

ВПЛИВ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЦИТОКІНІНІВ І АУКСИНІВ НА РІСТ І РОЗВИТОК ЛАВАНДИ (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.) В УМОВАХ IN VITRO

Є.І. Георгієва, студент, lizaveta.georgieva21@gmail.com

Науковий керівник – к.т.н., доцент Юлевич О.І.

Миколаївський національний аграрний університет

В статті було розглянуто вплив кінетину, гіберелової кислоти на ріст і розвиток мікропагонів лаванди вузьколистої. А також вплив нафтилоцтової, індолілмасяної та індолілоцтової кислот у різних концентраціях на укорінення лаванди в умовах in vitro.

Ключові слова: лаванда вузьколиста, мікропагони, мікроживці, експлант, укорінення, мікрোকлональне розмноження, поживне середовище.

Постановка проблеми. Батьківщиною лаванди є регіон Середземномор'я (Франція, Іспанія, Андорра та Італія), але вона вирощується і в багатьох інших країнах світу. Лаванда вузьколиста *Lavandula angustifolia* Mill є однією з основних ефіроолійних рослин в Україні [1, 2].

Це багаторічний, вічнозелений сильно гіллястий напівчагарник, висотою 60-70см і діаметром 60-80см, відноситься до сімейства ясноткових (Lamiaceae). Листя темно-зеленого або сіро-зеленого забарвлення, ланцетовидної форми. На одному місці лаванда може рости 15 і більше років. Корінь потужний, гіллястий і мочкуватий. У нижній частині рослини гілки дерев'янисті, голі, щільно зімкнуті, в зв'язку з цим кущ має кулясту форму. Зміна гілок у лаванди в залежності від умов зростання спостерігається через 7-10 років, а також у разі їх вимерзання, що свідчить про здатність рослини швидко відновлюватися.

Лаванда (*L. angustifolia*) містить ефірну олію, антоціаніни, фітостероли, цукор, мінерали, кумарову кислоту, гліколеву кислоту, валеренову кислоту, урsoleву кислоту, герніарін, кумарин та дубильні речовини. В останні роки створені сорти лаванди: Рекорд, Степова, Синєва і Ізіда [3].

Квітки і суцвіття як сировина для одержання лавандової олії входять до фармакопей 16 країн світу. Лавандову ефірну олію застосовують у парфумерно-косметичній для створення композиції духів, одеколонів, харчовій, фармацевтичній, миловарній та інших галузях промисловості [1, 2]. У фармацевтичній промисловості олію лаванди включають до складу лікарських препаратів антисептичної, заспокійливої, знеболювальної та спазмолітичної дії, а також для покращення запаху ліків [4].

Широке використання лавандової ефірної олії зумовлює потребу в отриманні якісного генетично однорідного садивного матеріалу. Ефективним методом щодо його отримання є клональне мікророзмноження на основі культури апікальних меристем *in vitro* [1].

В Україні лаванда вирощувалась як ефіроолійна рослина в Криму і Карпатах. Аналіз біологічних особливостей лаванди вузьколистої показує, що перспективним регіоном для її вирощування є зона південного Степу України. Лаванда світлолюбна, посухостійка і теплолюбна рослина. У той же час характеризується високою морозостійкістю [1].

Сьогодні на півдні України з'являються невеликі підприємства, які освоюють цей напрям. Одне таке виробництво є на кордоні Херсонської та Миколаївської областей [5].

Основною проблемою розмноження лаванди *in vitro* є визначення складу живильних середовищ, а саме оптимальної концентрації ауксинів і цитокінінів для нормального росту і розвитку регенерантів. Ця проблема є дуже важливою як і з наукової, так і з практичної точки зору і вимагає детального вивчення.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дослідження залежності росту експлантів від виду фітогормонів та їх концентрації проводились різними авторами. Серед них є вітчизняні (Латушкіна Т.М. та Єгорова Н.А.) [6, 9] та іноземні (Tran Van Minh, Hamza A. M.) вчені [7, 8].

На основі проведених досліджень Латушкіної Т.М. та Єгорової Н.А. визначено, що оптимальним для індукції морфогенезу та власне мікророзмноження *in vitro* ізольованих апікальних меристем *Lavandula*

angustifolia Mill. сортів Синєва, Степова є агаризоване живильне середовище МС (Murashige-Skoog, 1962) [10], доповнене кінетином і гібереловою кислотою (ГК) [6, 9]. Також у працях Єгорової Н.А. показано можливість і доцільність виключення зі складу середовища МС на етапі мікророзмноження *L. angustifolia* окремих компонентів (гліцину, інозиту) і зниження вдвічі концентрації макро- і мікроелементів, сахарози і вітамінів, що дозволяє без істотної зміни основних показників розвитку меристемних культур зменшити вартість живильного середовища [9]. В'єтнамськими вченими було встановлено, що середовище WPM (Lloyd & McCown, 1980) є кращим для росту та розвитку лавандових пагонів [7]. В ході дослідів єгипетських вчених було встановлено, що найсприятливішим на етапі розмноження буде повне середовище МС з додаванням цукрози у концентрації 30 г/л і тидіазурону у концентрації 0,20 мг/л [8].

Постановка завдання. Наразі є актуальним проведення досліджень з метою визначення впливу концентрацій фітогормонів на ріст і розвиток місцевих сортів лаванди вузьколистої *in vitro* і встановлення оптимального складу живильних середовищ для розмноження та укорінення.

Матеріали і методика. Об'єктом досліджень була лаванда сорту Каховка. Дослідження проводилося в три етапи. На першому – мікророзмноженні, було перевірено ефективність використання середовищ, запропанованих Латушкіної Т.М. На другому – здійснювалась оцінка придатності середовищ різного складу для укорінення зразків, отриманих в процесі мікророзмноження. На третьому – визначалась результативність укорінення живців у субстраті.

Для мікророзмноження лаванди сорту Каховка використовувалось середовище МС, доповнене кінетином (1,0 мг/л) і ГК (1,0 мг/л). Експланти культивували в термостатованій культуральній кімнаті при температурі 25-26°C, освітленості 2-3 клк, відносній вологості повітря 60-70 %. Для аналізу враховувались такі дані: частота регенерації (%); висота основного пагону (мм); кількість пар листків (шт.); коефіцієнт розмноження.

Для укорінення лаванди сорту Каховка використовувалось середовище ½ МС доповнене індолілоцтовою кислотою (ІОК), індолілмасляною кислотою (ІМК) у концентрації по 0,5 мг/л. Для аналізу враховувались такі дані: вкорінення (%); число коренів; довжина коріння (мм).

Живці лаванди сорту Каховка довжиною 4-5 см висаджували на укорінення в теплицю. Живці вкорінювались в субстраті, що складається з суміші – торф : перліт: ґрунт : пісок 2 : 1 : 1 : 1.

Результати досліджень. Під час першого досліду виявилось, що на етапі мікророзмноження середовище МС, доповнене кінетином (1,0 мг/л) і ГК (1,0 мг/л) є придатним для лаванди сорту Каховка (табл. 1).

Таблиця 1

Залежність розвитку меристемних рослин лаванди від сорту

Сорт, зразок	Частота регенерації, %	Висота основного пагону, мм	Кількість пар листків, шт.	Коефіцієнт розмноження
Синєва*	100,0	19,33±2,05	4,64±0,58	1:12,42
Степова*	100,0	42,98±4,23	7,03±0,82	1:10,06
Каховка	100,0	35,5±5,50	6,5±1,50	1:7,50

*За даними Латушкіної Т.М.

Розвиток різних сортів лаванди на даному середовищі відбувається не однаково, але в усіх випадках отримано позитивні результати. Відповідно до коефіцієнту розмноження, лаванда сорту Каховка (рис. 1) поступається сортам Синєва та Степова.

У другому досліді середовище для укорінення лаванда сорту Каховка за прописом Латушкіної Т.М. не дало бажаного результату [6]. Було з'ясовано, що додавання ІОК у кількості 0,5 мг/л провокує калусоутворення, а концентрація Fe-халату (10 мг/л) сприяє швидкому росту пагонів, що не є вигідним, оскільки

коріння з'являється тільки через 2,5 місяці, а пагони заповнюють всю висоту банки, для культивування, значно раніше.



**Рис.1. Регенеранти лаванди сорту Каховка
на етапі мікророзмноження**

При використанні цього середовища коріння майже не утворювалось, тому було запропоноване нове середовище : макросолі – 25 мл/л; мікросолі – 1 мл/л; вітаміни – 1 мл/л; Fe-хелат – 5 мл/л; аскорбінова кислота – 1 мл/л; агар – 6,5 г/л; сахароза – 20 г/л; гліцин – 100 мкл/л; ІМК – 1,5 мг/л; мезоінозит – 0,1 г/л. Тип і концентрація ауксину були підібрані на основі іноземних досліджень [7, 8].

В'єтнамськими вченими було показано, що ІМК та нафтилоцтова кислота (НОК), не підходять для індукції коренеутворення. При концентрації ІМК (0,5 мг/л) коренева індукція була найкращою – 2,60 коренів з довжиною 1,65 см [7]. Аналіз даних єгипетських досліджень показав, що для укорінення лаванди вузьколистої *in vitro* доцільно застосовувати $\frac{1}{2}$ МС середовище з ІМК у концентрації 2 мг/л [8] (табл. 2).

Вплив типу середовища і концентрації ауксину на розвиток коренів лаванди різних сортів

Тип середовища	Тип ауксинів	Концентрація ауксину (мг/л)									
		0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00
		Число коренів					Довжина коренів (мм)				
МС повне*	НОК	0,00	9,43	15,54	-	7,22	0,00	5,1	9,04	-	3,13
	ІМК	0,00	4,47	5,61	-	6,53	0,00	17,42	32,11	-	51,14
½ МС*	НОК	2,17	12,05	21,25	-	15,26	6,43	8,23	15,76	-	8,54
	ІМК	2,17	6,24	8,03		11,86	6,43	25,34	45,74		60,63
½ МС**	ІМК	-	-	-	9,5	-	-	-	-	46,8	-

*За даними Намза А. М. для лаванди сорту Манстед

** За результатами власних досліджень для лаванди сорту Каховка

Скореговане середовище містило в 2 рази менше Fe-хелату, концентрація сахарози була збільшена на 5 г/л, ІОК була виключена із складу середовища, а концентрація ІМК була збільшена на 1мг/л. Через фітонцидні властивості лавандової олії, мікроживці практично не уражались грибковими інфекціями. На скорегованому середовищі утворювалось коріння з довжиною 4-5 см (рис.2).

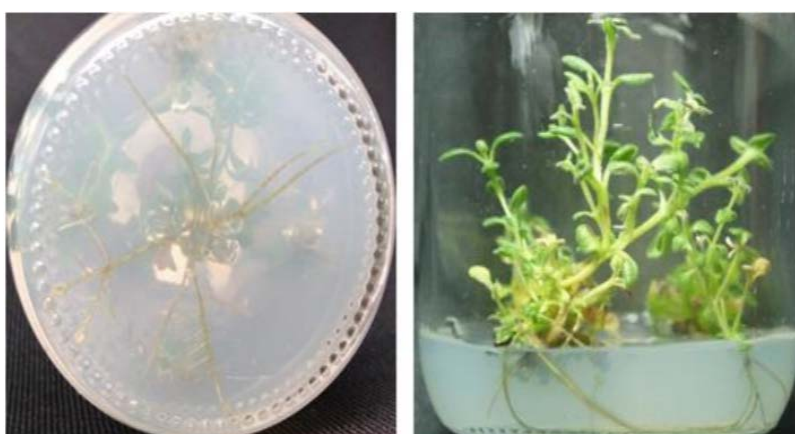


Рис.2. Укорінення регенерантів лаванди сорту Каховка

Під час третього етапу досліджень живці довжиною 4-5 см висаджували на укорінення в теплицю. Живці вкорінюються в субстраті, що складається з суміші – торф : перліт: ґрунт : пісок 2 : 1 : 1 : 1. Полив живців проводився за

допомогою автоматичної туманоутворюючої установки. Перші 25-30 днів дрібнодисперсний розпил води проводився протягом 30 секунд з інтервалом 5 хвилин. Після утворення коренів інтервал між зволоженнями збільшували.

У процесі висадки живців лаванди сорту Каховка у субстрат, виявилось, що регенеранти, отримані на середовищі для укорінення, яке містило ІОК і ІМК в концентрації по 0,5 мг/л, і не мали коріння адаптувались до умов *in vivo* з виживаністю 50%. Адаптації регенерантів з розвиненими коренями складала 85%. Дана властивість мікроживців лаванди сорту Каховка ще досконало не вивчена. Однак, подальші дослідження щодо вдосконалення складу субстрату і покращення процесів адаптації і укорінення живців без коренів, надасть можливість зберегти цінні зразки, збільшити кількість адаптованих рослин та зменшити витрати при мікроклональному розмноженні лаванди.

Висновки і перспективи подальших досліджень. В результаті досліджень процесів розмноження лаванди сорту Каховка *in vitro*, були встановлені оптимальні концентрації ауксинів і цитокінінів у живильних середовищах для власне мікророзмноження і укорінення. Оптимальним середовищем для мікророзмноження є агаризоване живильне середовище МС, доповнене кінетином (1,0 мг/л) і ГК (1,0 мг/л). Для укорінення – середовище ½ МС з концентрацією Fe-хелату – 5мл/л, сахарози – 20 г/л, ІМК – 1,5 мг/л. Вигідною особливістю при адаптації живців лаванди сорту Каховка до умов *in vivo* виявилась приживаність їх при відсутності коренів у 50% випадків, та утворення коренів у субстраті, що складається з суміші – торф : перліт: ґрунт : пісок 2 : 1 : 1 : 1. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на вивчення особливостей процесу адаптації живців лаванди інших сортів та підбір для них оптимального субстрату.

Список використаних джерел

1. Манушкіна Т. М. Морфогенетичні реакції *Lavandula angustifolia* Mill. у культурі ізольованих апікальних меристем *in vitro* / Т. М. Манушкіна // Вісник Уманського національного університету садівництва. – 2014. – № 2. – С. 95–99.

2. Prusinowska R. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review / R. Prusinowska, K. Śmigielski. // *Herba polonica*. – 2014. – Vol. 60 № 2. – С. 56–66.
3. Бугаенко Л. А. Способы размножения лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) / Л. А. Бугаенко, Т. Н. Манушкина. // *Научный журнал КубГАУ*. – 2015. – №108 (04). – С. 1–11.
4. Латушкіна Т. М. Перспективи використання та особливості розмноження в культурі *in vitro* *Lavandula angustifolia* Mill. / Т. М. Латушкіна, А. В. Дробітько // *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. – 2007. – Вип. 2. – С. 223–227.
5. Эфирномасличное производство: из Крыма на Херсонщину [Электронный ресурс]. – Электрон. текст. дані. – Режим доступа до ресурсу: <http://nk-online.tv/efirnomaslichnoe-proizvodstvo-iz-kryima-na-hersonshhinu/> – Назва з екрану
6. Латушкіна Т. М. Клональне мікророзмноження і оздоровлення лаванди *in vitro* : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 06.01.14 "насінництво" / Т. М. Латушкіна – Сімферополь, 2006. – 24 с.
7. Tran Van Minh Micropropagation of lavender (*Lavandula angustifolia*) / D. Tien, M. ThiPhuon, P. Cao, T. Van. // *JIPBS*. – 2017. – Vol 4 (2). – С. 7–11.
8. Hamza A. M. Direct micropropagation of English lavender (*Lavandula angustifolia* Munstead) plant / A. M. Hamza, M. A. Omaina, M. M. Kasem. // *J. Plant Production*. – 2011. – Vol. 2 (1) – С. 81–96.
9. Егорова Н. А. Влияние состава питательной среды на микроразмножение лаванды *in vitro* / Н. А. Егорова. // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. – 2013. – Т. 15, № 3 (5) – С. 1601–1605.
10. Murashige T. A Revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant*. – 1962. – №15. – P. 473-497.