НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнології та екології

ПОГОДЖЕНО	**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**
Декан факультету захисту рослин, біотехнологій та екології	**Завідувач кафедри екобіотехнології та біорізноманіття**
_____Юлія КОЛОМІЄЦЬ	**_____Олена КВАСКО**
“____” _____ 2025 р.	**“____” _____ 2025 р.**

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Біотехнологічні аспекти вивчення впливу наноаквахелатних комплексів на синтез терпенів у рослин *Lavandula angustifolia*»

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічні біотехнології та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо-професійна

Гарант освітньої програми

д.с.-г.н., професор _____ **Микола ЛІСОВИЙ**
(підпис)

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

д.с.-г. н., професор _____ **Оксана КЛЯЧЕНКО**
(підпис)

Виконав _____ **Ілля КИРИШЕВСЬКИЙ**
(підпис)

КИЇВ – 2025

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри екобіотехнології та біорізноманіття
к.б.н., доцент _____Олена КВАСКО
(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ПІБ)
“____” _____2025 року

З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ ЗДОБУВАЧУ
Киришевському Іллі Леонідовичу
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
Орієнтація освітньої програми Освітньо професійна
Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Біотехнологічні аспекти вивчення впливу наноаквахелатних комплексів на синтез терпенів у рослин *Lavandula angustifolia*»
затверджена наказом від “07” листопада 2024 р. № 2005 «С».
Термін подання завершеної роботи на кафедру 15 листопада 2025 року.
Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи: *Lavandula angustifolia*, наноаквахелатні комплекси, біотехнологічні методи мікроклонального розмноження рослин, високоефективна тонкошарова хроматографія.
Перелік питань, що підлягають дослідженню:

- Ввести в культуру *in vitro* різні генотипи лаванди вузьколистої;
- Визначити підбір живильних середовищ для культивування ізольованих тканин лаванди вузьколистої;
- Визначити основні параметри росту рослин-регенерантів лаванди вузьколистої;
- Визначити терпенові сполуки у рослин-регенерантів лаванди;

Дата видачі завдання “01” жовтня 2024 р.
Керівник магістерської кваліфікаційної роботи_____Оксана КЛЯЧЕНКО

Завдання прийняв до виконання _____ Ілля КИРИШЕВСЬКИЙ

РЕФЕРАТ

Магістерська кваліфікаційна робота виконана на тему «Біотехнологічні аспекти вивчення впливу наноаквахелатних комплексів на синтез терпенів у рослин *Lavandula angustifolia*» в обсязі 61 сторінка комп'ютерного тексту формату А4, містить 9 таблиць, 9 рисунків та 7 додатків. Список використаної літератури включає 49 джерела. Робота складається з розділів: зміст, вступ, огляд літератури, огляд методів та результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та додатків.

Актуальність роботи полягає у зростаючому попиті на природні біологічно активні сполуки, такі як терпени та флавоноїди, які широко використовуються у фармацевтиці, косметології та харчовій промисловості. Застосування наноаквахелатних комплексів у біотехнології рослин відкриває нові можливості для підвищення продуктивності та якості цінних культур, зокрема лаванди, шляхом ефективного впливу на її метаболізм.

Метою даної роботи було дослідження впливу наноаквахелатних комплексів на синтез терпенів у лаванди вузьколистої для підвищення її біологічної цінності та оптимізації умов вирощування.

Для досягнення цієї мети було поставлено наступні **завдання:**

- ввести в культуру *in vitro* різні генотипи лаванди вузьколистої;
- визначити підбір живильних середовищ для культивування ізольованих тканин лаванди вузьколистої;
- визначити основні параметри росту рослин-регенерантів лаванди вузьколистої;
- визначити терпенові сполуки у рослин-регенерантів лаванди

Предметом дослідження є різні генотипи лаванди вузьколистої

Розглянуто сучасні уявлення щодо фізіолого-біохімічних механізмів синтезу та накопичення терпенів у рослин *Lavandula angustifolia*, а також роль наноматеріалів у регуляції вторинного метаболізму. Узагальнено теоретичні засади застосування нанотехнологічних підходів у біотехнології рослин.

Відбір і стерилізація молодих пагонів та апікальних меристем лаванди вузьколистої і культивування *in vitro* на безгормональному поживному середовищі MS та гормональному середовищі MS з кінетином.
Пересадка утворюваного посадкового матеріалу на модифіковане наноаквахелатами поживне середовище та культивування.
Виділення спиртових екстрактів з культивованих експлантів для подальшого визначення біохімічного складу методом тонкошарової хроматографії.

Методичний підхід забезпечив можливість відстеження змін у синтезі терпенів під впливом різних форм нанокомплексів.

Експериментальні дослідження було проведено методом високоефективної тонкошарової хроматографії. Одержано профілі терпенових сполук, визначено вплив різних концентрацій наноаквахелатних комплексів на інтенсивність їх синтезу у культивованих експлантах лаванди. Встановлено характерні зміни метаболічного спектра залежно від типу нанокомпонентів.

Показано, що використання наноаквахелатів здатне стимулювати біосинтез цінних вторинних метаболітів. Окреслено перспективи застосування нанокомплексів у біотехнології лікарських рослин, зокрема для отримання стандартизованої фітосировини підвищеної якості.

Ключові слова:
терпени, Lavandula angustifolia, наноаквахелати, біотехнологія рослин, вторинний метаболізм, хроматографія, експланти.

Зміст

РЕФЕРАТ 4

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 7

ВСТУП 8

РОЗДІЛ 1. Огляд літератури 10

РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи досліджень 24

2.1. Приготування поживного середовища 24

2.2. Стерилізація посадкового матеріалу 27

2.3. Мікроклональне розмноження *Lavandula angustifolia* на модифікованих поживних середовищах в культурі *in vitro* 28

2.4. Визначення терпенових сполук у рослин-регенерантів лаванди 30

РОЗДІЛ 3. Результати та обговорення досліджень 32

3.1. Адаптація та мультиплікація рослин 32

3.2. Культивування на поживних середовищах з наноаквахелатами 35

3.3. Аналіз хроматограми екстрактів експлантів лаванди 37

ВИСНОВОК 48

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 49

ДОДАТКИ 54

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

MS – Murashige and Skoog (Мурасіге-Скуга)

6-фурфуриламінопурін – кінетин

$НІР_{0,05}$ – найменша істотна різниця на рівні ймовірності 0,05

ВСТУП

Сучасний розвиток біотехнології рослин ґрунтується на пошуку ефективних підходів до регуляції вторинного метаболізму з метою отримання високоякісної рослинної сировини, збагаченої біологічно активними речовинами. Особливе місце серед таких сполук займають терпеноїди — ключові компоненти ефірних олій, що характеризуються широким спектром фармакологічної, косметологічної та харчової цінності. *Lavandula angustifolia* (лаванда вузьколиста) є однією з найперспективніших культур для промислового вирощування завдяки високому вмісту терпенів, стабільному хімічному профілю та цінним ароматичним властивостям.

Біотехнологічні та фізіолого-біохімічні механізми, що забезпечують синтез і накопичення терпеноїдних сполук у лаванди, є складними та залежать від численних факторів, зокрема умов культивування та впливу стимулюючих агентів. У цьому контексті особливу увагу привертають наноматеріали, зокрема наноаквахелатні комплекси, здатні впливати на метаболічні процеси рослин, активуючи синтез вторинних метаболітів.

Актуальність роботи полягає у зростаючому попиті на природні біологічно активні сполуки, такі як терпени та флавоноїди, які широко використовуються у фармацевтиці, косметології та харчовій промисловості. Застосування наноаквахелатних комплексів у біотехнології рослин відкриває нові можливості для підвищення продуктивності та якості цінних культур, зокрема лаванди, шляхом ефективного впливу на її метаболізм.

У роботі розглянуто теоретичні засади біосинтезу терпенів у *Lavandula angustifolia*, охарактеризовано фізіолого-біохімічні процеси, що лежать в основі їх накопичення, а також проаналізовано потенціал нанотехнологічних підходів щодо регуляції вторинного метаболізму.

Експериментальна частина включає відбір і стерилізацію молодих пагонів та апікальних меристем лаванди вузьколистої, культивування *in vitro* на безгормональному середовищі MS та на середовищі з кінетином, пересадку

отриманих експлантів на середовище, модифіковане наноаквахелатами, а також виділення спиртових екстрактів для дослідження біохімічного складу методом тонкошарової хроматографії. Поглиблений аналіз впливу нанокомплексів здійснювався з використанням високоефективної тонкошарової хроматографії.

Таким чином, робота спрямована на з’ясування можливостей використання наноаквахелатних комплексів для регуляції синтезу терпеноїдів у лаванди вузьколистої, що є перспективним напрямом у розвитку біотехнології лікарських рослин.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Ботанічна характеристика і біологічні особливості *Lavandula angustifolia*

Лаванда вузьколиста (*Lavandula angustifolia* Mill.), є одним з найцінніших представників родини *Lamiaceae*, відомої своїм багатим хімічним складом, зокрема високим вмістом ефірних олій [1].

Систематичне положення *L. angustifolia* (за сучасною системою APG IV):

Царство: Рослини (*Plantae*)

Порядок: Губоцвіті (*Lamiales*)

Родина: Ясноткові (*Lamiaceae*)

Підродина: Котовникові (*Nepetoideae*)

Триба: *Lavanduleae*

Рід: Лаванда (*Lavandula* L.)

Вид: *Lavandula angustifolia*.

Рід *Lavandula* налічує близько 39 видів, серед яких *L. angustifolia* (також відома як "справжня лаванда") є типовим і найбільш економічно значущим видом, що відрізняється від гібридних форм (лавандинів) специфічним складом олії [2].

Природний ареал *L. angustifolia* охоплює гірські райони західного Середземномор'я, переважно на висоті 800-1800 м над рівнем моря в Іспанії, Франції та Італії [3]. Завдяки своїй цінності, лаванда була інтродукована по всьому світу. Сьогодні світовими лідерами з її вирощування та виробництва ефірної олії є Болгарія та Франція, також значні плантації знаходяться в Китаї, Молдові, Австралії та Україні [4].

Lavandula angustifolia – це багаторічний вічнозелений напівчагарник, що формує компактний кущ заввишки 60-90 см [3]. Коренева система є стрижневою, сильно розгалуженою, здатна проникати глибоко в ґрунт, що забезпечує високу посухостійкість рослини. Стебла мають численні, здерев'янілі біля основи пагони, які у верхній частині залишаються трав'янистими. Молоді пагони

чотиригранні, вкриті характерним сіруватим опушенням. Лаванда має супротивні, сидячі, лінійно-ланцетні, цілокраї із загнутими донизу краями (револьютні) листки. Довжина листка 2-5 см. Поверхня листка, як і стебло, густо вкрита волосками, що надає рослині сріблястого відтінку і є адаптацією до зменшення транспірації [5]. У суцвітті є квітки зібрані у верхівкові переривчасті колосоподібні, довжиною 5-9 см, що розташовані на довгих квітконосах, які значно перевищують вегетативну частину куща. Квітки, у свою чергу: Зигоморфні, двостатеві. Чашечка трубчаста, ребриста, синьо-фіолетова. Віночок двогубий, зазвичай синього або фіолетового кольору.

Критично важливим для нашого дослідження є те, що основний синтез та накопичення компонентів ефірної олії відбувається у спеціалізованих епідермальних структурах – залозистих трихомах [6]. У *L. angustifolia* домінують два типи трихом: головчасті (капітатні) та щитоподібні (пелтатні). Саме пелтатні трихоми, що складаються з восьми секреторних клітин і великої субкутикулярної порожнини, є головними "біофабриками" з виробництва монотерпенів (ліналоолу, ліналілацетату) і у найбільшій кількості локалізовані на чашечках квіток [7].

L. angustifolia – довгоживуча рослина з продуктивним періодом 15-20 років. Цвітіння відбувається у червні-липні. Розмноження можливе насінням (використовується в селекції) та вегетативно (для збереження сортових ознак). У комерційній практиці домінує розмноження живцями [4]. Для наукових досліджень, в тому числі для нашої роботи, незамінним є метод **культури *in vitro***. Для лаванди розроблені ефективні протоколи мікроклонального розмноження, які дозволяють отримувати генетично однорідний, стерильний рослинний матеріал, що є ідеальною моделлю для вивчення біохімічних реакцій у контрольованих умовах без впливу зовнішніх чинників [8].

Екологічні вимоги. Лаванда вузьколиста є ксерофітом та геліофітом, що визначає її вимоги до умов вирощування.

- **Світло:** Рослина вимагає повного сонячного освітлення. Дослідження показують, що інтенсивність світла прямо корелює з щільністю залозистих трихом та загальним виходом ефірної олії [9].
- **Волога:** Лаванда надзвичайно посухостійка, але водночас не переносить надмірного зволоження та застою води, що призводить до розвитку кореневих гнилей.
- **Ґрунти:** Оптимальними є легкі, добре дреновані ґрунти з нейтральною або слабколужною реакцією (pH 6.5–8.0). Рослина добре росте на бідних, кам'янистих та вапнякових ґрунтах [3, 5].

1.4. Господарське значення та напрями використання

Господарська цінність *L. angustifolia* визначається її **ефірною олією**, яка є однією з найбільш затребуваних на світовому ринку [1].

Хімічний склад олії. На відміну від олії лавандинів (гібридів), яка містить високий відсоток камфори і 1,8-цинеолу, ефірна олія *L. angustifolia* цінується за високий вміст складного ефіру **ліналілацетату** (часто 30-50%) та спирту **ліналоолу** (25-45%) [10]. Саме високе співвідношення ліналілацетат/ліналоол та низький вміст камфори визначають її преміальну якість для фармацевтики та парфумерії [2, 7]. Ці сполуки є монотерпеноїдами, синтез яких є центральним об'єктом нашого дослідження.

Напрями використання:

1. **Фармацевтика та ароматерапія:** Олія лаванди має клінічно підтверджені седативні, анксіолітичні (протитривожні), протизапальні та антимікробні властивості. Вона використовується для покращення сну, зняття стресу та лікування незначних опіків [11].
2. **Парфумерія та косметика:** *L. angustifolia* є ключовим інгредієнтом у багатьох класичних парфумерних композиціях, а також широко використовується як активний компонент у засобах по догляду за шкірою [1, 10].

В попередньому підсумку, *L. angustifolia* є важливим об'єктом з високою економічною цінністю, що залежить від біосинтезу терпенів. Використання

біотехнологічних підходів, зокрема культури *in vitro*, для вивчення шляхів інтенсифікації цього синтезу за допомогою наноаквахелатних комплексів є надзвичайно актуальною задачею [8, 12].

Розділ 1.2. Вплив нанокомплексів на ріст і розвиток ефіроолійних культур in vitro

Використання нанотехнологій у сільському господарстві є вкрай перспективним напрямком досліджень, що відкриває можливості для підвищення продуктивності агроценозів та одночасного зменшення використання традиційних хімічних добрив і пестицидів [1,2, 3]. Застосування комплексів наночастинок (НК) здатне покращувати засвоєння поживних речовин рослинами, стимулювати фотосинтетичні процеси та підвищувати стійкість культур до різноманітних абіотичних стресових факторів, таких як посуха чи засоленість ґрунту (1, 4).

1.1. Загальні ефекти наночастинок у рослинництві

Огляд сучасної літератури свідчить, що різні типи наночастинок, зокрема наночастинки оксиду цинку (nZnO), діоксиду титану ($nTiO_2$) та срібла (nAg), мають значний вплив на ріст і розвиток рослин (1, 3, 5). Наприклад, $nTiO_2$, синтезовані з використанням рослинних екстрактів, продемонстрували потенціал у підвищенні врожайності пшениці (5). Позитивні ефекти, що відмічаються дослідниками, включають покращення проростання насіння, підвищення вмісту хлорофілу та білка в рослинах, посилення ферментативної активності та загальне поліпшення росту (3).

Наночастинки можуть виступати як ефективні системи цільової доставки активних інгредієнтів (пестицидів, гербіцидів, фунгіцидів), що дозволяє мінімізувати їх загальне використання та негативний вплив на довкілля (6). Окрім того, вони застосовуються для підвищення ефективності добрив. Нанодобрива, завдяки більшій площі поверхні, сприяють кращому поглинанню поживних речовин кореневою системою, забезпечуючи рослини необхідними елементами у більш біодоступній формі (4).

У контексті ефіроолійних культур нанотехнології знаходять застосування не лише у вирощуванні, але й у пост-врожайній обробці. Відомо, що ефірні олії (ЕО) мають широкий спектр застосування (7, 8), однак їхня низька розчинність, висока летючість та схильність до деградації обмежують їх використання (9, 10). Для вирішення цих проблем ЕО інкапсулюють у нано-емульсії або комплекси з циклодекстринами, що підвищує їх стабільність та ефективність, дозволяючи створювати на їх основі біогербіциди (9) чи інсектициди (11).

1.2. Культура *in vitro* як модельна система для скринінгу нанопрепаратів

Для первинного вивчення впливу нових нанопрепаратів на рослини, зокрема ефіроолійні, культура тканин *in vitro* є потужним і незамінним біотехнологічним інструментом [12]. На відміну від польових чи тепличних дослідів, системи *in vitro* надають унікальні переваги для тестування нанокомплексів. Вони дозволяють працювати у повністю контрольованих та асептичних умовах, що виключає неконтрольований вплив ґрунтової мікробіоти, здатної трансформувати тестовані НК [13].

Ключовою перевагою є можливість точного дозування нанокомплексу шляхом прямого внесення у стерильне живильне середовище [14]. Це дає змогу чітко спостерігати за морфогенетичними реакціями (калусогенез, органогенез) та фізіологічними змінами на клітинному рівні. Саме тому культура *in vitro* визнана ідеальною первинною платформою для скринінгу біологічної активності нових нанопрепаратів та визначення їх оптимальних, нетоксичних концентрацій [15].

1.3. Вплив нанокомплексів мікроелементів на морфогенез *in vitro*

Традиційні живильні середовища, як-от MS , містять мікроелементи у формі неорганічних солей або стандартних хелатів (наприклад, Fe-EDTA). Численні дослідження демонструють, що заміна цих форм на наночастинки (НЧ) або нанокомплекси (НК) мікроелементів (Zn, Cu, Fe, Mn) може суттєво модулювати ростові процеси [16].

Дослідження на різних видах ефіроолійних рослин, переважно з родини *Lamiaceae*, показують, що наноформи у низьких концентраціях часто виявляють стимулюючий ефект:

1. **Індукція та проліферація калусу:** Додавання наночастинок оксиду цинку (nZnO) до середовища для *Mentha piperita* (м'яти перцевої) призводило до збільшення біомаси калусу порівняно з контролем [17].
2. **Регенерація пагонів:** У дослідах на *Salvia officinalis* (шавлії лікарській) надмалі дози наночастинок срібла (nAg) стимулювали коефіцієнт розмноження [18]. Аналогічні стимулюючі ефекти на регенерацію пагонів спостерігали для наноформ міді (nCu) та заліза (nFe_3O_4) у *Thymus vulgaris* (чебрецю) [19].
3. **Ризогенез (укорінення):** Введення нанокомплексів заліза у безгормональне середовище часто стимулювало укорінення мікропагонів *Ocimum basilicum* (базиліку) ефективніше, ніж стандартні хелати [20].

Сучасні форми препаратів, такі як наноаквахелати, поєднують біодоступність хелатної форми з перевагами нанорозміру, що потенційно знижує ризик токсичності порівняно з простими оксидними наночастинками [14].

1.4. Механізми дії нанокомплексів у культурі *in vitro*

Вплив НК на ріст рослин *in vitro* є комплексним. Виділяють щонайменше три основні механізми:

1. **Покращена біодоступність мікроелементів.** Нанорозмір (<100 нм) полегшує поглинання іонів рослинними клітинами [16]. Це узгоджується з даними про те, що нанодобрива забезпечують краще поглинання нутрієнтів (4). Мікроелементи, як-от Zn та Mn, є критичними кофакторами ферментів синтезу хлорофілу, а також ферментів, задіяних у синтезі ауксинів (Zn-залежні), що безпосередньо регулюють ріст [16, 21].
2. **Регуляція окислювального статусу.** Наночастинки металів (nZnO, $nCeO_2$) можуть діяти як потужні антиоксиданти, нейтралізуючи активні форми кисню (АФК), що утворюються в умовах стресу *in vitro* (наприклад, поранення експланту) [15, 22]. Це узгоджується зі

спостереженнями про підвищення антиоксидантних властивостей рослин (1) та посилення ферментативної активності (3) під дією НЧ.

3. **Ефект гормезису (еліситорна дія).** У певних низьких концентраціях НК можуть сприйматися клітиною як слабкий абіотичний стресор. Це викликає контрольований сплеск АФК, який, у свою чергу, активує внутрішні захисні системи рослини. Ця активація включає не лише антиоксидантні ферменти, але й шляхи вторинного метаболізму, зокрема синтез захисних терпенів та фенолів [23].

1.5. Концентраційна залежність та ризики фітотоксичності

Критичним аспектом роботи з нанопрепаратами є сувора дозозалежність їхнього ефекту [14, 19] (1, 3). Ефект визначається "вікном біологічної активності":

- **Низькі концентрації** (нМ або низький мкМ діапазон) діють як стимулятори росту (гормезис) [14].
- **Середні концентрації** можуть пригнічувати вегетативний ріст, але водночас максимально стимулювати синтез вторинних метаболітів (ефект еліситора) [23].
- **Високі концентрації** неминуче виявляють фітотоксичність [17, 22].

Негативні наслідки застосування завищених доз НК включають генерацію надмірної кількості АФК, що призводить до неконтрольованого окислювального стресу (3), пошкодження мембран та некрозу тканин [22]. Це може проявлятися у пригніченні поглинання та транспортування води/поживних речовин (3), а також у дозозалежній генотоксичності, що викликає пошкодження ДНК та загибель клітин (3). Крім того, при вирощуванні *ex vitro* існує ризик змиву НК у водні об'єкти та їх вилуговування у ґрунті, що може негативно вплинути на мікроорганізми та екосистему (5).

Таким чином, огляд літератури підтверджує, що нанокомплекси мікроелементів є потужними модуляторами росту та метаболізму рослин. Їхній вплив реалізується через покращену доставку нутрієнтів та складну регуляцію

антиоксидантної системи. Для цілей біотехнології ефіроолійних культур найбільш значущим є потенціал наночастинок діяти як абіотичні еліситори для активації синтезу вторинних метаболітів [23]. Для успішного застосування необхідно ретельно контролювати концентрацію та тип НК (1, 3). Подальші дослідження необхідні для розуміння механізмів впливу НК на метаболізм та генетичні зміни [13], а також для оптимізації їх використання з метою підвищення якості ефірних олій та забезпечення сталого розвитку галузі [15, 16].

Розділ 2.х. Гістохімічні дослідження Lavandula angustifolia

2.х.1. Морфологічні та секреторні структури — залозисті трихоми

Однією з ключових особливостей лаванди вузьколистої (Lavandula angustifolia) є наявність **залозистих трихом (glandular trichomes, GTs)** — спеціалізованих клітинних структур на поверхні листя й квіток, які синтезують та накопичують терпеновмісні леткі органічні сполуки (VOCs). BioMed Central+2SpringerOpen+2

За морфологією, у L. angustifolia виділяють два основні типи ЗАЛОЗИСТИХ ТРИХОМ: **пелтатні (peltate)** та **капіто-трифомні (capitate)**. SpringerOpen+2zobodat.at+2 Зокрема, Oseni та співавтори (2024) описують пелтатні GT як склепінчасті структури, що складаються з базальної клітини, стеблової клітини, кількох секреторних клітин і накопичувальної порожнини, у якій зберігаються ефірні олії. SpringerOpen

2.х.2. Генетичні та молекулярні аспекти формування трихом

Недавні дослідження (Zhang et al., 2023) глибше розкривають біогенез пелтатних GT у лаванді. Ці автори встановили морфогенез: базальна клітина, тіло і апікальні клітини трихом формуються під час розвитку квітки, а у апікальних клітинах утворюються секреторні порожнини, де накопичуються VOCs. BioMed Central Крім того, вони ідентифікували гени сімейства **R2R3-MYB**, які можуть регулювати розвиток GT, що відкриває перспективи для молекулярного моделювання та племінної селекції лаванди з підвищеним вмістом ароматичних сполук. BioMed Central

2.x.3. Гістохімічний аналіз: локалізація терпенів, ліпідів та інших класів сполук

Гістохімічні дослідження трихом L. angustifolia були проведені з використанням різних барвників і реагентів для виявлення ліпофільних сполук, полісахаридів, фенолів тощо. Наприклад, у класичній праці, яка порівнює L. angustifolia та гібридні форми, було виявлено:

- **Реагент Nadi** (специфічний для терпенів) дає сильний позитивний сигнал у пелтатних GT і середньостеблових капітатних трихомах. zobodat.at+1
- **Флуорал Жовтий-088 (Fluoral Yellow-088)** та **Nile Red** використовуються для фарбування нейтральних ліпідів; у трихомах L. angustifolia вони показують накопичення ліпофільних компонентів, особливо в пелтатних трихомах. zobodat.at
- **PAS-реакція (реакція Шифа / періодична кисла Шиффа)** та реагенти для виявлення муко- або полісахаридів (наприклад, Alcian Blue) демонструють, що в деяких капітатних трихомах присутні полісахариди, хоча інтенсивність забарвлення менша, ніж у ліпідних компонентах. zobodat.at
- При цьому тест на фенольні сполуки (Ferric Trichloride) у цих дослідженнях трихом L. angustifolia давав слабкий або негативний сигнал, що може свідчити про переважання терпенів і ліпідних сполук у секреті трихом. zobodat.at

Ці гістохімічні дані чітко вказують, що **терпени є основними секреторними компонентами** пелтатних трихом лаванди, а також що інші компоненти, такі як ліпіди та полісахариди, можуть бути вторинними або структурними складовими секреторних клітин.

2.x.4. Функціональна роль трихом та значення в синтезі терпенів

Пелтатні GT є “біофабриками” летких терпенів: вони синтезують моно- та сесквітерпени, які визначають аромат ефірної олії лаванди. SpringerOpen+1 Молекулярні дослідження демонструють, що в секреторних клітинах GT

функціонують різні ізопреноїдні шляхи: **MEP-шлях** (пластида-локалізований) та **MVA-шлях**, через які формуються прекурсори гераніл- і фарнезил-дифосфатів, а потім — специфічні терпен-синтази (TPS), наприклад ліналоол-синтаза (LINS) та цинеол-синтаза (CINS). SpringerOpen

Модулювання експресії генів TPS та P450 (окиснювальних ферментів) у лаванді показало, що можна змінити виробництво певних терпенів у період бутонізації, що має прямий зв'язок із секреторною активністю трихом. ResearchGate+1

2.x.5. Біотехнологічні перспективи та значення для досліджень наноаквахелатів

Гістохімічні характеристики трихом *L. angustifolia* мають важливе значення для біотехнологічних досліджень, зокрема в контексті впливу наноаквахелатних комплексів на синтез терпенів. Ось чому:

1. Локалізація метаболітів: знання, що терпенові сполуки зосереджуються саме в пелтатних трихомах, дозволяє цілеспрямовано оцінювати, чи змінюється їхній об'єм і активність під дією нанокомплексів.
2. Можливість модуляції: якщо нанокомплекси впливатимуть на етапи розвитку або функціонування трихом (наприклад, через регуляцію транскрипційних факторів R2R3-MYB), це може змінити продуктивність VOC.
3. Оцінка токсичності: гістохімія може слугувати інструментом для виявлення потенційної фітотоксичності — наприклад, руйнування структури трихом, змін у накопиченні ліпідів або полісахаридів.
4. Селекційні підходи: розуміння молекулярного контролю утворення GT відкриває можливості генетичної інженерії або селекції для створення лавандових ліній із підвищеною секреторною активністю, які можуть бути чутливішими або реагувати на наномодифікатори.

Розділ 1.3. Терпенові та флавоноїдні сполуки у лаванді

Лаванда, особливо Лаванда вузьколиста (*L. angustifolia*), є рослиною, чий хімічний склад характеризується високим вмістом двох ключових класів вторинних метаболітів: терпеноїдів та флавоноїдів. Синтез цих молекул відбувається у різних клітинних компартментах і забезпечує рослині адаптацію до навколишнього середовища та захисні функції [1, 5].

Терпеноїди — це великий і різноманітний клас природних органічних сполук, які є похідними ізопрену (C5H8), з'єднаного за принципом "голова до хвоста". Вони класифікуються за кількістю ізопренових одиниць. У лаванді домінують монотерпени (C10, дві ізопренові одиниці), які формують основу ефірної олії [2].

Ключові представники в лаванді:

- Ліналоол (Linalool): Є ациклічним монотерпеновим спиртом. Його структура містить подвійні зв'язки та гідроксильну групу (OH), що надає йому помірної полярності.

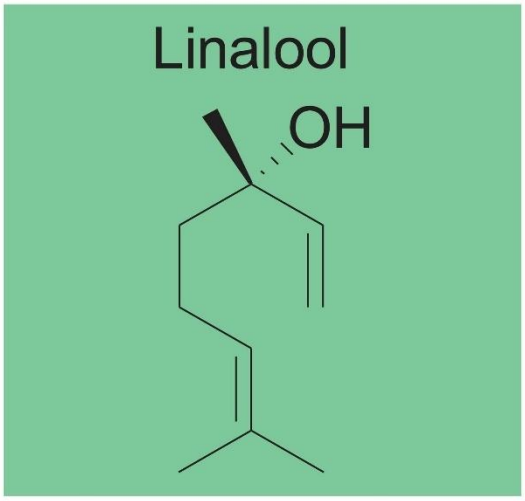


Рис. Ліналоол

- Ліналілацетат (Linalyl Acetate): Є естером Ліналоолу. Він утворюється в результаті естерифікації Ліналоолу.

Ці сполуки накопичуються у спеціалізованих клітинних структурах епідермісу — залозистих трихомах [2].

Ліналоол є летючою безбарвною рідиною. Як спирт, він хімічно активний, здатний до окислення на повітрі, що призводить до утворення гідропероксидів, та до естерифікації (утворення Ліналілацетату). Ліналілацетат, будучи естером, є менш летючим і більш стабільним, проте може піддаватися гідролізу під впливом вологи або ферментів[4].

Синтез ізопреноїдів відбувається паралельно у двох незалежних метаболічних шляхах, які забезпечують попередники: Ізопентеніл пірофосфат (IPP) та Диметилаліл пірофосфат (DMAPP). Тобто метаболічний шлях біосинтезу терпенів виглядає наступним чином:

1. Немевалонатний шлях (МЕП-шлях):
    - Локалізація: Пластиди.
    - Функція: Синтез IPP і DMAPP з пірувату та гліцеральдегід-3-фосфату.
    - Кінцевий попередник: IPP і DMAPP конденсуються до Гераніл Пірофосфату (GPP). GPP під дією Ліналоолсинтази (LIS) перетворюється на Ліналоол [2].
2. Мевалонатний шлях (МВА-шлях):
    - Локалізація: Цитозоль.
    - Функція: Синтез IPP і DMAPP з ацетил-КоА.
    - Кінцевий попередник: Конденсація IPP і DMAPP призводить до Фарнезил Пірофосфату (FPP), попередника сесквітерпенів (C15) (наприклад, β−каріофілену) [2].

Флавоноїди — це клас поліфенольних сполук, що належать до групи природних фенолів. Їхня базова структура складається з 15 атомів вуглецю,

організованих у C6-C3-C6 систему: два бензольні кільця (A і B), з'єднані тривуглецевим ланцюгом, який зазвичай утворює кисневмісне гетероциклічне кільце (C) [3].

Ключові представники в лаванді (переважно глікозильовані форми):

- Апігенін (Apigenin): Належить до класу флавонів.
- Лютеолін (Luteolin): Також флавон.
- Кверцетин (Quercetin): Належить до класу флавонолів [3].

Флавоноїди, такі як Апігенін та Лютеолін, є твердими кристалічними поліфенольними речовинами. Вони, як правило, слабо розчинні у воді (особливо у неглікозильованій формі), але добре розчинні в полярних органічних розчинниках та лугах. Їхня хімічна реакційність зумовлена наявністю численних гідроксильних груп (OH), що дозволяє їм виступати в ролі ефективних відновників і брати участь у реакціях хелатування іонів металів.

Синтез флавоноїдів відбувається через Шикіматний шлях та Шлях фенілпропаноїдів, які проходять у цитозолі [3]. Метаболічний шлях флавоноїдів протікає наступним чином:

1. Шикіматний шлях: Генерує ароматичну амінокислоту Фенілаланін.
2. Шлях фенілпропаноїдів: Перетворює Фенілаланін на p−Кумароїл-КоА (попередник кільця B).
3. Ключова реакція: Три молекули Малоніл-КоА та одна молекула p−Кумароїл-КоА конденсуються за допомогою ферменту Халконсинтази (CHS), утворюючи Халкон.
4. Формування скелета: Халконізомераза (CHI) циклізує Халкон до Флаванону (Нарингеніну).
5. Утворення Флавонів: Нарингенін далі модифікується ферментами (наприклад, Флавонсинтазою, FNS) для утворення кінцевих продуктів — Апігеніну та Лютеоліну[3].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1.2 **Приготування поживного середовища**

Дослідження проводили в навчально-наукової лабораторії біотехнології рослин кафедри екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнологій та екології НУБіП. При проведенні експериментальної роботи застосовували загальноприйняті методи в культурі ізольованих тканин рослин [11].

Для введення в культуру *in vitro* ізольованих меристем та мікроживців використовували як базове безгормональне живильне середовище MS (табл. 1).

Таблиця 1

Складові живильного середовища	Розрахунок на 1 л
Макросолі по MS	100 мл
Мікросолі по MS	1 мл
Fe-хелат	5 мл
Вітаміни по MS	1 мл
Сахароза	20 г
Агар	7 г
Дистильована вода	доводимо об’єм до 1 л
1М КОН	100 мкл (pH – 5,6 -5,8)

Також приготували гормональне поживне середовище MS з додаванням кінетину (0,25 мг/л середовища).

Для культивування використовували модифіковані поживні середовища з додаванням наноаквахелатних комплексів Fe, Cu, Zn (з концеентрацією 1,8 г/л, 0,4 г/л, 1 г/л, 0,8 г/л відповідно), Se (з концентрацією 400 мг/л) та Se, I (з

концентрацією 180 мг/л та 880мг/л відповідно). Ці комплекси отримані в науково-дослідній лабораторії технології наноматеріалів НУБіП та люб'язно надані професором А. Ф. Ліхановим. Кожен комлекс у вигляді водного розчину ми добавляли поживне середовище MS з кінетином (0,25 мг/л середовища) у певній кількості. Експериментальну модель комбінацій формували шляхом розподілу адаптованих експлантів трьох сортів лаванди, отриманих способом мікроклонального розмноження, які були отримані з минулих етапів дослідження між варіантами поживних середовищ, збагачених кінетином та наноаквахелатними комплексами з різною концентрацією наночастинок (таблиця)

Назва комбінації (сорт рослини/варіант поживного середовища)	Склад середовища (кін – кінетин, 0,25 мг/л)	Концентрація наноаквахелатів в комплексі,	Концентрація комплексу наночастинок в поживному середовищу
Munstead/1	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	100 мкл/л
Munstead/2	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	50 мк/л
Munstead/3	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	100 мк/л
Munstead /4	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	50 мк/л

Munstead /5	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	10 мк/л
Munstead 6	MS + кін + Se + I	Se = 180 мг/л, I = 880 мг	100 мк/л
Hidcote /1	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	100 мкл/л
Hidcote /2	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	50 мк/л
Hidcote /3	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	100 мк/л
Hidcote/4	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	50 мк/л
Hidcote /5	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	10 мк/л
Hidcote /6	MS + кін + Se + I	Se = 180 мг/л, I = 880 мг	100 мк/л
Purple Haze/1	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	100 мкл/л
Purple Haze/2	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	50 мк/л
Purple Haze /3	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	100 мк/л

Purple Haze /4	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	50 мк/л
Purple Haze /5	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	10 мк/л
Purple Haze /6	MS + кін + Se + I	Se = 180 мг, I = 880 мг	100 мк/л

Кожен з розроблених приготовлених середовищ стерилізували в підготовлених пробірках 5 та 10 мл в автоклаві під тиском 1 атм під температурою 100 ℃ протягом 30 хвилин.

2.3. Стерилізація посадкового матеріалу

Для стерилізації вибраних експлантів для етапу адаптації нашого майбутнього посадквоого матеріалу використовували наступний порядок дій:

1) в марлеву серветку поміщають посадковий матеріал;
2) в стерильних умовах під ламін-боксом замочують в 70% розчині етанолу на 1 хв;
3) замочують в водний розчин гіпохлориту натрію (співвідношення об’ємів стерилянту до розчинника – 1:2) на 15 хв;
4) тричі промивають стерильною дистильованою водою по 5 хв
5) висушують на фільтрувальному папері

2.1. Мікроклональне розмноження *Lavandula angustifolia* на модифікованих поживних середовищах в культурі in vitro

Як матеріал для проведення досліджень використовували рослини *L. angustifolia* трьох сортів, наданих кафедрою екобіотехнологій та біорізноманіття:

«Munstead», «Hidcote» і «Purple Haze», які відрізняються один від одного свої генотипом і морфологічними ознаками. Донорні рослини вирощували в умовах напівзакритого грунту (рис. 2)

Рис 2. *L. angustifolia* сорту «Purple Haze» (фото з місця виконання роботи)

Для отримання посадкового матеріалу використовували молоді пагони та апікальні меристеми висотою 0,3 – 0,5 см, які виділяли з верхівкових та пазушних бруньок стебла однорічних рослин наявних сортів *L. angustifolia*, оскільки ці частини рослини є найбільш придатними для мікроклонального розмноження та мають високий потенціал для регенерації.

Культивування проводили послідовно в три стадії:

1) адаптація посадкового матеріалу на безгормональному поживному середовищі MS;

2) мультиплікація на гормонально-збагаченому середовищі з додаванням кінетину (0,25 мг/л);

3) культивування на модифікованих поживних середовищах із додаванням наноаквахелатних комплексыв для оцінки їхнього впливу.

1. Адаптація на безгормональному середовищі MS в умовах in vitro

Початковий етап (ініціація/адаптація) проводили на стандартному поживному середовищі MS без додавання регуляторів росту. Після стерилізації посадкового

матеріалу зразки в асептичних умовах були посаджені в стерильне поживне середовище. Даний період тривав 14 днів. Цей крок мав дві мети: по-перше, адаптувати посадковий матеріал до умов in vitro (освітлення, вологість, інертне живильне середовище), по-друге — знизити окислювальний стрес і перенапруження тканин, часто пов'язані з пересадкою в стерильні умови. Огляди й експериментальні роботи показують, що використання MS на етапі ініціації сприяє стабілізації ростових процесів і зменшенню ризику некрозу та гіпергідричності перед наступною гормональною обробкою. PMC+1.

2. Мультиплікація на гормональному середовищі з кінетином

Після етапу адаптації, експланти в асептичних умовах пересаджували на поживне середовище MS із додаванням кінетину (0,25 мг/л поживного середовища) з метою індукції інтенсивного наростання пагонів і мультиплікації вихідного матеріалу. Цей період тривав 14 днів Роль цитокінінів у стимуляції бічних меристем, поділу клітин та утворенні кількох пагонів на експланті добре підтверджена в літературі; підбір концентрації кінетину повинен базуватися на попередніх пробах для конкретного сорту, оскільки реакція різних генотипів може суттєво різнитися. ScienceDirect

3. Пересадка на модифіковані поживні середовища з наночастинками

Остаточний етап полягав у перенесенні клонів на модифіковані варіанти поживних середовищ (за основу було взято гормональне поживне середовище MS з кінетином), кожен із яких містив певний тип/концентрацію наночастинок. Використання наночастинок у середовищах in vitro для лаванди і багатьох інших видів показало можливість покращення мультиплікаційної здатності, зниження гіпергідричності, змінення активності антиоксидантних систем і модифікації утворення вторинних метаболітів; одночасно ефекти є дуже залежними від типу та концентрації наночастинок. MDPI+2SpringerLink+2

Варто зазначити, що протягом всіх стадій мікроклонального розмноження експланти культивували в термальній шафі (температура повітря - 26 °C, фотоперіод - 16/8 год, інтенсивність освітлення - ~25 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$).

На етапі мультиплікації отримані пагони були розподілені по модифікованих середовищах із додаванням наночастинок (див. таблицю Х), де їх культивували протягом 21 дня для оцінки впливу на розвиток морфологічних показників та подальшого аналізу концентрації накопичених цільових сполук з отриманих таким способом зразків

3. **3.** Визначення терпенових сполук у рослин-регенерантів лаванди

Дослідження проводили в навчально-наукової лабораторії біотехнології та клітинної інженерї кафедри екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнологій та екології НУБіП.

Біохімічне профілювання експлантів, отриманих із комбінацій сортів лаванди та варіантів поживних середовищ, проводили методом високоефективної тонкошарової хроматографії на пластинках Silica gel 60 (Merck). Розділення терпенів здійснювали у двох системах рухомих фаз: етилметилкетон – етилацетат – метанол – вода (30:20:5:5, v/v/v/v) та хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (60:32:12:8, v/v/v/v).

Терпенові сполуки, здатні до флуоресценції, виявляли на хроматограмах під УФ-опроміненням (λ = 365 нм). Для детекції терпеноїдів хроматографічні пластинки обробляли реагентом на основі анісового альдегіду, після чого проводили короткочасну термообробку при 105 °C протягом 3 хв. Отримані хроматограми сканували на планшетному сканері, а показники Rf та площі піків індивідуальних сполук визначали фотоденситометрично за допомогою програмного забезпечення Sorbfil TLC Videodensitometer.

Розділ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

4.1 Адаптація та мультиплікація лаванди вузьколистої

Спочатку було відібрано 27 експлантів сорту *Lavandula angustifolia* ‘Munstead’, 27 експлантів сорту ‘Hidcote’ та 31 експлант сорту ‘Purple Haze’.Такий підхід дав змогу максимально усунути контамінацію поверхневими мікроорганізмами та забезпечити отримання асептичних зразків для подальших стадій введення в культуру in vitro.

Після завершення стерилізаційних процедур експланти молодих пагонів та апікальних меристем висаджували на безгормональне живильне середовище MS. Цей етап був спрямований на первинну адаптацію рослинного матеріалу до умов *in vitro*, що є критично важливим для формування життєздатної асептичної культури. Протягом 14 днів проводили щоденний моніторинг стану експлантів, відстежували появу ознак росту, зміни морфогенезу та можливі прояви контамінації. За результатами спостережень було встановлено, що всі три сорти лаванди продемонстрували високий рівень стерильності та задовільну адаптацію до середовища MS без регуляторів росту (Таблиця). Отриманий термін адаптації виявився достатнім для стабілізації фізіологічного стану зразків перед їх подальшим перенесенням на інше середовище.

Таблиця 1.

Результат культивування *L. angustifolia* на безгормональному середовищі МС

Сорт	Кількість експлантів	7 доба		14 доба		Ефект стерилізації, %
		кількість заражених	% здорових	кількість заражених	% здорових	
Munstead	27	0	100	3	88	88
Hidcote	27	0	100	1	96	96
Purple Haze	31	1	96	0	100	96

Після успішного проходження адаптаційного періоду експланти в асептичних умовах переносили на гормональне живильне середовище MS, збагачене кінетином. Додавання цитокініну було необхідним для стимуляції процесів мультиплікації та активного формування нових пагонів, що є ключовою умовою для отримання достатнього об’єму вихідного матеріалу для подальших біотехнологічних досліджень.

На цьому етапі проводився систематичний контроль розвитку культури, фіксувалися темпи росту, а також відстежувалася відсутність ознак бактеріальної або грибної контамінації. Протягом періоду культивування було відзначено інтенсивний ріст пагонів, що свідчило про ефективність підібраної концентрації кінетину та відповідність фізико-хімічних параметрів середовища потребам *Lavandula angustifolia* в умовах *in vitro*.

а)

б)

Рис. *L. angustifolia* сорту «Purple Haze» в гормональному середовищі МС з кынетином на 1 день культивування (а) та 14 день культивування (б)

Висока стерильність культур зберігалася протягом усього часу спостереження, що підтверджує коректність проведеної стерилізації та оптимальність умов культивування (Таблиця.

Таблиця 2.

Результат культивування *L. angustifolia* на гормональному середовищі МС з кінетином

Сорт	Кількість експлантів	7 доба		14 доба		**Ефект стерилізації, %**
		кількість заражених	% здорових	кількість заражених	% здорових	
Munstead	23	0	100	4	88	**88**
Hidcote	21	0	100	1	96	**96**
Purple Haze	25	1	96	0	100	**96**

4.2 Культивування на поживних середовищах з наноаквахелатами

Останнім етапом стало культивування на поживних середовищах наших адаптованих експлантів з додаванням наноаквахелатів. Експланти після етапу мультиплікації живцюванням в стерильних умовах розподілили комбінаціями варіантівми поживних середовищ та сортів лаванди вузьколистої. Цей період культивування тривав 21 день і за цей час ми спостерігали за морфологічним змінами наших зразків. Такими морфологічними показниками були: довжина пагона, довжини міжвузля, площі листкової пластинки та кількості пагонів на одному експланті. Ці самі значення розвитку морфлогічних змін були викладенні як у вигляді таблиці, так і вигляді графіків медіан вибірки значень розвитку морфології експлантів.

	1 день			
Комбінація (варіант поживного середовища/сорт)	l пагону	S листкової пластинки	l міжвузля	N пагонів на одному експлантів
Hidcote/1	7, 8, 4	серед. 3	2, 1, 1	9, 11, 8
Purple Haze/1	11, 5, 6, 7	серед. = 2	1, 1; 1, 2; 3, 2; 1, 1	11, 6, 7, 9
Hidcote/2	9, 4, 7, 4	серед. = 2	1, 2, 0, 2	2, 4, 2, 6
Purple Haze/2	3, 1, 3, 3	серед. = 2	2; 1; 1; 1, 1	1, 1, 1, 4
Munstead/4	2, 2, 2, 2	серед. = 1	1; 1; 1; 1	3, 6, 5, 7
Munstead/5	4, 3, 1, 1	серед. = 3	3, 1, 1, 1	3, 2, 2, 2
Purple Haze/5	1, 1, 1, 1	серед. = 4	1,1,1,1	4, 5, 11, 6
Munstead/6	2, 2, 1	серед. = 4	1, 1, 1	4, 3, 4
Purple Haze/6	1, 8, 2, 1, 3	серед. 2	1; 2, 1; 1, 1; 1; 1, 2; 1	6, 8, 6, 6, 3, 4
Munstead/3	15, 5, 4, 1	серед. = 3	3,4, 1, 1	8, 4, 4, 2

У деяких спостерігалася різна динаміка розвитку цих самих змін. Так наприклад, комбінація Purple Haze/1 має найбільший приріст за усіма показниками. Далі за динамікою можна виділити Munstead/3, хоча у нього найбільшого розвитку була у довжині пагона. Хоча це мало говорить про зміни в цілому. Для цього ми визначали $НІР_{0,05}$ кожного показника на 1-ий і 21-ий день культивування для оцінки істотності різниці між середніми значень вибірок по критерію Стьюдента. Для цього ми використали формулу:

$$НІР_{0,05} = \frac{(x1+x2+\cdots+xn)}{n} * 0,05$$

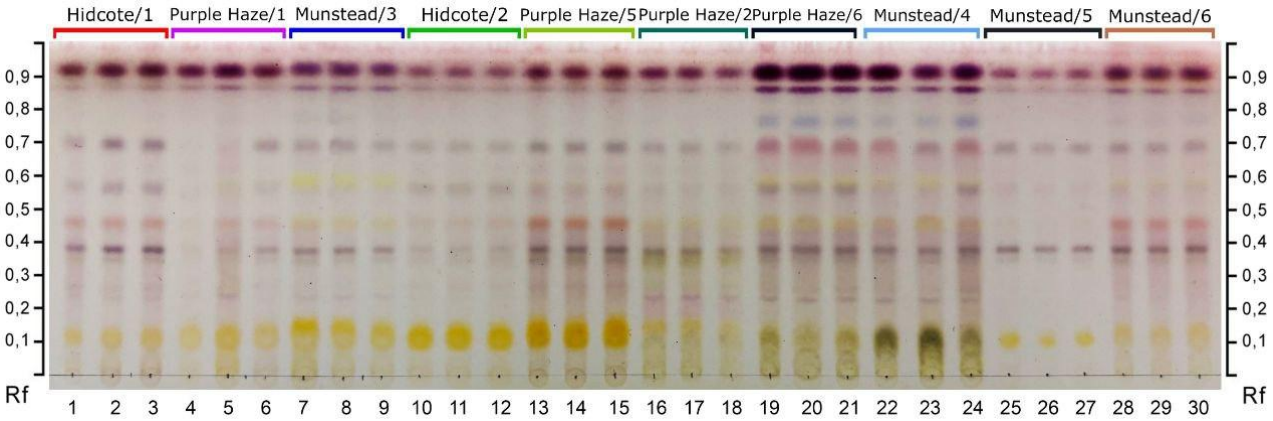
де x_1, x_2,… - значення нашої вибірки, n – кількість вибраної вибірки, 0,05 – коефіцієнт істотності різниці

Проте протягом всього цього етапу деякі комбінації не спромоглися дати відчутного прогресу у своїй морфології. Вони або загинули, або їх показники були однаковими протягом всього часу періоду культивування. Можливою причиною могли стати або недостатня кількість кінетину в поживному середовищі [25], що буває в випадках недостатній кількості самого поживного середовища або специфічність сортів лаванди до надмірних концентрацій наночастинок, що призвели до фітотоксичності та призвели до загибелі культури комбінації сорту та варіанту поживного середовища [17, 22]. З тих комбінацій, які пройшли останній етап мікроклонального розмноження можна було працювати тільки десять з усіх сформованих на початковову етапі дизайну експерименту. Це Munstead/3, Munstead/4, Munstead/5, Hidcote /1, Hidcote /2, Purple Haze/1, Purple Haze/2, Purple Haze/5, Purple Haze/6. Ці самі культури були і подальшому досліджені для визначення терпенових сполук в експлантах

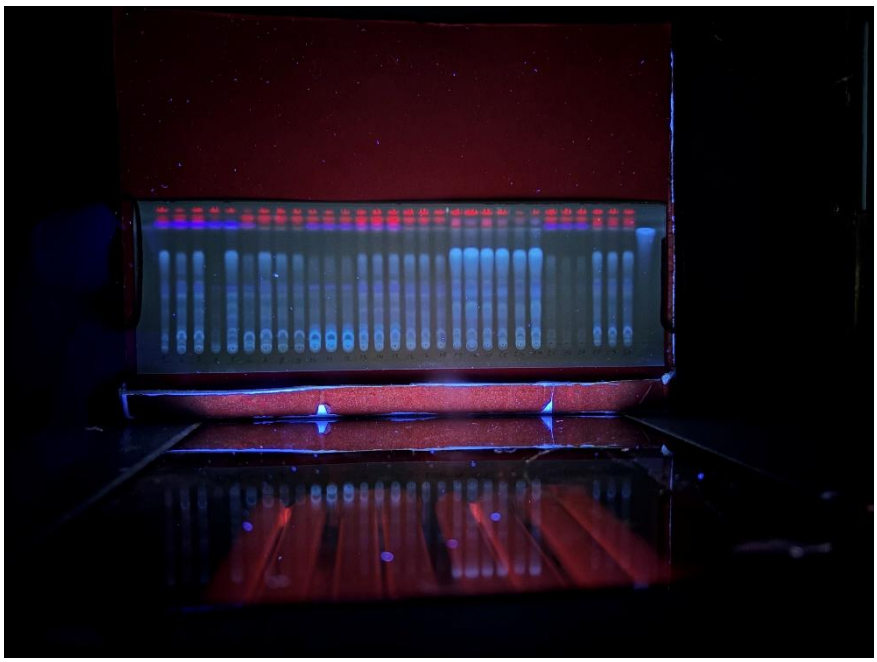
3.2 Аналіз хроматограми екстрактів експлантів лаванди

Після проведення хроматографічного розділення, ми отримали тридцять смуг, які розділені на десять груп по три повторності. Це комбінації варіанту модифікованих середовища і сорту лаванди, на яких вони культивувалися (рис. 3.1)

а)



б)



в)

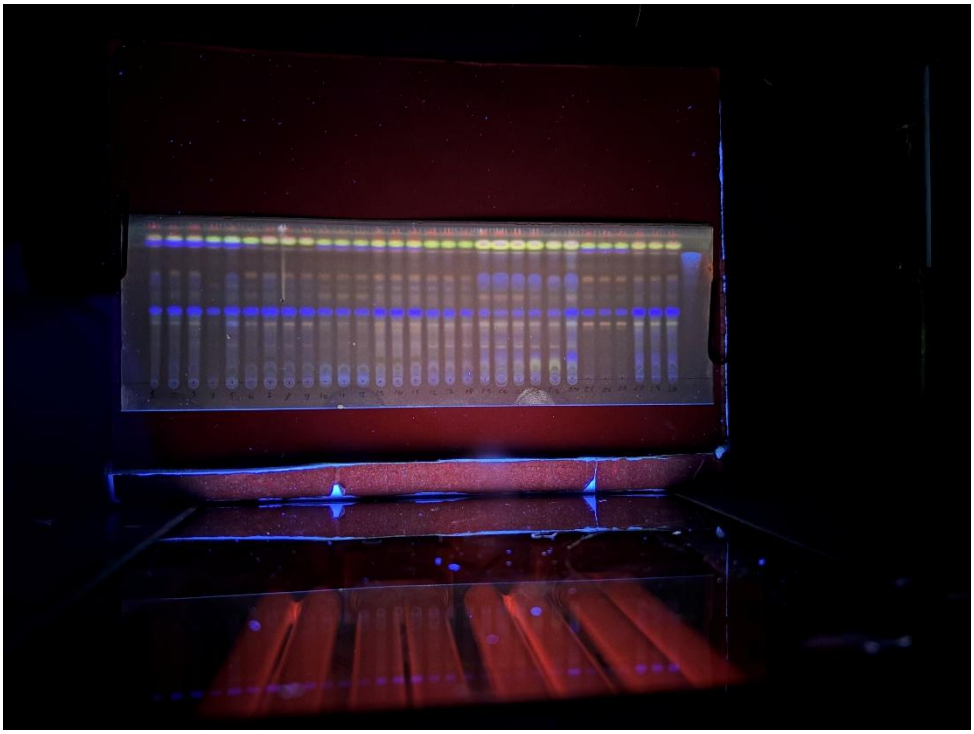


Рис 3.1. Хроматограма екстрактів експлантів лаванди, вирощеної на модифіокваних середовищах у видимому світлі (а), візуалізації під УФ світлі (λ_{max} = 365 нм) до (б) та після (в) обробки анісовим альдегідом; Rf – коефіцієнт рухливості

Після ми провели візуальний аналіз для виявлення значень спектрограм в програмі Sorbfil TLC і отримали значення піків. Потім ми провели однофакторного дисперсійного аналізу, аналіз головних компонент, та дискріманатний аналіз, а також розробили на основі цих значень теплову та кореляційну карти на онлайн-ресурсі https://www.metaboanalyst.ca.

За профілем окремих терпенових компонентів досліджені три сорти лаванди вузьколистої були поділені на дві умовні групи. У рослин спостерігався різноманітний набір терпеноїдних сполук, кількість яких коливалася від 1 до 3 залежно від поєднання генотипу сорту та варіанту живильного середовища.

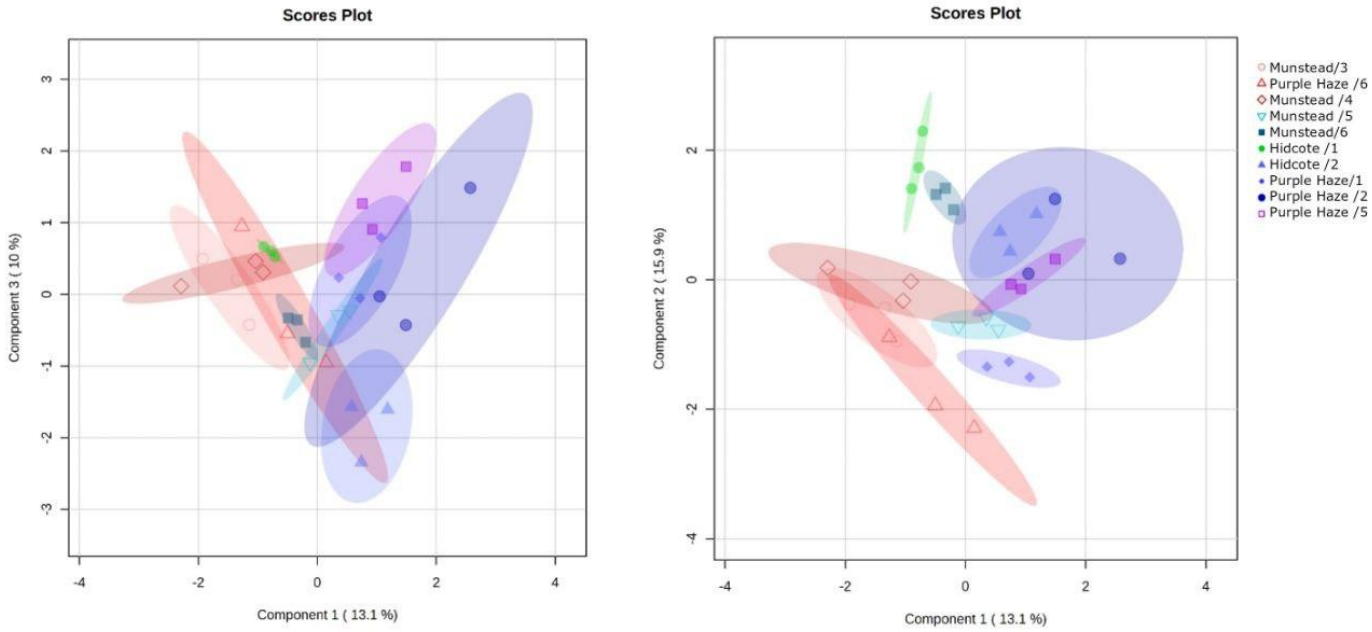


Рисунок 3.4 – Результати аналізу метаболічних профілів десяти комбінацій середовища і сортів лаванди вузьколистої методом PCA-аналізу

Графік ілюструє результати PCA-аналізу, виконаного для трьох сортів лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia*): «Munstead», «Hidcote» та «Purple Haze». Кожна точка на діаграмі відповідає окремому зразку, при цьому її колір і форма позначають певний сорт, вирощений на середовищі з додаванням наноаквахелатів. Перша головна компонента пояснює 13,1% загальної дисперсії, тоді як друга компонента охоплює 15,9% варіацій у складі вторинних метаболітів між досліджуваними сортами. Загалом перші дві компоненти відображають лише 29% дисперсії, що вказує на можливий вплив інших чинників, не представлених на графіку, але здатних визначати зміни у вторинному метаболізмі, фітохімічних особливостях і генетичному потенціалі лаванди.

Розташування точок у координатному просторі головних компонент демонструє міжгенотипні відмінності та вплив компонентів середовищ на метаболічні профілі рослин. Виразна групованість маркерів одного сорту та їх відокремленість від інших груп свідчать про наявність у терпенових комплексах сортоспецифічних сполук. Саме завдяки цим метаболітам, переважно терпенової природи, зразки одного сорту можна чітко відмежувати від інших. Маркери

окремих зразків, що компактно згруповані та розташовані віддалено від інших кластерів, характеризуються більш відмінними метаболічними профілями.

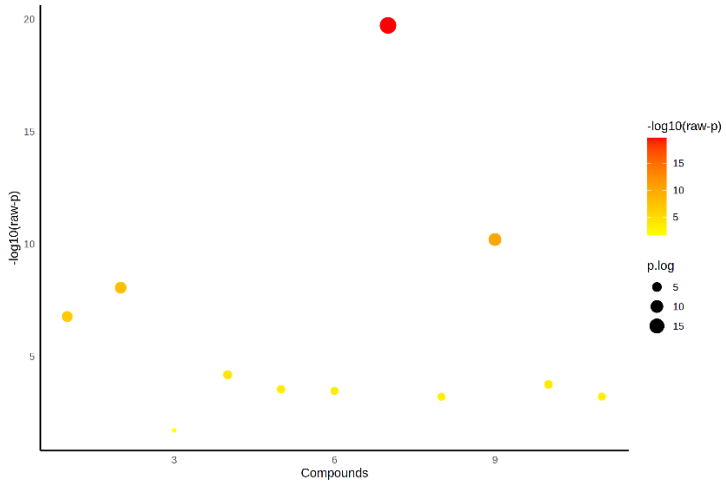
Отже, за результатами аналізу головних компонент зразки всіх десяти комбінацій сортів та модифікованих поживних середовищ формують окремі підкластери. Це свідчить про наявність суттєвих і статистично достовірних відмінностей у їхніх метаболічних профілях. Часткове перекривання еліпсів 95% довірчих зон для більшості комбінацій сортів і середовищ у координатах другої та третьої головних компонент (15,9% і 10,0% відповідно) може пояснюватися спільністю генетичного походження та певною схожістю спектра виділених терпенових сполук у частини досліджуваних варіантів. Близьке просторове розташування цих груп на графіку щодо лаванди вузьколистої також узгоджується з їхньою філогенетичною спорідненістю. Крім того, такі результати опосередковано підтверджують гібридне походження верби ламкої, однією з батьківських форм якої вважається лаванда.

Отримані PCA-дані узгоджуються з результатами дискримінантного аналізу, який спеціально спрямований на визначення достовірних відмінностей між групами за сукупністю біохімічних маркерів. Перед створенням статистичної моделі первинний масив даних було опрацьовано методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) із застосуванням непараметричного тесту Крускала–Уолліса (Kruskal–Wallis test, $p < 0,05$). На рисунку 3.3 наведено результати ANOVA: для кожної виявленої сполуки продемонстровано значення її пікової площі (інтенсивності сигналу) та статистичної значущості міжгрупових відмінностей. По осі X розташовано площу піку, по осі Y — від'ємний десятковий логарифм p-значення; вищі значення відображають більш достовірні відмінності між видами. Маркери в теплій кольоровій гамі (від жовтого до червоного) відповідають високим рівням надійності встановлених різниць.

Оцінювання ефективності дискримінантної моделі виконано методом крос-валідації, що підтвердило її придатність для подальшого аналізу (Szymańska et al., 2011). За показником точності було визначено частку правильно

класифікованих зразків; у межах моделі, побудованої із використанням чотирьох компонент, цей показник наблизився до 100%. Коефіцієнт детермінації (R^2) також демонструє високу пояснювальну здатність моделі — близько 95% варіації даних (рис. 3.5, б).

а)



б)

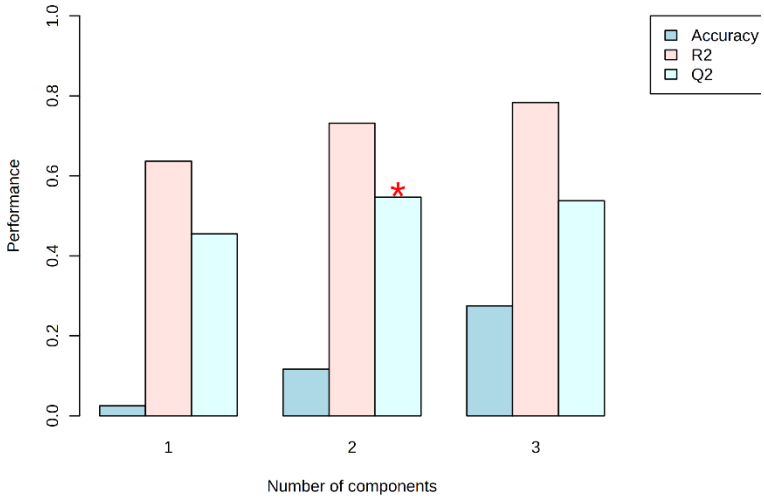


Рисунок 3.5 – Графіки достовірностей різниць між показниками вторинних метаболітів у профілях комбінацій модифікованих поживних середовищ і сортів лаванди (*Lavandula ang.*) (а); результат крос-валідації дискримінантної моделі (б), * – оптимальна кількість компонент, за якими модель досягає найкращого балансу між точністю та узагальненням

Коефіцієнт перехресної валідації (Q^2) свідчить про те, що побудована модель добре узагальнює результати хроматографічного аналізу та є придатною для прогнозування нових даних. Графік дискримінантного аналізу підтверджує, що за профілем терпенових сполук усі зразки десяти досліджуваних комбінацій чітко поділяються на окремі групи, які повністю відповідають їх видовій приналежності. Перша дискримінантна функція пояснює 37,3% загальної дисперсії між видами, а друга охоплює ще 21,3%. Таким чином, у координатах перших двох функцій усі види формують виразні та відокремлені кластери, що свідчить про істотні відмінності у їхніх метаболічних профілях.

Результати кластерного аналізу експлантів трьох сортів лаванди за якісним складом терпенових комплексів повністю корелюють із таксономічним розподілом компонентів модифікованих поживних середовищ (рис. 3.6). Це додатково підкреслює вплив складу середовища на формування специфічних.

Дендрограма демонструє результати кластерного аналізу біохімічних профілів сортів лаванди, які в легенді позначені різними кольорами. На графіку до I кластеру увійшли метаболічні профілі кількох зразків, які, у свою чергу, були розподілені на три підкластери: Ia, Ib та Ic. До підкластера Ia належать комбінації *Purple Haze/5*; до Ib — *Munstead/5* та частково *Purple Haze/2*; до Ic — *Munstead/6*. Відстані спорідненості між зразками всередині підкластерів Ia та Ib є досить малими, що свідчить про подібність і вирівняність метаболічних процесів у цих експлантах. Такий розподіл може бути зумовлений однаковим складом поживного середовища — зокрема, наявністю наноаквахелатів Se у концентрації 10 мкг/л. Зразки характеризуються значною метаболічною варіативністю, що відображає біохімічну пластичність виду й здатність утворювати широкий спектр терпенових сполук. Таким чином, виокремлення цих п’яти комбінацій середовищ і сортів в окремий кластер узгоджується з їх здатністю до активного накопичення терпенів та підтверджує високу інформативність вторинних метаболітів як маркерів сортової специфічності.

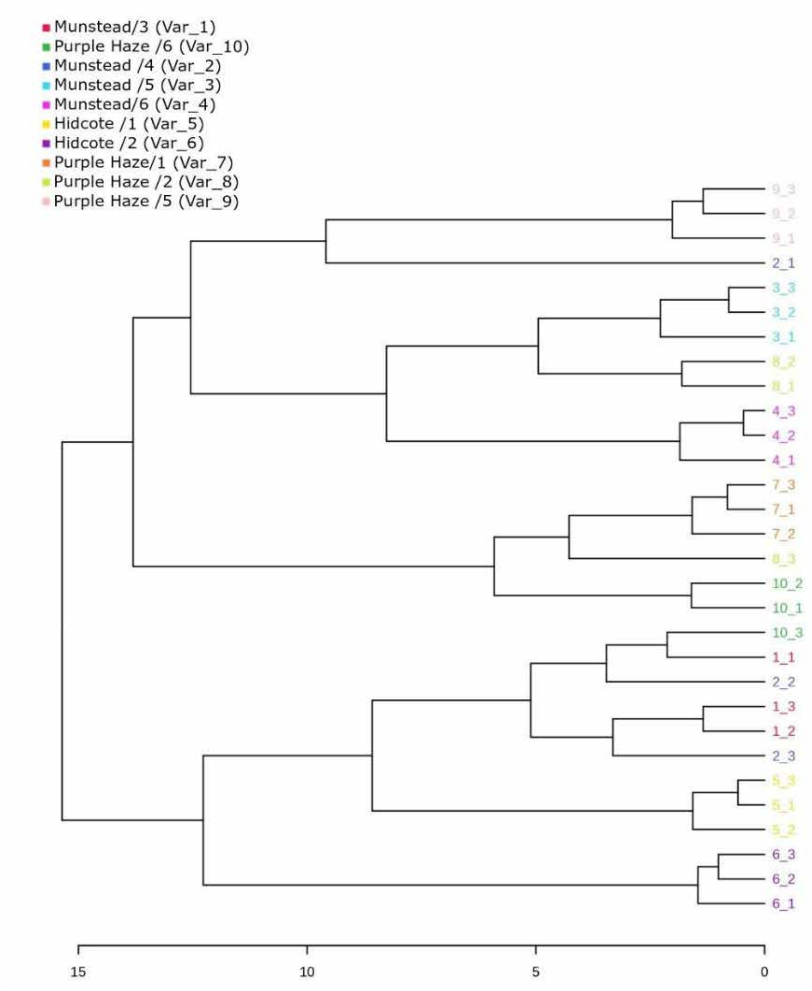


Рисунок 3.6 – Кластерний аналіз терпенового складу експлантів десяти комбінацій модифікованих поживних середовищ і сортів лаванди

Другий кластер (II) представлений метаболічними профілями *Munstead/3*, *Hidcote/1* та *Hidcote/2*. Формування окремого кластеру свідчить про специфічність їхніх вторинних метаболітів, що може бути пов’язано як із генетичними особливостями сортів, так і з дією інших внутрішньо- або зовнішньофакторних чинників. Оскільки тривалий час виділення видів базувалося переважно на морфологічних ознаках, виявлена специфічність складу вторинних метаболітів може бути функціонально пов’язана з морфогенезом, зумовленим регуляторними властивостями цих сполук. Попередній аналіз також вказує на можливий зв’язок між складом модифікованих поживних середовищ і генетичним потенціалом сортів ішого

матеріалу. Установлені концентрації наноаквахелатних комплексів узгоджуються з біохімічними профілями цих зразків, однак для формування остаточних висновків потрібні додаткові дослідження.

Таким чином, кластерний аналіз метаболічних профілів підтверджує таксономічне положення досліджених комбінацій сортів лаванди та узгоджується з результатами мікроклональних досліджень. Отримані дані демонструють, що метаболічні профілі можуть бути інформативним інструментом для оцінювання морфологічних взаємовідносин у межах сортів і варіантів живильних середовищ.

Урахування теплової карти, яка об’єднує результати кластерного аналізу, множинного кореляційного аналізу та вихідних даних тонкошарової хроматографії, дозволило глибше зрозуміти взаємозв’язок між комбінаціями поживних середовищ, сортами лаванди та складом терпенових сполук в експлантах (рис. 3.7). Теплова карта відображає відносний вміст окремих речовин (за величиною Rf) у кожному зразку: червоний колір відповідає високій концентрації сполуки, світло-блакитний — середній, синій — низькій або її відсутності. Як і в попередньому аналізі, сполуки з Rf ≈ 0.92, Rf ≈ 0.34, Rf ≈ 0.76 та Rf ≈ 0.23 позначені високим вмістом (комірки червоного та коричневого кольорів) у більшості експлантів десяти комбінацій середовищ і сортів лаванди.

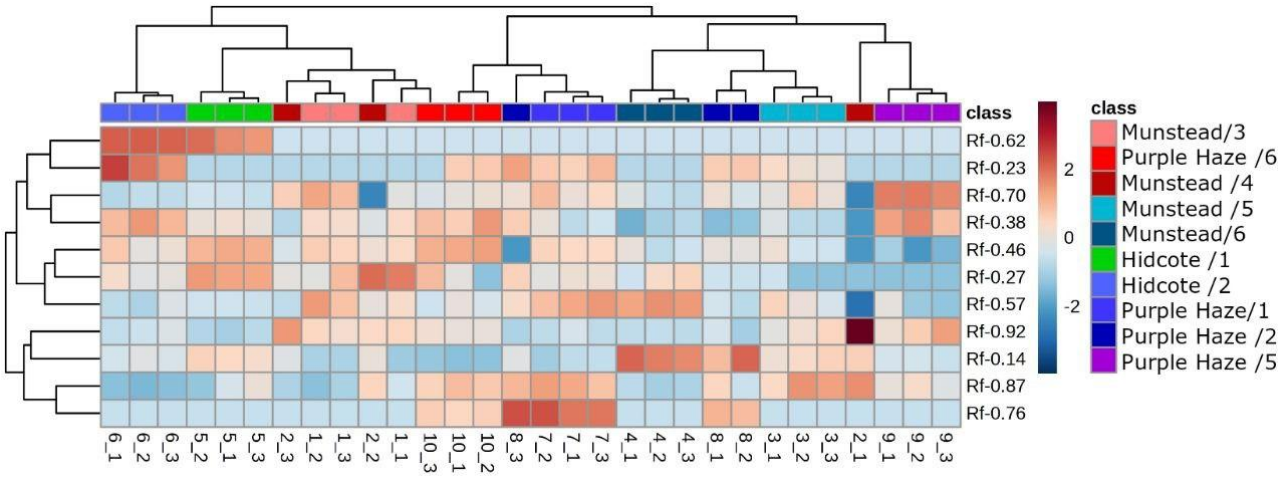


Рисунок 3.7 – Теплова карта розподілу комплексу вторинних метаболітів в екстрактах листків десяти комбінацій поживних середовищ і сортів лаванди

У зразках комбінацій *Munstead/4*, *Munstead/5*, *Purple Haze/5* та *Hidcote/1* зазначені сполуки присутні у значно нижчих концентраціях, що відображено блідо-блакитним або синім забарвленням на тепловій карті. Теплова карта також виявляє надійний позитивний кореляційний зв'язок: високий вміст сполуки з Rf ≈ 0,23 супроводжується підвищеним вмістом речовин із Rf ≈ 0,14 та Rf ≈ 0,92. Така закономірність може свідчити про їхню спільну участь у визначених метаболічних шляхах, що узгоджується з результатами кореляційного аналізу (рис. 3.8).

Вміст і присутність цих сполук можуть істотно варіювати між різними комбінаціями регенерованих рослин. Під час аналізу даних було встановлено низку тенденцій, а також виявлено окремі метаболіти, які корелюють із морфологічними характеристиками рослин. Ці речовини можуть розглядатися як потенційні біохімічні маркери, придатні для подальшого використання у системах ідентифікації й біотехнологічного моніторингу рослин лаванди.

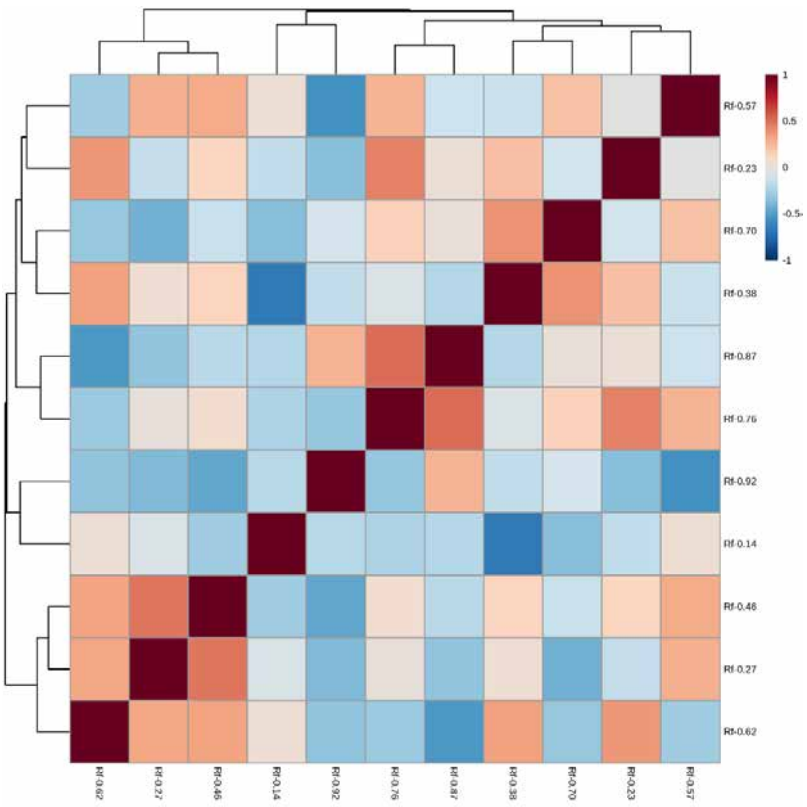


Рисунок 3.8 – Кореляційна матриця вторинних метаболітів у експлантів комбінацій поживних середовищ і сортів лаванди вузьколистої

Отримані результати свідчать, що для комбінації *Purple Haze/2* характерний досить різноманітний спектр терпеноїдів із коефіцієнтами утримання в діапазоні Rf від 0,23 до 0,87. У зразках цього варіанта зафіксовано високий вміст сполук із Rf ≈ 0,76 і Rf ≈ 0,87, які за специфічними реакціями ідентифіковано як терпени. Водночас загальний вміст фенольних речовин у цьому варіанті є нижчим порівняно з деревними формами, що може свідчити про ширший спектр різноманітності фенольних сполук при зниженні їх сумарної концентрації.

У близької за характеристиками комбінації *Purple Haze/1* також спостерігається наявність широкого набору терпенових речовин, проте амплітуда їх піків виражена слабше. Наприклад, пікові значення сполук із Rf ≈ 0,76 і Rf ≈ 0,87, аналогічні тим, що виявлені у вищезазначеної комбінації, свідчать про високу активність відповідної метаболічної ланки та здатність рослини інтенсивно накопичувати терпенові компоненти.

Отже, оцінюючи результати досліджених комбінацій варіантів і модифікованих поживних середовищ, можна визначити найбільш і наймеш ефективні за своїм профілюванням у порівнянням між іншими. Так найбільш ефективним, найрізноманітнішим сполученням варіанту поживного середовища і сорту лаванди можна визначити Munstead /4 та Purple Haze /6, а найменш виразним та відповідним нашій цілі є Munstead/3, Munstead /5, Hidcote /1 та Hidcote /2 (Таблиця).

Таблиця

Назва комбінації	Склад середовища (кін – кінетин)	Концентрація наноаквахелатів в комплексі,	Концентрація комплексу наночастинок в поживному середовищу	Різноманітність та кількість визначених терпенів
Munstead/3	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	100 мк/л	+

Munstead /4	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	50 мк/л	+++
Munstead /5	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	10 мк/л	+
Munstead 6	MS + кін + Se + I	Se = 180 мг/л, I = 880 мг	100 мк/л	++
Hidcote /1	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	100 мкл/л	+
Hidcote /2	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	50 мк/л	+
Purple Haze/1	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	100 мкл/л	++
Purple Haze /2	MS + кін + Fe + Cu + Zn + Mn	Fe = 1,8 г/л, Cu = 0,4 г/л , Zn = 1г/л, Mn = 0,8г/л	50 мк/л	++
Purple Haze /5	MS + кін + Se	Se = 400 мг/л	10 мк/л	++
Purple Haze /6	MS + кін + Se + I	Se = 180 мг, I = 880 мг	100 мк/л	+++

Різноманітність та кількість визначених терпенів: + мало, ++ помірно, +++ рясно. Значення медіа ± стандартне відхилення. n=4

Висновки

Були отримані експланти *Lavandula* трьох сортів, культивованих на різноманітних поживних середовищах з наноаквахелатами в їх вмісті. Були виділені і досліджені екстракти методом тонкошарової хроматографії. Отримані значення були піддані кластерному аналізу. Були утворені дві групи (кластери), які відрізняються за концентрацією виділених вторинних метаболітів між собою. Однаковий вплив на накопичення метаболітів має комплекс з Fe + Cu + Zn + Mn та у концентрації 100 мк/л поживного середовища на декілька середовищ, а серед найбільших накопичень терпенів має наноаквахелатний комплекс Se + I у концентрацції 100 мк/л.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1.1

1. Karpińska, E., & Romankiewicz, E. (2019). *Lavandula angustifolia* Mill. – chemical composition of essential oil and its biological activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 1145-1150.

2. Aprotosoaie, A. C., Gille, E., & Hăncianu, M. (2017). Chemical composition of essential oils of *Lavandula* species: A review. *Planta Medica*, 83(18), 1368-1385.

3. Lis-Balchin, M. (2017). *Lavender: The Genus Lavandula (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles)*. CRC Press.

4. Adam, A. (2018). Global lavender production: Trends and challenges. *Journal of Applied Horticulture*, 20(2), 115-122.

5. Kuzmanović, N., & Stojanović, D. (2015). Morpho-anatomical characteristics and drought tolerance of *Lavandula angustifolia* Mill. *Botanica Serbica*, 39(1), 35-42.

6. Gershenzon, J., & Dudareva, N. (2017). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology*, 13(7), 408-414.

7. Džamić, A. M., Soković, M. D., & Ristić, M. S. (2018). Glandular trichomes, essential oil and bioactivity of *Lavandula angustifolia* Mill. In: *Medicinal and Aromatic Plants of the World*. Springer, pp. 221-235.

8. Georgiev, V., & Pavlov, A. (2020). *In vitro* systems as a tool for studying secondary metabolism in *Lavandula*. *Biotechnology Letters*, 42(5), 891-903.

9. Boira, H., & Blanquer, A. (2016). Influence of light intensity and water stress on essential oil yield and composition in *Lavandula angustifolia* cultivated in semi-arid conditions. *Industrial Crops and Products*, 85, 121-127.

10 Prusinowska, R., & Śmigielski, K. B. (2016). Composition of lavender essential oil (*Lavandula angustifolia* Mill.) cultivated in Poland. *Herba Polonica*, 62(3), 56-65.

11 Koulivand, P. H., Khaleghi Ghadiri, M., & Gorji, A. (2018). Lavender and the nervous system: A comprehensive review of recent evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 5683713.

12 Singh, A., & Sharma, M. (2020). Nanotechnology in agriculture: A new frontier for enhancing secondary metabolite production in medicinal plants. *Current Nanoscience*, 16(2), 180-192.

1.2

1. Effectiveness of nanoparticles in improving soil fertility and eco-friendly crop resistance: A comprehensive review/Sanjay Sarjerao Kale та ін., 2024
2. Role of Nano-based Plant Growth Regulators in Enhancing Essential Oil Yield and Agronomic Performance of Basil (Ocimum basilicum). Zulfiqar, Noor & Khalid та ін.. 2025. NanoNEXT. 6. 9-21.
3. Nanotechnology in Agriculture: Enhancing Crop Productivity with Sustainable Nano-Fertilizers and Nano-Biofertilizers. Journal of Soil Science and Plant Nutrition / Soni, Sanjeev & Dogra та ін. 2024. 24 p.
4. Nano-Management Approaches for Salt Tolerance in Plants under Field and In Vitro Conditions(by Daniella Sári - 2023)
5. Recent Advances in the Development of Nanoparticle Based Fertilizers for Different Kinds of Crops: A Review(by Saqib Hussain Hadri . - 2024)
6. Recent development of nanobiomaterials in sustainable agriculture and agrowaste management(by Savita Tamta - 2024)
7. Arginine and salinity stress affect morphology and metabolism of Indian borage (Plectranthus amboinicus lour.)(by - 2020)
8. Exploring the phytochemistry and biological potential of T. minuta (L.): A comprehensive review(by Nitin Verma - 2024)
9. Nanoemulsions and cyclodextrins inclusion complexes as methods of protection of essential oils for the development of bioherbicides(by - 2023)
10. Poly(lactic acid) nanocapsules containing lemongrass essential oil for postharvest decay control: In vitro and in vivo evaluation against phytopathogenic fungi(by - 2020)
11. Synthesis, characterization and insecticidal activity of Mentha spicata essential oil loaded polymeric nanoparticles(by - 2024)
12. Thorpe, T. A. (2018). History of plant tissue culture. *Methods in Molecular Biology*, 1815, 9-27.
13. Anjum, N. A., et al. (2017). Nanotechnology in plant tissue culture: A new dimension. In: *Nanotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer, pp. 297-319.
14. Iqbal, M., Raja, N. I., & Aslam, S. (2019). Nanotechnology in plant tissue culture: A review of recent advances and potential applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 21(3), 64.
15. Al-Khayri, J. M., et al. (2022). Nanotechnology in plant tissue culture: A review on recent advances and future prospects. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(1), 103529.
16. Singh, S., & Sharma, R. (2020). Nanoparticles as elicitors for enhanced production of secondary metabolites in medicinal plants. *Current Nanoscience*, 16(2), 180-192.

17. Sharma, V., et al. (2020). Zinc oxide nanoparticles (nZnO) induced changes in growth, biochemical attributes, and enhancement of secondary metabolites in *Mentha piperita* L. *in vitro* cultures. *Plant Physiology and Biochemistry*, 155, 594-603.

18. Aghdaei, M., & Mohammadi, M. (2018). Silver nanoparticles (nAg) improve *in vitro* shoot multiplication and antioxidant enzyme activity in *Salvia officinalis* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 133(2), 297-308.

19. Zarei, A., et al. (2021). Impact of copper oxide nanoparticles (nCuO) on *in vitro* micropropagation and biochemical parameters of *Thymus vulgaris* L. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 57(4), 629-639.

20. Rastogi, A., et al. (2019). Iron oxide nanoparticles (nFe_3O_4) as a promoter of *in vitro* rooting in *Ocimum basilicum* L. *Biologia Plantarum*, 63, 148-156.

21. Marschner, H. (2012). *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed.). Academic Press.

22. Kaphle, A., et al. (2023). Role of micronutrient nanoparticles in plant growth promotion: A review. *Plant Stress*, 7, 100130.

23. Thiruvengadam, M., et al. (2021). Phytotoxicity of metallic nanoparticles in plants: A review of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of Hazardous Materials*, 407, 124800.

24. Singh, S., & Sharma, R. (2020). Nanoparticles as elicitors for enhanced production of secondary metabolites in medicinal plants. *Current Nanoscience*, 16(2), 180-192.

25. Киришевський І. Л. Вивчення прямого та непрямого морфогенезу *Lavandula angustifolia* в культурі *in vitro*. Матеріали V міжнародної науково-практичної конференції «Новітні агротехнології та сортовивчення», 2025,

26. Speranza, J., et al. (2019). Chemical composition and antioxidant capacity of Lavandula angustifolia esse ntial oil in relation to its harvest time and altitude: a meta-analysis and review. *Industrial Crops and Products*, 131, 237–244.

27. Aprotosoaie, A. C., et al. (2020). Recent Advances on the Biosynthesis of Monoterpenes and Sesquiterpenes in Lavandula species. *Planta Medica*, 86(8), 519–531.

28. D'Aquino, E., et al. (2021). Phytochemical profile, antioxidant properties, and biological activity of differe nt Lavandula species extracts. *Molecules*, 26(10), 2841.

29. Fraga, B. M., et al. (2018). Terpenoids from the genus Lavandula: occurrence, biological activity, and synthesis. *Natural Product Communications*, 13(10), 1361–1370.

30. Batiha, G. E., et al. (2020). A review of traditional uses, chemical constituents, and pharmacological activities of Lavandula species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 6682054

Розділ 2.1

1. Zhang, Y., Wang, D., Li, H., Bai, H., Sun, M., Shi, L. *Formation mechanism of glandular trichomes involved in the synthesis and storage of terpenoids in lavender*. *BMC Plant Biology*. 2023; 23:307. BioMed Central
2. Oseni, O. M., … *Metabolic engineering of terpene metabolism in lavender*. *BMC Biotechnology / BJ BAS* (залежно від публікації). 2024. SpringerOpen+1
3. Mahmoud, S. S., et al. *Isoprenoid Metabolism and Engineering in Glandular Trichomes of Lavender (Lavandula angustifolia)*. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Frontiers
4. Giuliani, C., Ascrizzi, R., Corrà, S., Bini, L. M., Flamini, G., Fico, G. *Comparative study on glandular trichomes of Lavandula × intermedia 'Budrovka' and L. angustifolia*. *Phytologia / Phytochemistry – Comptes Rendus Chimie*. 2013 (хоча дата − за межами 10 років, базовий гістохімічний опис часто цитують, але якщо строго — можна замінити іншим актуальним); ResearchGate+1
5. Habán, M., et al. *Lavandula Species, Their Bioactive Phytochemicals, and Therapeutic Potential: A Review*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(10): 8831. MDPI

Розділ 2.1

1. Tetiana Manushkina, Tetiana Kachanova, Mykola Samoilenko, Olena Petrova. Клональне мікророзмноження in vitro ефіроолійних рослин родини Lamiaceae Lindl. Вісник аграрної науки Причорномор'я, 2018.

25. Киришевський І. Л. Вивчення прямого та непрямого морфогенезу *Lavandula angustifolia* в культурі *in vitro*. Матеріали V міжнародної науково-практичної конференції «Новітні агротехнології та сортовивчення», 2025, Київ

Додатки

-	7 днів			
Комбінація (варіант поживного середовища/сорт)	l пагону	S листкової пластинки	l міжвузля	N пагонів на одному експланті
Hidcote/1	9, 10, 5	серед. = 3	3, 2, 1	10, 12, 9
Purple Haze/1	18, 7, 8, 8	серед. = 3	2, 1, 1; 1, 2; 6, 7, 1; 1, 1	10, 8, 9, 10
Hidcote/2	10, 4, 7, 4	серед. = 2	1, 4, 0, 3	2, 3, 5, 9
Purple Haze/2	4, 2, 4, 5	серед. = 2	2; 1; 1; 1, 1, 1	1, 1, 2, 7
Munstead/4	2, 2, 3, 3	серед. = 3	1, 1; 1; 1; 1	4, 7, 8, 6
Munstead/5	4, 4, 1, 2	серед. = 4	3, 1, 1, 1	4, 4, 6, 4
Purple Haze/5	1, 1, 1, 1	серед. = 4	1,1,1,1	4, 6, 12, 7
Munstead/6	3, 3, 2	серед. = 5	1, 1, 1	6, 5, 5
Purple Haze/6	1, 9, 2, 1, 3, 3	серед. = 2	1; 2, 2; 2, 1; 1; 1, 2; 1	6, 8, 6, 6, 3, 4
Munstead/3	15, 6, 5 2	серед. = 3	3,4, 1, 2	9, 5, 4, 3

-	14 днів			
Варіант поживного середовища/сорт	l пагону	S листкової пластинки	l міжвузля	N пагонів на одному експланті
2 1 Hidcote/1	10, 6, 10	серед. = 3	3, 1, 3	10, 12, 9
3 1 Purple Haze/1	20, 11, 10, 10	серед. = 4	2, 2, 1; 1, 2;7, 7, 1; 1, 1	12, 10, 12, 11
2 2 Hidcote/2	10, 5, 10, 5	серед. = 2	1, 4, 0, 3	2, 4, 6, 11
3 2 Purple Haze/2	4, 2, 4, 5	серед. = 2	2; 1; 1; 1, 1, 1	1, 2, 3, 9
1 4 Munstead/4	2, 3, 4, 5	серед. = 4	2, 2; 1; 1; 1	7, 5, 8, 9
1 5 Munstead/5	5, 5, 1, 2	серед. = 4	3, 2, 2, 2	4, 4, 6, 4
3 5 Purple Haze/5	1,1,1,1	серед. = 4	1,1,1,1	4, 6, 13, 8
1 6 Munstead/6	4, 3, 3	серед. = 5	1, 1, 1	6, 5, 5
3 6 Purple Haze/6	1, 10, 3, 1, 3, 3	серед. = 2	1; 2, 2; 2, 1; 1, 1, 2, 1	6; 8; 6; 7; 4; 5
1 3 Munstead/3	16, 7, 6, 3	серед. = 4	4,4, 2, 2	9, 5, 4, 3

-	21 днів			
Варіант поживного середовища/сорт	l пагону	S листкової пластинки	l міжвузля	N пагонів на одному експланті
2 1 Hidcote/1	10, 10, 6	серед. = 3	3, 1, 2	11, 13, 9
3 1 Purple Haze/1	21, 11, 10, 10	серед. = 5	7, 7, 3; 4, 1; 1,1; 2, 2	15, 14, 13, 12
2 2 Hidcote/2	10, 5, 10, 6	серед. = 2	1, 4, 0, 3	2, 4, 6, 11
3 2 Purple Haze/2	2, 3, 5, 4	серед. = 3	2; 1; 1; 1, 1, 1	1, 2, 3, 9
1 4 Munstead/4	2, 3, 6, 4	серед. = 4	1, 1, 3, 2	8, 6, 8, 10
1 5 Munstead/5	6, 5, 2, 2	серед. = 4	3, 2, 2, 2	4, 4, 6, 4
3 5 Purple Haze/5	1,1,1,1	серед. = 4	1,1,1,1	4, 6, 13, 8
1 6 Munstead/6	4, 3, 3	серед. =5	1, 1, 1	6, 5, 6
3 6 Purple Haze/6	1, 10, 3, 1, 3, 3	серед. = 2	1; 2, 2; 2, 1; 1, 1, 2, 1	6; 8; 6; 7; 4; 5
1 3 Munstead/3	17, 8, 7, 4	серед. = 4	4,4, 3, 2	9, 5, 4, 4

Додаток 1

Значення $НІР_{0,05}$ значень морфологічних показників експлантів, які культивувалися на модифікованих поживних середовищах

-	**$НІР_{0,05}$ 1 день**				**$НІР_{0,05}$ 21 днів**			
Комбінація (варіант поживного середовища/сорт)	**l пагону**	**S листкової пластинки**	**l міжвузля**	**N пагонів на одному експлантів**	**l пагону**	**S листкової пластинки**	**l міжвузля**	**N пагонів на одному експлантів**
Hidcote/1	0.32	0,15	0.07	0.47	0.43	0,15	0.1	0.55
Purple Haze/1	0,36	0,025	0,15	0,4125	0,65	0,0625	0,1556	0.675
Hidcote/2	0.3	0,025	0.06	0.175	0.39	0,025	0,1	0.29
Purple Haze/2	0.125	0,025	0.06	0.19	0.18	0,15	0.06	0.19
Munstead/4	0.1	0,05	0.05	0.26	0.19	0,2	0.09	0.4
Munstead/5	0.1125	0,15	0.075	0.1125	0.1875	0,2	0.1125	0.23
Purple Haze/5	0.05	0,2	0.05	0.325	0.05	0,15	0.05	0.3875
Munstead/6	0.05	0,2	0.05	0.18	0.1667	0,25	0.05	0.2833
Purple Haze/6	0.15	0,1	0.06	0.275	0.18	0,1	0.0722	0.3

Munstead/3	0.3125	0,1	0.1125	0.23	0.45	0,2	0.1625	0.275

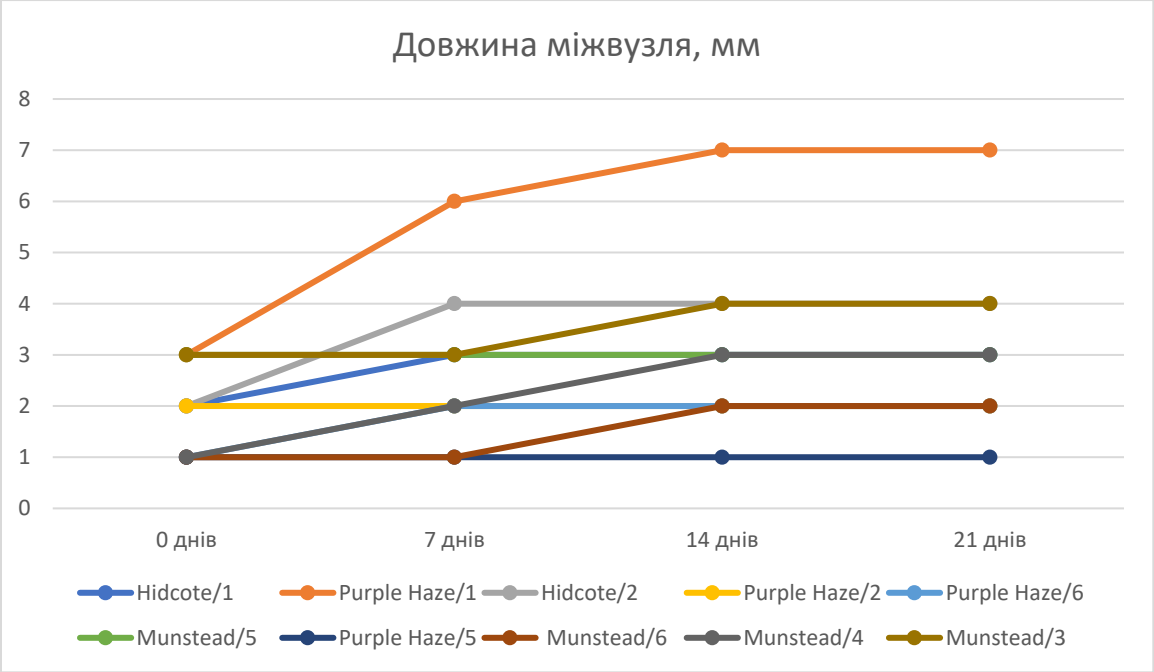


Рис. 2 – Морфологічні зміни довжини міжвузля (медіана) лаванди вузьколистої при культивуванні на модифікованих поживних середовищах з наноаквахелатами

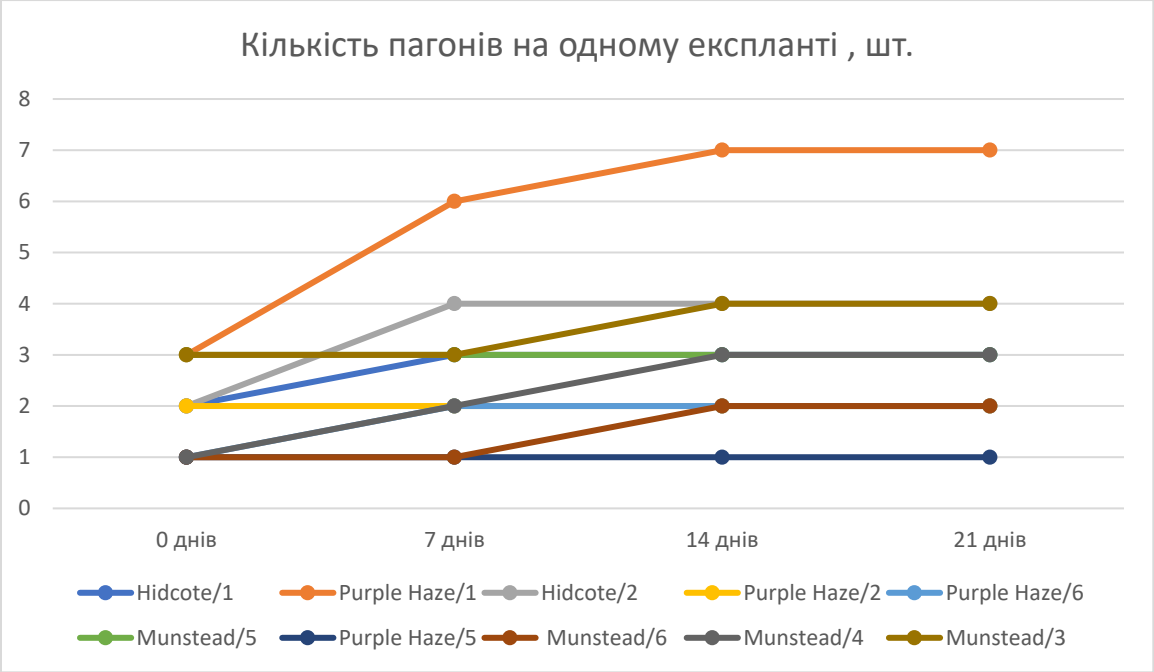


Рис. 2 – Морфологічні зміни кількості пагонів на одному експланті (медіана) на одному експлантіі лаванди вузьколистої при культивуванні на модифікованих поживних середовищах з наноаквахелатами

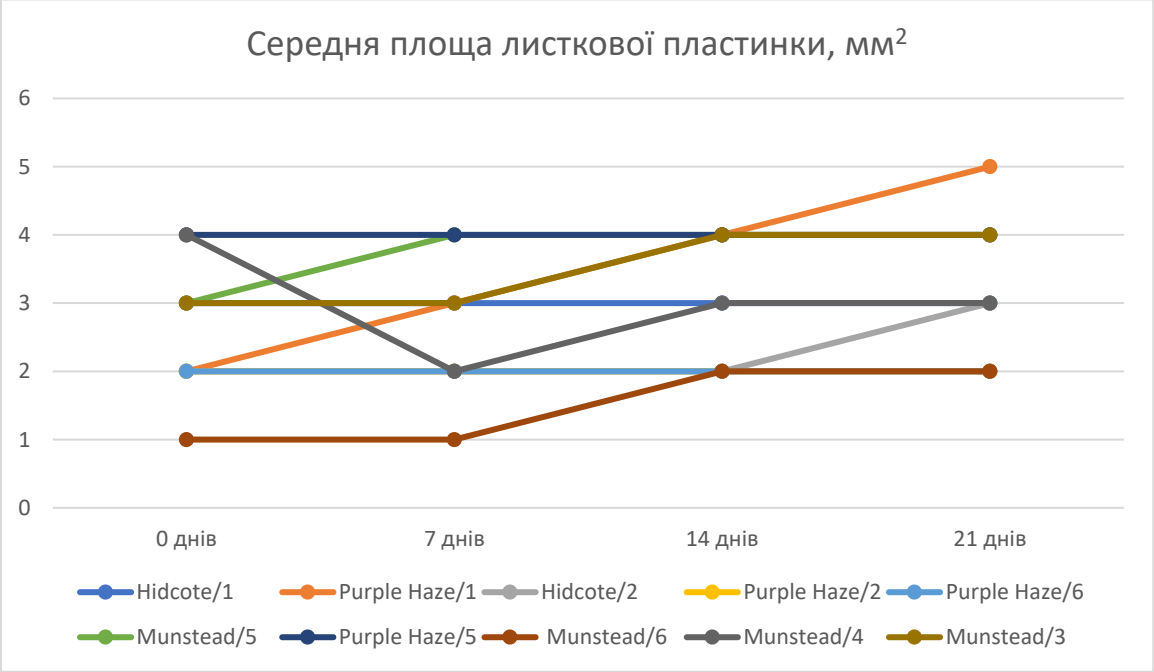


Рис. 2 – Морфологічні зміни середня площа листкових пластинок лаванди вузьколистої при культивуванні на модифікованих поживних середовищах з наноаквахелатами