

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL

Т.М.Латушкіна, кандидат сільськогосподарських наук

А.В.Дробітько, кандидат сільськогосподарських наук

Миколаївський державний аграрний університет

Досліджено морфогенетичні потенції ізольованих апікальних меристем лаванди в культурі in vitro. Оптимізовано умови культивування на етапах власне мікророзмноження, укорінення мікропагонів, адаптації мікророслин до умов in vivo. Розроблено технологію клонального мікророзмноження лаванди.

Постановка проблеми. Лаванда вузьколиста (*L. angustifolia*) є однією з основних ефіроолійних рослин, що культивуються в світі. Ефірна олія та суцвіття лаванди широко використовуються в парфумерно-косметичній, фармацевтичній, харчовій промисловості та інших галузях. Лавандову ефірну олію або її компоненти застосовують для створення композицій духів, одеколонів, промислового синтезу душистих речовин, при виготовленні косметичних і гігієнічних засобів. У фармацевтичній промисловості олію лаванди включають до складу лікарських препаратів антисептичної, заспокійливої, знеболювальної та спазмолітичної дії, а також для покращення запаху ліків. В народній медицині лавандова олія використовується для лікування мігрені, неврозів, гнійних та опікових ран, хвороб дихальних шляхів, грипу, ревматизмів, порушень шлунково-кишкового тракту [1, 2].

В харчовій промисловості вона застосовується при виготовленні сиропів в лікерному виробництві, для ароматизації вин. Квітки та листки лаванди використовують для приготування салатів, желе, морозива, чаїв, м'ясних і рибних страв [3]. Лаванда — цінний медонос. З одного гектару плантацій збирають до 150 кг меду з гарним смаком, ароматом і лікувальними властивостями [1].

Лаванда є ефективною протиерозійною рослиною, а також кращою культурою для вирощування на рекультивованих землях. Вигідна лаванда також тим, що культивується, в основному, на

недостатньо родючих, щербенистих ґрунтах, де інші культури дають низькі урожаї [1]. Лаванда також представляє інтерес як декоративна бордюрна рослина. За кордоном виведено декоративні сорти лаванди: *'Hidcote'* — з темно-пурпуровими квітками і сіро-зеленими листками, *'Munstead'* з ліловими квітками і зеленими листками, *'Alba'* з білими квітками, *'Loddon Pink'* з яскраво-рожевими квітками [4]. Садова форма лаванди *'Nana'* використовується в ландшафтній архітектурі для створення “садів на даху”.

В Україні вирощування лаванди та одержання ефірної олії зосереджене в Криму. Однак розширення насаджень лаванди стримується відсутністю посадкового матеріалу. Єдиним шляхом вирішення цієї проблеми є розробка більш інтенсивних методів розмноження замість традиційного живцювання, зокрема, клонального мікророзмноження в культурі *in vitro*.

Стан вивчення проблеми. В теперішній час в літературі виявлена досить обмежена кількість робіт, пов'язаних з біотехнологічними дослідженнями роду *Lavandula L.* Більша частина літературних даних присвячена вивченню процесів калусо- і морфогенезу, а також накопичення вторинних метаболітів в клітинних культурах лаванди. Дослідження з клонального мікророзмноження лаванди на основі культури апікальних меристем проводилися Н.І. Мещеряковою і Г.А. Сарнецьким [5], Н.О. Єгоровою [6], Б.Ш. Алімгазіною та К.Д. Рахімовим [7]. Аналіз публікацій свідчить про видову та сортову специфічність морфогенетичних реакцій ізольованих меристем лаванди.

Завдання і методика досліджень. Мета досліджень — вивчити особливості морфогенезу в культурі ізольованих меристем *in vitro* та розробити технологію клонального мікророзмноження лаванди. У процесі досліджень вивчали особливості морфогенезу ізольованих апікальних меристем лаванди в культурі *in vitro*, визначали вплив ендо- та екзогенних факторів і підбирали оптимальні умови для розвитку експлантів на чотирьох етапах клонального мікророзмноження: ізолювання експланту, введення і ініціація його розвитку в умовах *in vitro*; власне мікророзмноження; укорінення мікропагонів; адаптація мікророслин до умов *in vivo*.

Матеріалом для проведення досліджень служили рослини лаванди вузьколистої *Lavandula angustifolia* Mill. сортів Степова і Синєва та перспективних селекційних зразків 337-9 і 310-17. Донорні рослини вирощували в умовах закритого ґрунту. Як експланти використовували апікальні меристеми висотою 0,2-1,0 мм, які виділяли з верхівкових та пазушних бруньок стебла однорічних рослин. Стерилізацію експлантів проводили послідовним витриманням фрагментів пагонів у 70% етанолі 40 секунд, 50% розчині препарату “Брадофен” 12 хвилин, і тричі промивали в автоклавованій дистильованій воді. При проведенні експериментальної роботи застосовували загальноприйняті методи в культурі ізольованих тканин рослин. Для культивування ізольованих меристем та мікроживців використовували як базове живильне середовище Мурасиге і Скуга (МС). На кожному з етапів клонального мікророзмноження модифікували гормональний склад живильних середовищ відповідно до необхідного шляху морфогенезу, доповнюючи їх кінетином, бензіламінопурином (БАП), гібереловою кислотою (ГК), нафтілоцтовою кислотою (НОК), індолілоцтовою кислотою (ІОК), індолілмасляною кислотою (ІМК). Експланти культивували в термостатованій культуральній кімнаті при температурі 25-26°C, освітленості 2-3 клк, відносній вологості повітря 60-70%. Математичну обробку результатів досліджень проводили з використанням методів математичної статистики на персональному комп’ютері за допомогою програми Excel 7.0 з пакету прикладних програм Microsoft Office для Microsoft Windows®.

Результати досліджень. Дослідження показали, що ступінчата стерилізація рослинного матеріалу лаванди забезпечувала вихід стерильних меристем на рівні 100,0%, приживлюваність меристем складала 96-100%. Оптимальним для **ініціації розвитку меристем** визначено живильне середовище МС, доповнене кінетином (1,0 мг/л) і ГК (1,0 мг/л) — МС5, на якому частота регенерації складала 100%, розвивався основний пагін висотою 19,33-42,98 мм і 3,03-7,81 шт. додаткових пагонів. Коефіцієнт розмноження на першому етапі клонального мікророзмноження складав: у сорту Синєва — 1:12,42, у сорту Степова — 1:10,06, у зразку 337-9 — 1:8,55, у зразку 310-17 — 1:7,18.

На етапі **власне мікророзмноження** лаванди як експланти використовували мікроживці, які одержували при розділенні основного пагону меристемних рослин на фрагменти довжиною 4-8 мм з однією парою листків та відокремленні додаткових пагонів довжиною 4-8 мм з однією парою розгорнутих листків. Найбільш оптимальний розвиток мікропагонів відбувався на живильному середовищі МС5. Частота утворення додаткових пагонів коливалася в широких межах — від 33,1% до 94,8%. Для одержання максимальної кількості мериклонів при подальшому субкультивуванні поєднували мікроживцювання основних пагонів та відділення додаткових пагонів. Генотипічні особливості сортів та зразків обумовлювали різну інтенсивність ростових процесів і, як наслідок, різні коефіцієнти розмноження: у сорту Синева — 1:11,12, у сорту Степова — 10,42, у зразку 337-9 — 1:11,83, у зразку 310-17 — 1:6,72.

Найбільш ефективним для **укорінення мікропагонів** лаванди визначено живильне середовище $\frac{1}{2}$ МС, доповнене ІМК та ІОК в концентрації по 0,5 мг/л — МС18, на якому частота укорінення становила 100,0% у сортів Синева, Степова і у зразку 337-9, та 85,0% у зразку 310-17. Для **адаптації мікророслин до умов *in vivo*** відбирали мікророслини лаванди з добре розвиненою кореневою системою і висаджували в горшечки об'ємом 200 мл зі стерильним субстратом різного складу. Горшечки з рослинами розміщували під плівковим укриттям і культивували при температурі 18-20°C і постійному зволоженні. Найвища приживлюваність мікророслин всіх генотипів — 95,0-100,0% була забезпечена на субстраті торф: перліт: ґрунт: пісок у співвідношенні 2:1:1:1. Визначено, що для адаптації меристемних рослин лаванди до умов *in vivo* достатньо періоду 14 днів, за які формується 2-3 пари листків. Після періоду адаптації плівкове укриття знімали і рослини культивували в звичайних умовах ще 46 днів. Меристемні рослини лаванди мали типові для сортів та зразків морфологічні ознаки: форму куща, листків, суцвіття, забарвлення квіток. У жодному випадку у мериклонів не було відмічено морфологічних відхилень від норми.

В середньому за рік можна провести етап введення, чотири пасажі на етапі власне мікророзмноження, етапи укорінення мікропагонів і адаптації до умов *in vivo*. Сумарний вихід саджанців з

однієї меристеми за рік складав: у сорту Синєва — 208 тис. шт., у сорту Степова — 119 тис. шт., у зразку 337-9 — 149 тис. шт., у зразку 310-17 — 23 тис. шт.

Висновки та пропозиції. Одержані дані показують високу ефективність методу клонального мікророзмноження на основі культури меристем *in vitro*, що особливо важливо для одержання великої кількості посадкового матеріалу в стислі строки при обмеженій кількості маточних рослин нових сортів для швидкого впровадження їх у виробництво та розмноження унікального селекційного матеріалу.

Перспектива подальших досліджень. В ході проведення досліджень детально вивчено особливості розвитку меристемних рослин М₀ в умовах закритого ґрунту і показано, що при використанні їх як маточних збільшувався вихід живців та частота їх укорінення у порівнянні з маточними рослинами, одержаними традиційним методом живцювання. Перспективою подальших досліджень є вивчення в польових умовах особливостей розвитку, продуктивності та якості ефірної олії у меристемних рослин лаванди та одержаних при висаджуванні елітного і репродукційного посадкового матеріалу від розмноження М₀.

ЛІТЕРАТУРА

1. Назаренко Л.Г., Бугаєнко Л.А. Эфиромасличные, пряно-ароматические и лекарственные растения. – Симферополь: Таврия, 2003.
2. Buchbauer G., Jirovetz L., Jaeger W., Dietrich H., Plank C., Karamat E. Aromatherapy: Evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation // Zeitschrift Fuer Naturforschung. Section C Biosciences. – 1991. – 46 (11-12).
3. Либусь О.К., Работягов В.Д., Кутько С.П., Хлыпенко Л.А. Эфирномасличные и пряноароматические растения: Научно-популярное издание. – Херсон: Айлант, 2004.
4. Курганская С.А. Лаванда // Цветоводство. – 1993. – №2.
5. Мещерякова Н.И., Сарнецкий Г.А. Перспективы использования метода меристематических верхушек *in vitro* в селекции эфиромасличных растений // Основные направления научных исследований по интенсификации эфиромасличного производства: Тез. докл. и сообщений Всесоюзного научно-технического совещания. – 1985.
6. Егорова Н.А. Микроразмножение лаванды *in vitro* // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. Біологія. – 2002. – №9 (1).
7. Alimgazinova V.Sh. New technologies in plant breeding // Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье: Труды VIII Междунар. симп. – Симферополь, 1999.