

ИНИЦИАЦИЯ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.)

А.А. Шишонок, А.О. Логвина

Белорусский государственный университет, Минск, lohvina@bsu.by

В настоящее время биотехнология активно развивается и как наука, и как самостоятельное направление в производстве. Преимущественно выделяют три ветви: генная инженерия и молекулярная биология, микробиология, культура клеток и тканей растений в условиях *in vitro*.

Метод культуры клеток, тканей и органов растений является одним из главных инструментов современной биотехнологии. В его основе лежит свойство тотипотентности [1], то есть способности отдельных растительных клеток развиваться до целого растения. Благодаря данной технологии стало возможно решение многих практических проблем физиологии, биохимии и генетики растений, а также создание биологических моделей для изучения процессов, протекающих в клетках и вне организма растений.

На основе этого метода проводятся работы с каллусными культурами растений. Каллус – это вид ткани, состоящий из однородной популяции паренхимных клеток. Их особенностью является дедифференцированное состояние, которое определяет их тотипотентность, то есть способность путем интенсивного деления и вторичной дифференцировки дать начало целому растению или его отдельным тканям и органам.

В процессе образования каллусных культур помимо изменений на уровне генов изменяется и белковый состав клеток. Синтезируются некоторые специфические белки, а другие, соответствующие выбранному эксплантату, исчезают. Так, клетки теряют запасенные липиды и крахмал, аппарат Гольджи подвергается разрушению, происходят изменения в эндоплазматической сети и структурах цитоскелета. Клетки, способные к фотосинтезу, лишаются хлорофилла [2].

В естественных условиях каллусы образуются в результате механических повреждений, вмешательства микроорганизмов или насекомых. Главными функциями каллуса является защита и накопление питательных веществ для последующего восстановления поврежденной структуры.

Для образования каллуса в условиях *in vitro* необходимо обеспечить контакт экспланта (фрагмента растительной ткани) со средой, содержащей стимулирующие химические вещества [3]. Индуцировать процесс образования каллусной ткани можно из клеток специализированных органов растения, таких как лист, стебель, корень и семядоли. Также образование каллуса возможно из тканей растения: меристемных, покровных, проводящих, основных, выделительных, механических. Обязательным условием является дедифференцировка клеток – утрата их специализации и приобретение способности к делению.

Для успешного культивирования каллусных культур необходимо учитывать, что клетки сохраняют физиологические и биохимические особенности целого растения. Это следует учитывать при установлении состава питательной среды, на которой предполагается культивирование будущих каллусов. Чтобы обеспечить деление клеток в каллусной культуре, в составе питательной среды необходимо присутствие ауксинов и цитокининов в близких концентрациях или 1:1.

Перспективным на данный момент объектом изучения в данной области является лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* L.). Одним из наиболее актуальных направлений исследований является получение эфирного масла, содержащего ценные лекарственные соединения и обладающего приятным ароматом. Благодаря данным свойствам оно широко используется в пищевой, косметической и фармацевтической отраслях.

Растения рода Лаванда относятся к семейству яснотковых (*Lamiaceae* или *Labiatae*) [4]. Ареал распространения данных растений достаточно широк. Хотя родиной растения являются Франция и Испания, в настоящее время лаванда растет по всей Европе, Северной Африке, Северной Америке, Индии, Австралии, России, на побережье Черного и Средиземного моря, встречается на Канарских островах.

Это травы, полукустарники или кустарники; листья супротивные, линейные или линейно-ланцетные, опушенные, чаще всего с завернутыми краями. Растения рода Лаванда отличаются голубыми, фиолетовыми, розовыми или белыми двуполыми цветками с сильным запахом. Цветки располагаются на концах побегов и собраны в колосовидные соцветия. Плод имеет вид эллипсоидного орешка темно-бурого цвета [4]. В составе рода насчитывают около 47 видов и несколько выведенных гибридов.

Одним из представителей рода является лаванда узколистная (лат. *Lavandula angustifolia* Mill.) [5] (рис. 1). Это вечнозеленый, сероватый от опушения полукустарник высотой в среднем от 30 до 60 см, самые высокие формы достигают 100 см. Важной особенностью с точки зрения ботаники является отсутствие главного корня и наличие деревянистого, в верхней части ветвистого корневища.



Рисунок 1. – Общий вид *Lavandula angustifolia* в период цветения [6]

Ввиду целебных свойств лаванду использовали еще в Древней Греции и Древнем Риме. Позднее, во время Первой мировой войны лавандовое эфирное масло часто использовали как антибактериальное средство [7]. В Англии во Вторую мировую войну эфирное масло, выделенное из лаванды, применяли как дезинфицирующее средство для обработки ран [8].

Однако, несмотря на широкое применение с древних времен, лавандовое масло серьезно стали изучать и вводить в промышленное производство сравнительно недавно. Традиционно считается, что масло *Lavandula angustifolia* обладает седативными, обезболивающими, антидепрессивными, противогрибковыми, антибактериальными, противовоспалительными свойствами [7]. Современные исследования подтвердили многие из этих свойств и изучают новые.

Лаванда узколистная является важной эфиромасличной и лекарственной культурой, имеющей большой коммерческий потенциал. Одним из наиболее перспективных направлений является получение эфирного масла, в котором содержатся не только ценные лекарственные соединения, но и обладающие приятным ароматом вещества. Как правило, в свежих соцветиях *Lavandula angustifolia* содержание эфирного масла сравнительно невелико: 0,6-4,0 %. Однако в пересчете на сухую массу значение может увеличиться до 11 % [6].

Свойства лаванды как эфиромасличной культуры имеют значительный практический интерес и представляют фундаментальное значение для развития современной промышленности. Таким образом, лаванда является перспективным объектом для исследований в области клеточных культур, в том числе каллусных.

Для инициации каллусной культуры лаванды узколистной использовались асептически выращенные на питательной среде МС (Мурасиге и Скуга) [9] проростки *Lavandula angustifolia* сорта

«Снежный колос». В ходе культивирования проростков на безгормональной среде МС с использованием 3 %-ой сахарозы в виде источника углерода и агар-агара в концентрации 8 г/л в качестве уплотняющего агента было замечено появление каллусных клеток. В основании проростков формировалась каллусная ткань. Для поддержания каллуса его переносили на питательные среды МС, дополненные регуляторами роста цитокининов 6-бензиламинопурином (6-БАП) и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д) в пяти вариациях концентраций: 0,1 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП; 0,3 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП; 0,5 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП; 1,0 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП; 1,5 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП. Опыт был проведен в трех повторностях для каждого варианта концентрации.

Целью эксперимента было нахождение оптимальной концентрации 2,4-Д для роста культуры. Концентрация 6-БАП оставалась неизменной, так как в ходе предыдущих работ было обнаружено, что данный гормон нужен для поддержания жизни культуры, но не влияет на ростовые показатели.

По результатам исследования было установлено, что наиболее эффективными для роста каллусной культуры лаванды узколистной являются концентрации 0,3 мг/л и 0,5 мг/л 2,4-Д, так как именно на данных концентрациях отмечался наилучший прирост биомассы клеток (рис. 2).

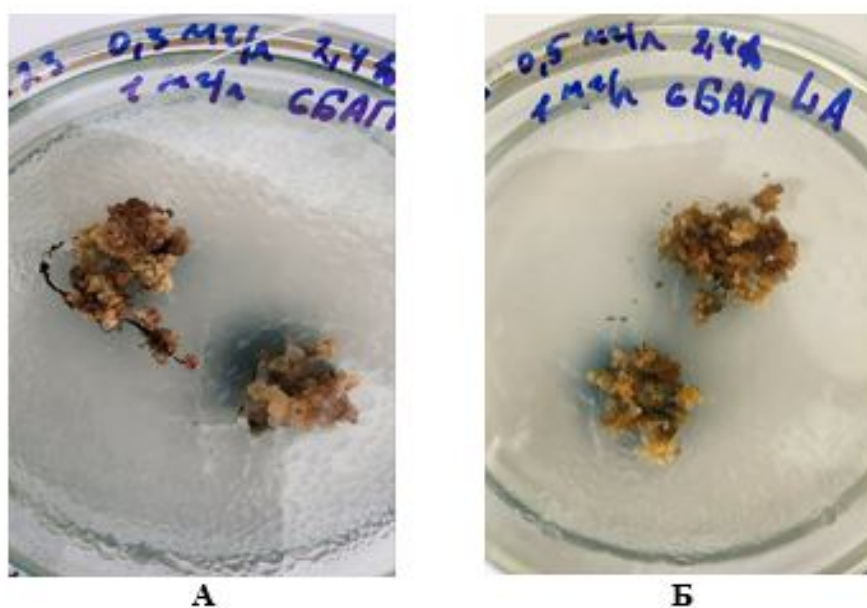


Рисунок 2. – Вид каллусной культуры *Lavandula angustifolia*, выращенной на средах, дополненных 0,3 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП (А) и 0,5 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП (Б)

Примечательно, что на всех вариантах сред отмечалось посинение питательной среды вокруг фрагментов каллусной ткани (рис. 3), при этом в питательные среды не вносились красящие компоненты или индикаторы. Предположительно, посинение питательной среды может объясняться выделением фенольных соединений каллусными клетками.



Рисунок 3. – Общий вид фрагмента каллусной ткани *Lavandula angustifolia*, окрасившего среду в синий цвет

Ввиду большой практической значимости лаванды узколистной и актуальности изучения различных свойств ее каллусной культуры для развития разных направлений современной промышленности, планируется проведение дальнейших работ по оптимизации состава питательных сред для культивирования каллусных клеток лаванды, а также по изучению ее биохимического состава.

Список использованных источников

1. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе: учеб. пособие / Бутенко Р. Г. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
2. Ермишин, А. П. Биотехнология растений и биобезопасность : пособие / Ермишин А.П., Воронкова Е. В. – Минск: БГУ, 2015. – 359 с.
3. Yeoman, M. M. Early Development in Callus Cultures / M. M. Yeoman // International Review of Cytology. – Elsevier, 1970. – Vol. 29. – P. 383-409.
4. Гунько, Г. К. Лаванда настоящая : С 11 рис. : (Душистые растения/ Агробюро Всесоюзного маслосемянно-жирового синдиката) / Г. К. Гунько, Григорий Кузьмич 34, [2] с. : ил., черт.; 17х13 см. – 2010.
5. Botansko-farmakognostičeskij Slovař / ред. К.Ф. Blinova, G.P. Jakovlev. – Moskva: Vysšaja Škola, 1990. – 270 с.
6. Современное состояние таксономии, морфологии и селекции лаванды / Бочкарёв Н. И. [и др.] // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2013, № 2. – С. 155-156.
7. Cavanagh, H. M. A. Lavender essential oil: a review / H. M. A. Cavanagh, J. M. Wilkinson // Australian Infection Control. – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 35-37.
8. Erland, L. A. E. Lavender (*Lavandula angustifolia*) Oils / L. A. E. Erland, S. S. Mahmoud // Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. – Elsevier, 2016. – P. 501-508.
9. Murashige, T. A Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol Plant. – 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473-497.