

АДАПТАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ЛАВАНДЫ И ЛАВАНДИНА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *in vitro* И *ex situ**И.В. МИТРОФАНОВА, А.Е. ПАЛИЙ, О.А. ГРЕБЕННИКОВА,
В.А. БРАЙЛКО, Н.П. ЛЕСНИКОВА-СЕДОШЕНКО, В.Д. РАБОТЯГОВ,
О.В. МИТРОФАНОВА

Лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.) и лавандин (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.) — перспективные эфиромасличные растения, обладающие лекарственными, ароматическими и декоративными свойствами. В настоящей работе мы впервые дали сравнительную физиолого-биохимическую характеристику перспективных сортов лаванды и лавандина при различных условиях культивирования. Целью работы было выявление адаптационной способности ценных сортов лаванды и лавандина в условиях *in vitro* и *ex situ* с помощью определения их физиологических и биохимических параметров. В качестве объектов исследования были выбраны ценные сорта лаванды узколистной (Белянка, Рекорд) и лавандина (Рабат, Снежный Барс) селекции Никитского ботанического сада. Для физиолого-биохимических исследований отбирали интактные растения в фенофазу технической зрелости, а также микропобеги, культивируемые *in vitro*. Пробы отбирали во II и III декадах июля 2016 года. Культивирование микропобегов (4-5 мес) проходило на модифицированной питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной кинетином (0,3 мг/л), α -нафтилгуксусной кислотой (0,025 мг/л) и гибберелловой кислотой (0,25 мг/л). Экспланты в культуральных сосудах помещали в камеру искусственного климата с температурой 25 ± 1 °C, 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения холодными белыми флуоресцентными лампами $37,5 \mu\text{M} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Биохимические показатели определяли по общепринятым методикам. При культивировании растений в открытом грунте оценивали общую оводненность листьев, фракционный состав воды и водный дефицит. Регистрировали максимальное (F_m) и стационарное (F_{st}) значения флуоресценции после темновой адаптации. Рассчитывали индекс жизнеспособности и фотосинтетическую активность. В условиях *ex situ* у растений лаванды и лавандина содержание пролина было достаточно высоким (6,67-21,59 мкг/г). *In vitro*, несмотря на значительную оводненность тканей, концентрация пролина оказалась выше, чем у интактных растений (8,24-35,72 мкг/г). Последние накапливали высокие количества фенольных соединений (1033-1492 мг/100 г) и аскорбиновой кислоты (14,96-20,06 мг/100 г). В контролируемых условиях эти показатели были ниже (соответственно 490-777 и 4,95-5,98 мг/100 г), что обусловлено значительной оводненностью тканей и отсутствием стресса. Сорта лавандина при всех условиях культивирования выделялись более высоким содержанием фенольных соединений. У растений в открытом грунте регистрировали высокую активность каталазы (18,13-36,97 $\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) и супероксиддисмутазы (СОД) (12,55-14,82 усл. ед/г). В условиях гидро-термического стресса *ex situ* относительная фотосинтетическая активность и индекс жизнеспособности указывали на незначительное снижение интенсивности ассимиляционных процессов у сортов лаванды, однако оставались в пределах витальной нормы. При этом растения претерпевали значительный водный дефицит (до 30 %). В культуре *in vitro* активность каталазы у сортов лаванды была выше, чем у лавандина. В то же время активность СОД и полифенолоксидазы у лаванды *in vitro* снижалась по равнению с соответствующими значениями у лавандина. В открытом грунте оводненность тканей листа составила 56-62 % с преобладанием фракции связанной воды. У растений *in vitro* степень оводненности была высокой (70-77 %) с сохранением тенденции фракционного распределения воды. В контролируемых условиях при условно гетеротрофном типе питания фотосинтетическая активность составляла от 0,28 до 0,55 отн. ед. с максимумом у сорта Рабат. Значения параметров индукции флуоресценции хлорофилла в тканях микропобегов и индекса жизнеспособности выявили отсутствие фотоингибирования. Установлено, что адаптивный потенциал сортов лавандина при разных условиях культивирования выше, чем у сортов лаванды.

Ключевые слова: *Lavandula* sp., биохимические индикаторы, фотосинтетическая активность, водный режим, *in vitro*, *ex situ*.

Лаванда (*Lavandula* L.) — ценная эфиромасличная, ароматическая, декоративная и лекарственная культура. К основным возделываемым эфиромасличным растениям относятся лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.) и лавандин (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.). Они содержат эфирное масло, используемое в медицине, парфюмерно-косме-

* Работа выполнялась при поддержке РФФИ (грант № 14-50-00079).

тической и пищевой промышленности (1). В растительном сырье также выявлены фенольные соединения, оказывающие широкий спектр физиологического действия (2). Традиционное вегетативное размножение лаванды и лавандина — сложный, длительный и не всегда эффективный процесс. Высококачественный посадочный материал эфиромасличных растений может быть получен в культуре *in vitro*. Биотехнологические приемы дают возможность в кратчайшие сроки получить значительное количество генетически идентичных исходному виду, сорту или форме здоровых растений при недостатке исходного материала (3, 4). Для изучения адаптивных возможностей микропобегов, выращенных *in vitro*, необходимо учитывать особенности функционирования антиоксидантной системы, включающей как низкомолекулярные протекторные соединения, так и специфические ферменты-антиоксиданты (5, 6).

К основным протекторным соединениям растений относятся пролин, фенольные вещества и аскорбиновая кислота. Пролин служит источником энергии, углерода и азота в условиях дефицита ресурсов, вызванного стрессом, и снижения активности ферментов синтеза (7). Фенольные соединения и аскорбиновая кислота участвуют в основных процессах жизнедеятельности растительных клеток: фотосинтезе, дыхании, защите от действия стрессовых факторов (8, 9). Ферменты антиоксидантной системы супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), а также полифенолоксидазы (ПФО) связывают избыточные количества активных форм кислорода (АФК), останавливают свободнорадикальные цепные реакции и тем самым регулируют окислительные процессы, происходящие в растительном организме (10-12). Активность окислительно-восстановительных ферментов зависит от восприимчивости организма к воздействию стрессовых факторов и стадии развития растений (13).

Чувствительным параметром изменения функционального состояния растений также служат фотосинтетическая активность и индекс жизнеспособности. Амплитудно-фазовые характеристики индукционного сигнала коррелируют с физиологическим состоянием ткани. Чем больше скорость и величина изменения оптических показателей, тем выше функциональная активность растительного организма (14). Устойчивость хлорофиллсодержащих тканей к избыточной освещенности широко используется в экспериментальной биологии как интегральный критерий функционального состояния растений и адаптивности к неблагоприятным факторам среды (15, 16). Свето-темновая кинетика обсуждается в связи с реакцией фотосистем I и II на изменяющиеся условия культивирования (17, 18) и воздействия факторов абиогенной природы (19, 20).

Приспособление к новым условиям культивирования, а именно перенос растительного материала из открытого грунта в условия асептической культуры (*in vitro*), имеет комплексный характер и основывается на лабильности и толерантности биохимических и физиологических параметров, пределы которых обусловлены генетической природой организма. Несмотря на высокую хозяйственную ценность лаванды и лавандина, сведений об адаптационном потенциале этой культуры в условиях *in vitro* недостаточно. В настоящем сообщении нами впервые дана сравнительная физиолого-биохимическая характеристика перспективных сортов лаванды и лавандина при различных условиях культивирования.

Цель работы — выявление адаптационной способности ценных сортов лаванды и лавандина в условиях *in vitro* и *ex situ* с помощью определения их физиологических и биохимических параметров.

Методика. В качестве объектов исследования были выбраны цен-

ные сорта лаванды узколистной (Белянка, Рекорд) и лавандина (Рабат, Снежный Барс) селекции Никитского ботанического сада (НБС-ННЦ, Крым), находящиеся в генофондовой коллекции. Для физиолого-биохимических исследований отбирали интактные растения в фенофазу технической зрелости, выращиваемые *ex situ* на коллекционных участках НБС-ННЦ, а также микропобеги, культивируемые *in vitro*. Пробы отбирали во II и III декадах июля 2016 года.

В культуру *in vitro* вводили апикальные меристемы пазушных почек. Микропобеги культивировали в течение 4-5 мес на модифицированной среде Мурасиге-Скуга, дополненной 0,3 мг/л кинетина, 0,025 мг/л α -нафтилуксусной кислоты и 0,25 мг/л гибберелловой кислоты («Sigma», США), 30 г/л сахарозы и 8 г/л агара («Panreac», Испания). Экспланты в культуральных сосудах помещали в камеру искусственного климата MLR-352-PE («Panasonic», Япония) с температурой 25 ± 1 °С, 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения $37,5 \mu\text{M} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{c}^{-1}$.

Биохимические показатели определяли общепринятыми методами: содержание пролина — по модифицированной методике Чинарда с использованием нингидринового реактива (21), сумму фенольных веществ — спектрофотометрически с реактивом Фолина-Чокальтеу («AppliChem GmbH», Германия) (22). Калибровочные кривые для оценки содержания пролина строили, используя L-пролин («AppliChem GmbH», Германия), фенольных веществ — галловую кислоту («Sigma», США), флавонолов — рутин («Sigma», США). Количество аскорбиновой кислоты определяли йодометрическим титрованием (23), активность каталазы (КФ 1.11.1.6) — титриметрическим методом (24), полифенолоксидазы (КФ 1.14.18.1) — в присутствии пирокатехина («Sigma», США) и п-фенилендиамина (25), супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) — по реакции окисления кверцетина («Sigma», США) (26). В работе использовали спектрофотометр Evolution 220 UV/VIS («Thermo Fisher Scientific», США).

При культивировании растений в открытом грунте в качестве физиологических критериев, характеризующих водный режим, оценивали общую оводненность листьев, фракционный состав воды и водный дефицит (27). Параметры фотосинтетической активности измеряли при помощи портативного флуориметра Флоротест (Институт кибернетики им. В.М. Глушкова НАН Украины) (28). Регистрировали компоненты кинетики индукции флуоресценции Каутского — максимальное (F_m) и стационарное (F_{st}) значения флуоресценции после темновой адаптации. Рассчитывали индекс жизнеспособности и фотосинтетическую активность (15).

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической и 3-кратной аналитической повторностях. Полученные данные обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0 («StatSoft, Inc.», США). В таблицах представлены средние значения показателей (M), их стандартные отклонения ($\pm SD$). Достоверность различий между вариантами оценивали по среднему арифметическому и коэффициенту вариации при $P < 0,05$.

Результаты. Сорт лаванды узколистной Рекорд был получен методом инцухта. Растения крупные, высотой 55-60 см, полураскидистые. Сорт среднеспелый, зимостойкий, высокоурожайный и высокомасличный. Содержание эфирного масла — 1,8-2,0 % от сырой массы соцветий. Основные компоненты: линалоол (34,6 %), линалилацетат (31,2 %) и 1,8-цинеол (3,7 %). Сорт Белянка — рецессивная форма сорта Рекорд, выделенная методом индивидуального отбора. Растения компактные, высотой 50-55 см. Сорт раннеспелый, низкоурожайный. Содержание эфирного масла в соцветиях — до 1 % от сырой массы. Основные компоненты: линалилацетат

(14,3 %), линалоол (63,7 %), цинеол (2,7 %), камфора (2,1 %). Сорт Снежный Барс — рецессивная форма лавандина сорта Первенец клоновой селекции. Куст компактный, высотой 80-90 см. Сорт зимостойкий, высокопродуктивный. Урожайность — 75-85 ц/га, сбор эфирного масла — 225-240 кг/га, содержание эфирного масла — 3 % от сырой массы. Основные компоненты: линалоол (41,8 %), линалилацетат (19,4 %), терпинеол (7,4 %), камфора (4,9 %). Сорт Рабат — аллотриплоидный гибрид, полученный методом межвидовой гибридизации лаванды узколистной с лавандой широколистной. Растения компактной формы, высотой 120 см. Урожайность — 110-120 ц/га, сбор эфирного масла — 341 кг/га, содержание эфирного масла — 3,1 % от сырой массы. Основные компоненты: линалоол (36,7 %), линалилацетат (32,1 %), камфора (5,6 %), 1,8-цинеол (3,7 %).

Во II и III декадах июля 2016 года среднесуточная температура воздуха составляла 27,0 °С (максимальная — 31,0 °С). Относительная влажность воздуха — 51 %, минимальная — 47 %. Температура на почве в момент отбора поднималась до 57,5 °С, на глубине 10 см была 30,0 °С. По данным инструментального определения влажности почвы, запасы продуктивной влаги в метровом слое почвы — до 22 мм (14 % наименьшей влагоемкости). Бездождевой период, предшествовавший дате проведения анализов, длился 18 сут. За этот период было отмечено 6 сут с условиями, соответствующими суховею (относительная влажность воздуха опускалась до 40 %, среднесуточная температура воздуха была выше 25 °С, порывы ветра достигали 15 м/с при средних значениях 5-8 м/с).

В открытом грунте у растений лаванды и лавандина содержание пролина имело сортоспецифичный характер (табл. 1).

1. Содержание протекторных веществ в растениях лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) и лавандина (*Lavandula* × *intermedia* Emeric ex Loisel.) разных сортов ($M \pm SD$, 2016 год)

Сорт	Условия	Пролин, мкг/г	Аскорбиновая кислота, мг/100 г	Фенольные соединения, мг/100 г
Белянка	Ex situ	7,69±0,23	20,06±0,58	1033±26
	Cv, %	8,5	8,2	7,1
	In vitro	8,24±0,24	5,61±0,16	645±17
Рекорд	Cv, %	8,2	8,1	7,5
	Ex situ	12,95±0,37	18,92±0,54	1181±31
	Cv, %	8,1	8,0	7,4
Рабат	In vitro	33,75±0,99	5,94±0,17	490±14
	Cv, %	8,3	8,1	8,1
	Ex situ	6,67±0,20	19,14±0,55	1305±34
Снежный Барс	Cv, %	8,5	8,1	7,4
	In vitro	35,72±1,04	4,95±0,13	668±19
	Cv, %	8,2	7,4	8,0
Снежный Барс	Ex situ	21,59±0,63	14,96±0,44	1492±40
	Cv, %	8,3	8,3	7,6
	In vitro	35,32±1,05	5,98±0,17	777±22
	Cv, %	8,4	8,0	8,0

Примечание. Cv — коэффициент вариации при $P < 0,05$.

Известно, что пролин выполняет осморегулирующие функции и принимает участие в экспрессии генов (29). У растений, выращенных в культуре in vitro, несмотря на значительную оводненность тканей (56-62 %), количество пролина было достоверно выше, чем у интактных. Это позволяет предположить, что свободный пролин оказывает влияние на рост и дифференцировку клеток лаванды и лавандина. Условия in vitro не относятся к стрессовыми для растений в силу того, что они подбираются для оптимального развития микропобегов и характеризуются постоянными значениями температуры, влажности освещенности.

Интактные растения лаванды и лавандина накапливали высокие

количества фенольных соединений и аскорбиновой кислоты. Повышение содержания фенольных соединений, как правило, служит ответной реакцией на воздействие стрессовых факторов (30). У растений в контролируемых условиях количество фенольных соединений и аскорбиновой кислоты в анализируемых образцах было достоверно ниже, что обусловлено значительной оводненностью тканей (56-62 %) и отсутствием стресса. У сортов лавандина при культивировании в открытом грунте содержание фенольных соединений оказалось достоверно больше, чем у сортов лаванды.

Растения *ex situ* характеризовались высокими значениями активности каталазы и супероксиддисмутазы (табл. 2).

2. Активность окислительно-восстановительных ферментов в растениях лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) и лавандина (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.) разных сортов ($M \pm SD$, 2016 год)

Сорт	Условия	Каталаза, г $O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$	СОД, усл. ед/г	ПФО, усл. ед. $\cdot g^{-1} \cdot c^{-1}$
Белянка	Ex situ	30,68±0,87	12,98±0,32	0,524±0,013
	Cv, %	8,0	6,9	7,1
	In vitro	7,65±0,19	5,62±0,14	0,103±0,002
	Cv, %	7,0	7,1	5,5
Рекорд	Ex situ	18,13±0,45	13,60±0,33	0,628±0,016
	Cv, %	7,0	6,9	7,2
	In vitro	6,80±0,16	6,12±0,20	0,101±0,003
	Cv, %	6,7	9,2	8,4
Рабат	Ex situ	31,45±0,77	12,55±0,32	0,600±0,015
	Cv, %	6,9	7,2	7,1
	In vitro	3,68±0,09	12,43±0,31	0,112±0,003
	Cv, %	6,9	7,1	7,6
Снежный Барс	Ex situ	36,97±0,92	14,82±0,38	0,377±0,008
	Cv, %	7,0	7,3	6,0
	In vitro	2,98±0,08	10,48±0,28	0,124±0,004
	Cv, %	7,6	7,6	9,1

Примечание. СОД — супероксиддисмутаза, ПФО — полифенолоксидаза. Cv — коэффициент вариации при $P < 0,05$.

В культуре *in vitro* активность каталазы у сортов лаванды была в 2 раза выше, чем у лавандина. В то же время активность СОД и ПФО у лаванды имела более низкие значения, чем у лавандина. Сравнительный анализ показал, что минимальные значения активности каталазы и полифенолоксидазы присущи сортам лаванды и лавандина, выращенным *in vitro*. Снижение активности ферментов обусловлено высокой оводненностью тканей, низким содержанием аскорбиновой кислоты и фенольных соединений, а также отсутствием стрессовых факторов. Активность СОД у сортов лавандина в культуре *in vitro* была сопоставима с аналогичным показателем в растениях, выращенных *ex situ*, а у сортов лаванды в культуре *in vitro* она оказалась на 50 % ниже, чем у интактных растений.

При выращивании в открытом грунте оводненность листьев составляла 56-62 % (табл. 3), на долю связанной воды приходилось 78-93 % от ее общего содержания.

3. Показатели водного режима и относительной квантовой эффективности работы фотосистемы-2 у лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) и лавандина (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.) разных сортов ($M \pm SD$, 2016 год)

Показатель	Условия	Сорт			
		Белянка	Рекорд	Рабат	Снежный Барс
Общее содержание воды, %	Ex situ	61,1±3,0	57,9±2,5	56,3±4,8	62,3±2,1
	Cv, %	13,9	12,2	24,1	9,5
	In vitro	76,1±3,3	72,3±2,9	77,0±2,5	74,4±3,2
	Cv, %	12,3	11,4	9,2	12,2
Фракция связанной воды, % от общего содержания воды	Ex situ	78,3±4,9	90,6±3,5	82,1±4,3	93,2±1,3
	Cv, %	17,7	10,9	14,8	3,9
	In vitro	69,5±4,1	58,1±2,2	68,3±4,8	49,4±6,1
	Cv, %	16,7	10,7	19,9	34,9

		<i>Продолжение таблицы 3</i>			
Водный дефицит, %	Ex situ	26,9±1,4	24,8±2,9	23,1±2,9	29,1±1,2
	Cv, %	14,7	33,1	35,5	11,6
Относительная фотосинтетическая активность, $(F_m - F_{st})/F_m$	In vitro	0,68±0,09	0,70±0,05	0,75±0,10	0,71±0,05
	Ex situ	0,28±0,10	0,45±0,05	0,55±0,08	0,45±0,09
Индекс жизнеспособности, F_m/F_{st}	In vitro	2,61±0,50	2,51±0,61	3,18±0,52	2,94±0,70
	Cv, %	54,2	68,7	46,2	67,3
	Ex situ	1,41±0,03	1,71±0,12	2,36±0,37	2,00±0,36
	Cv, %	6,0	19,8	44,3	50,9

Примечание. F_m и F_{st} — соответственно максимальное и стационарное значения флуоресценции после темновой адаптации. Cv — коэффициент вариации при $P < 0,05$.

После длительного (18 сут) засушливого периода общее содержание воды в вегетативных органах снизилось, при этом доля связанной воды увеличилась. Максимальная водоудерживающая способность была характерна для тканей вегетативных органов у сортов Снежный Барс и Рекорд за счет фракции связанной воды. Степень водного дефицита в листьях у сортов лаванды и лавандина варьировала от 23 до 29 %. Оводненность листьев микропобегов *in vitro* была выше у сортов лавандина (74–77 %), достоверных различий между сортами по этому параметру не выявили. Однако наименьшая вариабельность оводненности микропобегов во время культивирования и максимальное значение соотношения связанной к свободной фракции воды позволило выделить сорта Рабат и Белянка.

Изменения в водном режиме отразились в большей степени на фотосинтетической активности сортов лаванды. У них отмечали снижение относительной квантовой активности работы фотосистемы II, фотохимических реакций и эффективности захвата энергии открытыми реакционными центрами. Индекс жизнеспособности всех изученных сортов находился в пределах нормы, но у лавандина сорта Рабат он был достоверно выше.

Из апикальной меристемы в условиях *in vitro* через 5–6 субкультивирований образовывалось в среднем от 2 до 5 микропобегов высотой 23–82 мм, на каждом микропобеге — от 10 до 26 листьев, листья ланцетные, длиной 9–15 мм. У микропобегов выявили высокую фотосинтетическую активность листьев. При культивировании в контролируемых условиях *in vitro* и нахождении на относительно гетеротрофном типе питания индекс жизнеспособности также был в норме, его значения имели сортоспецифический характер. Показатели функционального состояния изученных растительных организмов *in vitro* свидетельствуют об отсутствии фотоингибирования, нормальном функционировании фотосистем как при работе светособирающих комплексов, так в момент окисления доноров электронов в реакционном центре фотосистемы II.

Таким образом, в открытом грунте у растений лаванды и лавандина содержание фенольных соединений, аскорбиновой кислоты и активности каталазы, супероксиддисмутазы, полифенолоксидазы были максимальными. По этим параметрам не выявлены существенные различия между сортами лаванды и лавандина. У микропобегов в условиях *in vitro* количество пролина оказалась выше, а содержание фенольных соединений, аскорбиновой кислоты и ферментативная активность — ниже, чем у интактных растений. Изменения в водном режиме у исследуемых сортов в большей степени отразились на фотосинтетической активности сортов лаванды. Индекс жизнеспособности находился в пределах нормы, фотоингибирование отсутствовало. Установлено, что адаптивный потенциал сортов лавандина при разных условиях культивирования выше, чем у сортов лаванды.

ФГБУН Ордена Трудового Красного Знамени
Никитский ботанический сад —
Национальный научный центр РАН,
298648 Россия, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита,

Поступила в редакцию
5 июля 2017 года

ADAPTIVENESS OF PROMISING LAVENDER AND LAVANDIN CULTIVARS UNDER *in vitro* CULTURE AND *ex situ*

I.V. Mitrofanova, A.E. Palii, O.A. Grebennikova, V.A. Brailko, N.P. Lesnikova-Sedoshenko,
V.D. Rabotyagov, O.V. Mitrofanova

Nikita Botanical Gardens — National Scientific Center RAS, Federal Agency for Scientific Organizations, 52, ul. Nikitskii spusk, pgt Nikita, Yalta, Republic of Crimea, 298648 Russia, e-mail irimitrofanova@yandex.ru (✉ corresponding author), onlabor@yandex.ru, oksanagrebennikova@yandex.ru, valentina.brailko@yandex.ru, nplesnikova@yandex.ru, runastep@mail.ru, invitro_plant@mail.ru

ORCID:

Mitrofanova I.V. orcid.org/0000-0002-4650-6942

Palii A.E. orcid.org/0000-0002-0139-5089

Grebennikova O.A. orcid.org/0000-0001-6850-4924

Brailko V.A. orcid.org/0000-0003-3853-0210

Lesnikova-Sedoshenko N.P. orcid.org/0000-0001-9967-8505

Rabotyagov V.D. orcid.org/0000-0002-5234-3393

Mitrofanova O.V. orcid.org/0000-0002-4878-2828

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgement:

Supported financially by Russian Science Foundation (grant № 14-50-00079)

Received July 5, 2017

doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.539eng

Abstract

Lavandula angustifolia Mill. and lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel) are promising fragrant plants with medicinal, aromatic and ornamental properties. To obtain high quality healthy planting material, *in vitro* cultures of valuable cultivars Belyanka, Record (lavender) and Rabat, Snezhnyi Bars (lavandin) were derived. Obtained regenerants were cultured for 4-5 months on Murashige and Skoog medium with 0.3 mg/l kinetin, 0.025 mg/l NAA и 0.25 mg/l GA₃ in growth chamber at 25±1 °C under 16-h photoperiod and light intensity of 37.5 μM·m⁻²·s⁻¹. Intact plants were studied during the growing season. In order to reveal plant morphogenetic capacity, biochemical stress indicators, indexes of photosynthetic activity, maximum fluorescence (F_m), stationary level of fluorescence (F_{st}) and water regime were determined. The proline content of lavender and lavandin plants grown *ex situ* was rather high (6.67-21.59 μg/g). In *in vitro* micro-plants, although there was considerable hydration of the plant tissues, the proline concentration was higher than that in the intact plants (8.24-35.72 μg/g). Intact lavender and lavandin plants accumulated high amounts of phenolic compounds (1033-1492 mg/100 g) and ascorbic acid (14.96-20.06 mg/100 g). In plants under controlled conditions, the concentration of phenolic compounds and ascorbic acid was lower (490-777 and 4.95-5.98 mg/100 g, respectively), which is caused by significant waterlogging of tissues and lack of stress. Regardless of the growing condition, the level of phenolic compounds was higher in the lavandin cultivars compared to *lavandula* plants. Open field cultivated plants were distinguished by high activity of catalase (18.13-36.97 g O₂·g⁻¹·min⁻¹) and superoxide dismutase (12.55-14.82 a.u./g). Under the hydrothermal stress effect *ex situ*, relative photosynthetic activity and viability index indicated minor decrease in assimilation processes in lavender cultivars but was within vital limits. In *in vitro* culture, the catalase activity of lavender cultivars was higher than that of lavandin. At the same time, SOD and PPO activity of lavender micro-plants *in vitro* was lower than that of lavandin micro-plants. In open field cultivation, leaf tissue hydration of tested plants was 56-62 %, with greater part of bound water. In plants cultured *in vitro*, the rate of hydration was high (70-77 %), with the same trend of water fractional composition. Under the controlled conditions and nominal heterotrophic nutrition type, photosynthetic activity was 0.28-0.55 a.u. with the maximum in the Rabat cultivar. Values of chlorophyll fluorescence induction and vitality index indicated no photoinhibition. It was found out the lavandin cultivars had better capacity for a wide use under various conditions.

Keywords: *Lavandula* sp., biochemical indicators, photosynthetic activity, water regime, *in vitro*, *ex situ*.

REFERENCES

1. Libus' O.K., Rabotyagov V.D., Kut'ko S.P., Khlypenko L.A. *Efiromaslichnye i pryano-aromaticheskie rasteniya* [Essential oil and spicy aromatic plants]. Kherson, 2004 (in Russ.).
2. Torras-Claveria L., Jauregui O., Bastida J., Codina C., Viladomat F. Antioxidant activity and phenolic composition of Lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loiseleur) Waste. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55: 8436-8443 (doi: 10.1021/jf070236n).
3. Mitrofanova I., Brailko V., Lesnikova-Sedoshenko N., Mitrofanova O. Clonal micropropagation

- and some physiology aspects of essential oil roses valuable cultivars regeneration in vitro. *Agri-culture and Forestry*, 2016, 62(4): 73-81 (doi: 10.17707/AgriForest.62.4.09).
4. Mitrofanova I.V., Chirkov S.N., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Chelombit S.V., Zakubanskiy A.V., Rabotyagov V.D., Mitrofanova, O.V. Micropropagation of *Lavandula angustifolia* Mill. 'Record' and 'Belyanka'. *Acta Hortic.*, 2017, 1187: 37-42 (doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1187.4).
 5. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 2002, 7: 405-410 (doi: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9).
 6. Mullineaux Ph., Baker N. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death? *Plant Physiol.*, 2010, 154(2): 521-525 (doi: 10.1104/pp.110.161406).
 7. Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Laxmi P.S., Naidu K.R., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implication in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 2005, 88(3): 424-438.
 8. Smirnoff N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2000, 3: 229-235.
 9. Zaprometov M.N. *Fenol'nye soedineniya: rasprostraneniye, metabolizm i funktsii v rasteniyakh*. Moscow, 1993 (in Russ.).
 10. Araj S., Grammer T.A., Gertzen R., Anderson S.D., Mikulic-Petkovsek M., Veberic R., Phu M.L., Solar A., Leslie C.A., Dandekar A.M., Escobar M.A. Novel roles for the polyphenol oxidase enzyme in secondary metabolism and the regulation of cell death in walnut. *Plant Physiol.*, 2014, 164(3): 1191-203 (doi: 10.1104/pp.113.228593).
 11. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53(372): 1331-1341 (doi: 10.1093/jexbot/53.372.1331).
 12. Racchi M.L. Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus* spp. *Antioxidants*, 2013, 2: 340-369 (doi: 10.3390/antiox2040340).
 13. Baranenko V.V. *Tsitologiya*, 2006, 48(6): 465-474 (in Russ.).
 14. Budagovsky A., Budagovskaya O., Budagovsky I. Biological structure as a converter of coherent radiation. In: *Biophotonics and coherent systems in biology*. Springer, NY, 2006: 53-70 (doi: 10.1007/978-0-387-28417-0).
 15. Romanov V.A., Galelyuka I.B., Sarakhan Ie.V. Portable fluorometer Floratest and specifics of its application. *Sensor Electronics and Microsystem Technologies*, 2010, 7(3): 39-44.
 16. Stirbet A., Govindjee J. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *J. Photoch. Photobiol. B*, 2011, 104: 236-257 (doi: 10.1016/j.jphotobiol.2010.12.010).
 17. Ralph P.J., Gademann R. Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquat. Bot.*, 2005, 82(3): 222-237 (doi: 10.1016/j.aquabot.2005.02.006).
 18. Strizh I.G., Neverov K.V. Photoinhibition of photosystem 2 in vitro: spectral and kinetic analysis. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2007, 54(4): 439-499 (doi: 10.1134/S1021443707040024).
 19. Camejo D., Jimenez A., Alarcon J.J., Torres W., Gomez J.M., Sevilla F. Changes in photosynthetic parameters and antioxidant activities following heat-shock treatment in tomato plants. *Funct. Plant Biol.*, 2006, 33(2): 177-187 (doi: 10.1071/FP05067).
 20. Khan N.A., Singh S., Nazar R. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *J. Agron. Crop Sci.*, 2007, 193(6): 435-444 (doi: 10.1111/j.1439-037X.2007.00272.x).
 21. Andryushchenko V.K., Sayanova V.V., Zhuchenko A.A. *Izvestiya AN MSSR*, 1981, 4: 55-60 (in Russ.).
 22. Gerzhikova V.G. *Metody tekhnokhimicheskogo kontrolya v vinodelii* [Technological control in winemaking]. Simferopol', 2002 (in Russ.).
 23. Rikhter A.A. *Trudy Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*, 1999, 108: 121-129 (in Russ.).
 24. Voskresenskaya O.L., Alyabysheva E.A., Polovnikova M.G. *Bol'shoi praktikum po bioekologii* [Practical works on bioecology]. Ioshkar-Ola, 2006 (in Russ.).
 25. Ermakov A.I. *Metody biokhicheskogo issledovaniya rastenii* [Methods of plant biochemistry]. Leningrad, 1987 (in Russ.).
 26. Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. *Voprosy meditsinskoi khimii*, 1990, 2: 88-91 (in Russ.).
 27. Ross J. *The radiation regime and architecture of plant stands (Tasks for vegetation science, v. 3 book series)*. Springer, Dordrecht, 1981 (doi: 10.1007/978-94-009-8647-3).
 28. Braion O.V., Korneev D.Yu., Snegur O.O., Kitaev O.I. *Instrumental'ne vivchennya fotosintetichnogo aparatu za dopomogyu induktsii fluorestsentsii khlorofilu: Metodichni vkazivki dlya studentiv biologichnogo fakul'tetu* [Instrumental study of photosynthetic system based on chlorophyll fluorescence]. Kiiv, 2000.
 29. Lyers S., Caplan P. Products of praline catabolism can induce osmotically regulated genes in rice. *Plant Physiol.*, 1998, 116: 203-211.
 30. Mazid M., Khan T.A., Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 2011, 3(2): 232-249.