



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **148952** (13) **U**
(51) МПК (2021.01)
A01H 4/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2021 00815</p> <p>(22) Дата подання заявки: 22.02.2021</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 06.10.2021</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 05.10.2021, Бюл.№ 40</p>	<p>(72) Винахідник(и): Сержук Олександр Петрович (UA), Любченко Андрій Іванович (UA), Мостов'як Світлана Миколаївна (UA), Слободяник Галина Яківна (UA), Жиляк Іван Дмитрович (UA), Мостов'як Іван Іванович (UA), Воробйова Наталія Василівна (UA), Ковтунюк Зоя Іванівна (UA), Щетина Марина Анатоліївна (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА, вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська обл., 20305 (UA)</p>
---	--

(54) СПОСІБ УКОРИНЕННЯ ЕКСПЛАНТІВ М'ЯТИ ПЕРЦЕВОЇ (MENTHA X PIPERITA L.) IN VITRO

(57) Реферат:

Спосіб укорінення експлантів м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.) in vitro включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшенні концентрації), і амінооцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР). Крім того, додають нафтилоцтову кислоту, 6-БАП (6-бензиламінопурин), N-оксид 2,6-диметилпіридину, гумінові кислоти та проводять автоклавування, охолодження і висадку експлантів на другу-третю добу.

UA 148952 U

Корисна модель належить до біотехнологічних методів, а саме методу клітинної селекції і зокрема мікроклонального розмноження рослин *in vitro*, що надає широкі можливості для збереження генофонду рослин, для створення вихідного селекційного матеріалу м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.).

5 Відомий спосіб вирощування рослин *in vitro*, при якому в живильне середовище для вкорінення з метою підвищення коефіцієнта укорінення культивованих рослин *in vitro* вводять регулятор росту ауксинової природи, причому в якості останнього найчастіше використовують індолил-масляну кислоту (авт. св. СССР N 1792270, кл. A01H 4/00, 29.04.91. Пивень Н.М., Мельничук Г.Г., Фелалиев А.С. Способ укоренения побегов орехоплодных, полученных *in vitro*.
10 Бюл. N 4 от 30.01.93). Однак при такому способі на початковому етапі вкорінення часто спостерігається посилення недиференційованого зростання тканин, пригнічення процесів формування і росту коренів, що призводить до погіршення вкорінення і подовження періоду вкорінення рослин. Тому для поліпшення вкорінення застосовують різні прийоми, наприклад, замочують мікропагони розчином регулятору росту (індолил-масляна кислота) на поверхні агаризованого середовища (патент РФ N2060646 кл. A01H 4/00, 1994 г. Туровская Н.И., Пронина И.Н., Матушкина О.В. Способ укоренения побегов плодовых культур, полученных *in vitro*. Бюл. N 15 от 27.05.96). Разом з тим цей спосіб досить трудомісткий, вимагає додаткових витрат часу на приготування середовища і створює небезпеку контамінації середовища шкідливою мікрофлорою.

20 Найбільш близьким технічним рішенням, вибраним як найближчий аналог, є спосіб вкорінення мікропагонів в умовах *in vitro*, де в живильне середовище додатково вводили оксибензойну кислоту в концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ М. (Патент РФ № 2160002, МПК A01H 4/00. Способ выращивания растений *in vitro* I М.Т. Упадышев, заявл. 24.12.1999, опубл. 10.12.2000, Бюл. № 34.- 12 с.).

25 Недоліком цього способу є низький вихід укорінених рослин-регенерантів.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу укорінення експлантів м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.) у культурі *in vitro*, який включає приготування живильного середовища.

30 Поставлена задача вирішується способом укорінення експлантів м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.) *in vitro*, що включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшенні концентрації), і амінооцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР). Крім того, додають нафтилоцтову кислоту, 6-БАП (6-бензиламінопурин), N-оксид 2,6-диметилпіридину, гумінові кислоти. Живильне середовище розливають у пробірки і автоклавують при тиску 1,1 атм. (температура 121 °С) впродовж 15-20
35 хв. Після охолодження живильного середовища, як правило на другу третю добу проводять висадку на неї пагонів м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.).

Приклад. Для вкорінення використовували базове живильне середовище за прописом Мурасіге-Скуга зі зменшеними концентраціями мінеральних і органічних компонентів. У зазначеному середовищі збільшують концентрації вітаміна В₁ до 1,0 мг/л та додають нафтилоцтову кислоту у концентрації 0,25 мг/л, з 6-БАП (6-бензиламінопурин) 1,15 мг/л, N-оксид 2,6-диметилпіридину 0,002 мг/л та гумінові кислоти в концентрації 20 мг/л., джерело вуглецю (сахарозу) зменшують до 20500 мг/л. Об'єм розчину доводять до 1 л, встановлюються 5,6-5,8 і додають при нагріванні агар-агар (7 г/л). Живильне середовище розливають у пробірки і автоклавують при тиску 1,1 атм. (температура 121 °С) впродовж 15-20 хв. Після охолодження
45 живильного середовища, як правило на другу третю добу проводять висадку на неї пагонів м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.).

Застосування запропонованого живильного середовища дозволяє отримати новий ефект - збільшити вихід укорінених пагонів, поліпшити розвиток кореневої системи рослин.

50 При приготуванні живильного середовища базове середовище за прописом Мурасіге-Скуга модифікували, застосовуючи дані із середовища - аналогу. Характеристика використаних середовищ наведена у таблиці 1.

Прописи живильних середовищ

Компоненти середовища	Середовища, мг/л		
	базове	Найближчий аналог	модифіковане
1	2	3	4
Макроелементи			
амоній азотнокислий (NH ₄ NO ₃)	1650	825	825
калій азотнокислий (KNO ₃)	1900	950	950
кальцій хлористий (CaCl ₂ × 2H ₂ O)	440	220	220
магній сірчанокислий (MgSO ₄ × 7H ₂ O)	370	185	185
калій фосфорнокислий одно заміщений (KH ₂ PO ₄)	170	85	85
Мікроелементи			
борна кислота (H ₃ BO ₃)	6,2	3,1	6,2
марганець сірчанокислий (MnSO ₄ × 4H ₂ O)	22,3	11, 2	22,3
кобальт хлористий (CoCl ₂ × 6H ₂ O)	0,025	0,013	0,025
мідь сірчанокисла (CuSO ₄ × 5H ₂ O)	0,025	0,013	0,025
цинк сірчанокислий (ZnSO ₄ × 7H ₂ O)	8,6	4,3	8,6
натрій молібденовокислий (Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O)	0,25	0,13	0,25
калій йодистий (KJ)	0,83	0,42	0,83
Джерело заліза			
етилендіамінтетраацетат натрію (Na ₂ EDTAx2H ₂ O)	37,3	18,7	37,3
залізо сірчанокисле (FeSO ₄ × 7H ₂ O)	27,8	13,6	27,8
Амінокислоти			
амінооцтова кислота (гліцин)	2,0	2,0	1,0
Вітаміни			
тіамін-НСІ (В ₁)	0,1	0,25	1,0
піридоксин-НСІ (В ₆)	0,5	0,25	0,5
нікотинова кислота (PP)	0,5	0,25	0,5
аскорбінову кислота (С)	-	0,5	-
мезо-інозит	100	50	100
Регулятори росту			
Індолилмасляна кислота (β-ІМК)	1,0	-	-
П-Оксибензойна кислота	-	1·10 ⁻⁵ М	-
Нафтилоцтова кислота (1-НОК)	-	-	0,25
6-БАП (6-бензиламінопурін)	-	-	1,15
N-оксид 2,6-диметилпіридину	-	-	0,002
Гумінові кислоти	-	-	20,0
Джерело вуглеводів			
Сахароза	30000	15000	20500
pH - 5,6-5,8			

Запропоноване середовище суттєво відрізняється від найближчого аналогу збільшеною кількістю мікросолей та мезоінозиту, крім того, воно доповнене іншим співвідношенням амінооцтової кислоти, вітамінів (В₁, В₆, PP), доповнено ауксином 1-НОК, 6-БАП (6-бензиламінопурін), N-оксид 2,6-диметилпіридином та гуміновими кислотами.

Використання модифікованого живильного середовища на відміну від найближчого аналога скорочує на 5 діб початок ризогенезу і збільшує кількість укорінених рослин з 82 % (найближчий аналог) до 98 % (модифіковане) (табл. 2).

Ризогенез рослин м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.) в культурі in vitro

Середовище	Вивчено номерів, шт.	Початок ризогенезу, діб	Експланти, що утворювали кореневу систему, %	Середня кількість укорінених експлантів, шт.
базове	199	37	74±5,4	147,3±6,7
прототип	194	32	82±7,6	159,1±4,4
модифіковане	195	27	98±1,5	191,0±3,5
Середнє	196	32	84,7±4,9	165,8±4,9

Експланти, які не утворювали кореневої системи вибраковували, цим самим проводили штучний добір генотипів, здатних до вкорінення in vitro.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб укорінення експлантів м'яти перцевої (*Mentha x piperita* L.) in vitro, який **відрізняється** тим, що включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшенні концентрації), і аміноцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР), крім того, додають нафтилоцтову кислоту, 6-БАП (6-бензиламінопурин), N-оксид 2,6-диметилпіридину, гумінові кислоти та проводять автоклавування, охолодження і висадку експлантів на другу-третю добу.

10

15