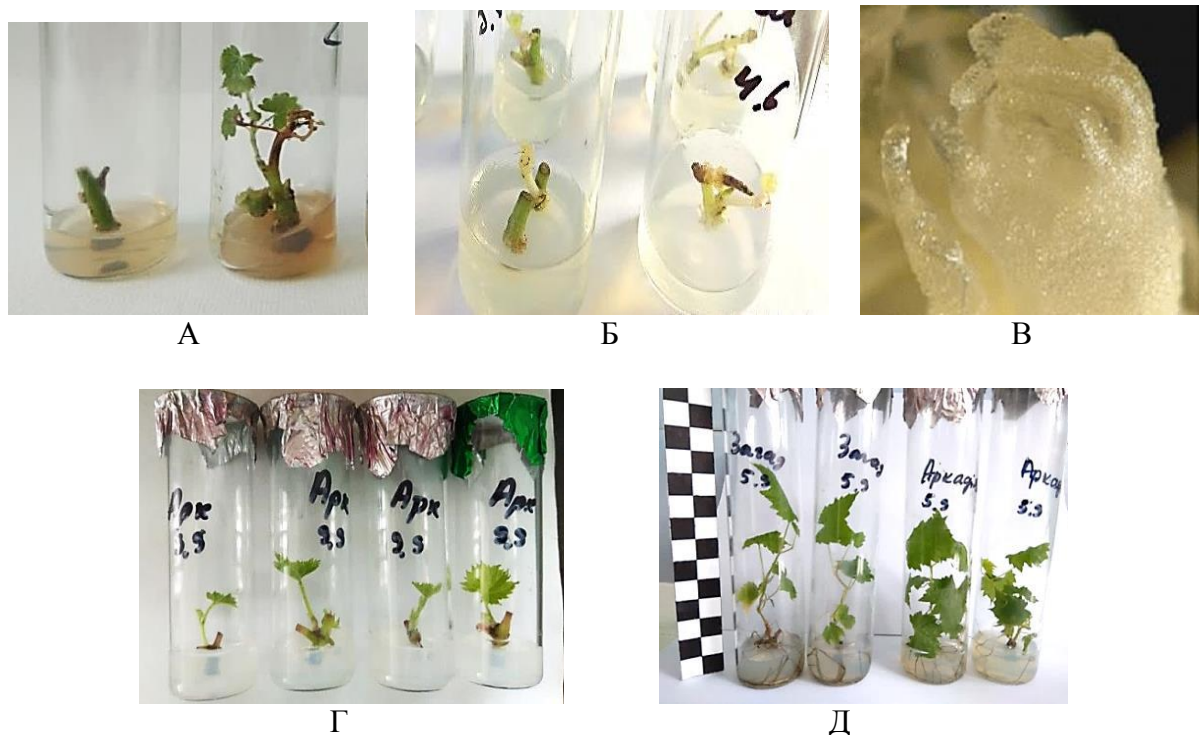


Рис. 1. Введення винограду в культуру in vitro: А. Експланти винограду з фенольним окисненням. Б. Проліферація етіюльованих експлантів винограду. В. Етіюльований експлант винограду (велике збільшення). Г. Експланти винограду на поживному середовищі з 3 мг/л аскорбінової кислоти через 25 діб після введення. Д. Мікроклони винограду через 60 діб після висаджування

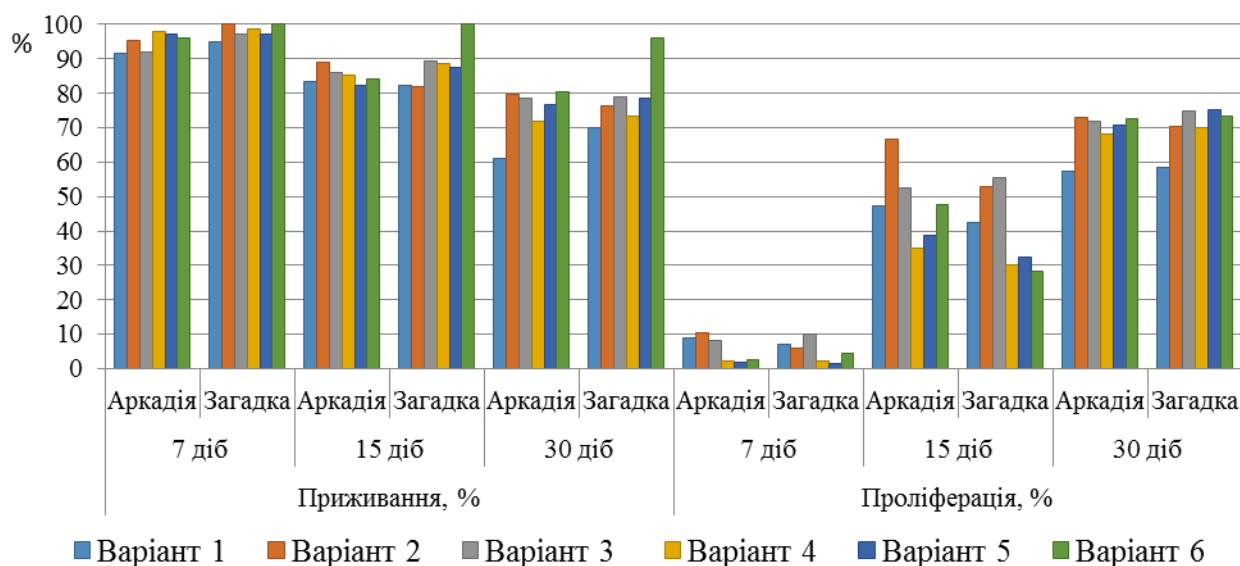


Рис. 2. Вплив антиоксидантів та етіюляції на приживання та проліферацію пазушних вічок експлантів винограду

Через 15 діб після висаджування експлантів на модифіковані поживні середовища вміст поліфенолів у зелених тканинах переважно був нижчим, ніж у контрольному варіанті (табл. 1). Зокрема, після етіюляції у тканинах експлантів сорту Аркадія кількість поліфенолів

зменшувалася на 22,1-29,8% порівняно з контролем, найменший показник був у варіанті 6. У сорту Загадка після етіюляції у тканинах експлантів поліфенолів також було менше – на 3,4-30,3% порівняно з контролем. Потім експланти культивували на світлі за звичного фотоперіоду і на 30-ту добу знову відбирали зразки. Визначили, що вміст поліфенолів у експлантів з розвиненими пагонами значно зростав – до 6,40-8,24 мг/г у сорту Аркадія та до 6,74-8,05 мг/г у сорту Загадка, що у 1,8-3,0 рази більше, ніж під час попереднього визначення. Візуальний огляд показав, що кількість експлантів з потемнілими тканинами та з потемнілим поживним середовищем у дослідних варіантах була незначною – до 5%, а у контрольному варіанті значно більше – до 52%.

Таблиця 1

Вміст поліфенолів (мг/г) у тканинах експлантів винограду

| Варіант | | Через 15 діб (одразу після етіюляції) | Через 30 діб |
|----------------------------------|----------------------------------|---|--------------|
| Аркадія | | | |
| Стандартне поживне середовище МС | Освітлення | 3,49 | 6,97 |
| МС+1,5 мг/л аскорбінової кислоти | | 2,72* | 7,23 |
| МС+3,0 мг/л аскорбінової кислоти | | 2,60* | 6,75 |
| Стандартне поживне середовище МС | Без освітлення (етіюляція) | 2,52* | 7,54* |
| МС+1,5 мг/л аскорбінової кислоти | | 2,72* | 8,24* |
| МС+3,0 мг/л аскорбінової кислоти | | 2,45* | 6,40 |
| Загадка | | | |
| Стандартне поживне середовище МС | Освітлення | 3,80 | 7,15 |
| МС+1,5 мг/л аскорбінової кислоти | | 3,50 | 7,89* |
| МС+3,0 мг/л аскорбінової кислоти | | 3,21 | 6,74 |
| Стандартне поживне середовище МС | Без освітлення (етіюляція) | 3,67 | 7,42 |
| МС+1,5 мг/л аскорбінової кислоти | | 3,05* | 8,05* |
| МС+3,0 мг/л аскорбінової кислоти | | 2,65* | 6,82 |
| НІР _{0,05} | | 0,35 | 0,45 |

Протягом наступних двох місяців відмітили, що майже у всіх дослідних варіантах рослини розвивалися краще порівняно з контролем. Висота стебла у них досягала 4,9-5,8 см, кількість листків – 4,0-4,8 шт./мікроклон, кількість коренів – 1,3-1,5 шт./мікроклон. У сорту Загадка кращими за розвитком були мікроклони у варіантах 2 і 3 – висота стебла та кількість листків у них були відповідно на 11,4-13,7% та 9,5-14,3% більшими, ніж у контрольному варіанті. У сорту Аркадія мікроклони на поживних середовищах з аскорбіновою кислотою були на рівні контролю за вище наведеними показниками. А при поєднанні прийому етіюляції з культивуванням на поживному середовищі з 3 мг/л аскорбінової кислоти

отримували рослини з довгими пагонами – на 9,4% більше, ніж у контролі, з більшою кількістю листків та міжвузлів (на 23,7% та 32,8% відповідно).

Порівнявши отримані результати з даними інших дослідників виявили, що і для експлантів рослин манго та орхідеї етіоляція була сприятливою для покращення життєздатності експлантів [14, 17]. Також відомо, що введення попередньо пророщених у темряві лоз винограду сприяло приживанню експлантів *in vitro*. Загальний вміст фенолів та активність поліфенолоксидази були різко знижені в етіюльованих пагонах. Приживання етіюльованих експлантів було кращим, ніж неетіюльованих, також були виявлені сортові відмінності [18]. Подібний вплив аскорбінової кислоти було відмічено і при введенні експлантів банана, ківі, персика та гранату [10-13].

Висновки

Найсприятливішим для приживлюваності та проліферації вічок експлантів винограду сортів Аркадія та Загадка було поживне середовище з 3 мг/л аскорбінової кислоти як за умов етіоляції, так і при освітленні з 12-годинним фотоперіодом. Вміст поліфенольних сполук у зелених тканинах дослідних експлантів цих варіантів був меншим, ніж у контролі, через 15 діб після введення по завершенню періоду етіоляції, а через 30 діб кількість поліфенолів зростала, що у поєднанні з гарними біометричними показниками мікроклонів свідчило про оптимальні умови росту та розвитку мікроклонів.

Список використаних джерел

1. Davies W. Effects of the Physical Environment / E. F. George et al. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht, The Netherlands: Wiley-Blackwell, 2008. Vol. 1. Pp. 423–464.
2. Чечуй О. Ф. Біохімія рослин: навчальний посібник. Харків: ХНАУ ім. В.В. Докучаєва, ХНАУ, 2021. 159 с.
3. Saengnil K., Lueangprasert K., Uthaibutra J. Control of enzymatic browning of harvested 'hong huay' litchi fruit with hot water and oxalic acid dips. *Science Asia*. 2006. Vol. 32(4). P. 345–350. DOI: <http://dx.doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2006.32.345>
4. Shimelis D., Bante K., Feyissa T. Effects of polyvinyl pyrrolidone and activated charcoal to control effect of phenolic oxidation on *in vitro* culture establishment stage of micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Advances in Crop Science and Technology*. 2015. Vol. 3(4). DOI: <https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000184>
5. Combating browning: mechanisms and management strategies in *in vitro* culture of economic woody plants / Liu C. et al. *Forestry Research*. 2024. Pp. e032 <https://doi.org/10.48130/forres-0024-0026>
6. Amente G., Chimdessa E. Control of browning in plant tissue culture. *Journal of Scientific Agriculture*. 2021. Vol. 5. Pp. 67-71. DOI: 10.25081/jsa.2021.v5.7266 <https://updatepublishing.com/journal/index.php/jsa>
7. Ko W. H., Su C. C., Chen C. L., Chao C. P. Control of lethal browning of tissue culture plantlets of Cavendish banana cv. Formosana with ascorbic acid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2009. Vol. 96(2). Pp. 137–141. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9469-7>
8. Traditional and next-generation methods for browning control in plant tissue culture: current insights and future directions / Permadi N. et al. *Current Plant Biology*. 2024. Vol. 38. P. 100339. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100339>
9. Reustle G., Natter I. Effect of polyvinylpyrrolidone and activated charcoal on formation of microcallus from grapevine protoplasts (*Vitis* sp.). *Vitis*. 1994. Vol. 33(3). Pp. 117–121.
10. Chai J. Browning Treatment in Tissue Culture of 'Hongyang' Kiwifruit. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*. 2018. Vol. 452(2). Pp. 02207. [https://doi.org/Tedesco S.; Pina A.; Fevereiro P.; Kragler F. A phenotypic search on graft compatibility in grapevine. *Agronomy*. 2020. Vol. 10. Pp. 706. /10.1088/1757-899X/452/2/022075](https://doi.org/Tedesco S.; Pina A.; Fevereiro P.; Kragler F. A phenotypic search on graft compatibility in grapevine. Agronomy. 2020. Vol. 10. Pp. 706. /10.1088/1757-899X/452/2/022075)

11. Anicezio L. C. Efeito de Antioxidantes e Descontaminantes no Estabelecimento de Explantes de Bananeira (*Musa spp*) in vitro. *Uniciências*. 2012. Vol. 16(1). Pp. 9-16. <https://doi.org/10.17921/1415-5141.2012v16n1p%25p>
12. Miller, G., Coston, D., Denny, E., & Romeo, M. In vitro propagation of ‘Nema-guard’ peach rootstock. *HortScience*. 1982. Vol. 17. Pp. 194. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
13. Patil V. M., Dhande G. A., Thigale D. M., & Rajput J. C. Micropropagation of pomegranate (*Punica granatum L.*) ‘Bhagava’ cultivar from nodal explant. *African Journal of Biotechnology*. 2011. Vol. 10(79). Pp. 18130-18136. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1437>
14. Anderson A. R. et al. Artificial light and growth regulators on the in vitro etiolation of *Cattleya labiata*. *Rev. Ciênc. Agron.* 2017. Vol. 48 (2). P. 296-302. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170034>
15. Zhou Q., Gao B., Li W.-F. et al. Effects of exogenous growth regulators and bud picking on grafting of grapevine hard branches. *Scientia Horticulturae*. 2020. Vol. 264. P. 109-86. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109186>
16. Marks T. R. Rhododendron cuttings. I. Improved rooting following ‘rejuvenation’ in vitro. *J. Hort. Sci.* 1991. Vol. 66. P. 103-111.
17. Sharma R. R., Singh S. K. Etiolation reduces phenolic content and polyphenol oxidase activity at the pre-culture stage and in vitro exudation of phenols from mango explants. *Trop. Agri.* 2002. Vol. 79. P. 94–99. <https://journals.sta.uwi.edu/ojs/index.php/ta/article/view/1365>
18. Sharma H. C., Sharma R. R., Goswami A. M. Effect of etiolation on polyphenol oxidase activity in shoots of grape and its subsequent in vitro survival. *Indian Journal of Horticulture*. 1995. Vol. 52 (2) P. 104-107. Print ISSN : 0972-8538.
19. Система сертифікованого виноградного розсадництва України: монографія / В. В. Власов та ін.; за наук. ред. В. В. Власова. Київ : Аграр. наука, 2015. 288 с. ISBN 978-966-540-404-0
20. Zelenyanska N. M., Gogulinska O. I., Borun V. V. The effect of antioxidants on the regenerative capacity of grapevine explants in vitro culture. *I International Scientific and Practical Conference «The latest modern Technologies and their implementation in life»*. Lyon, France, September 01-03, 2025 BOOK OF ABSTRACTS. Pp. 7-11. DOI: <https://eu-conf.com/en/events/the-latest-modern-technologies-and-their-implementation-in-life/>

*N. Zelenianska, Dr of Agr. Scs, O. Gogulinska., PhD of Agr. Scs,
M. Artiukh, PhD of Agr. Scs, V. Borun, PhD of Agr. Scs*

National Scientific Center “V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking”, Ukraine

APPLICATION OF ASCORBIC ACID AND ETIOLATION AT THE STAGE OF INTRODUCING GRAPE EXPLANTS INTO IN VITRO CONDITIONS TO INHIBIT THEIR PHENOLIC OXIDATION

Microclonal propagation of grapevine is an important practice in grapevine nursery production in many countries. However, in vitro cultivation of grapevine can present several difficulties. In particular, during the introduction of initial explants, a large amount of phenolic compounds is released from their tissues, which inhibits the plant regeneration processes under in vitro conditions and may often lead to culture death.

To address the problem of phenolic oxidation, various approaches are used, such as pre-soaking explants in antioxidant solutions, adding antioxidants and/or adsorbents to the nutrient medium, or cultivating explants in darkness for a certain period (etiolation). However, the effectiveness of these methods varies depending on the species and physiological state of the plant,

the type of explant, and therefore requires experimental verification for many agricultural crops, including grapevine.

The aim of this study was to determine the effectiveness of adding the antioxidant ascorbic acid to the nutrient medium and applying etiolation of explants at the stage of introducing grapevine into in vitro culture.

Introduction into in vitro culture and microclone cultivation were performed according to the standard method. The MS nutrient medium was supplemented with 1.5–3.0 mg l⁻¹ of ascorbic acid and/or the explants were kept in darkness for 15 days. It was found that the most favorable conditions for survival and proliferation of grapevine explant buds were achieved with a nutrient medium containing 3 mg l⁻¹ of ascorbic acid, both under etiolation and under light with a 12-hour photoperiod.

The content of polyphenolic compounds in the green tissues of experimental explants under these conditions was lower than in the control after 15 days of cultivation and completion of the etiolation period. After 30 days, the amount of polyphenols increased, which, together with favorable biometric indicators of microclones, indicated optimal growth and development conditions.

Keywords: grapevine explants, in vitro tissue culture, phenolic oxidation, ascorbic acid, etiolation, survival, bud proliferation, polyphenol content.