



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **148949** (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 00471</p> <p>(22) Дата подання заявки: 08.02.2021</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), Жиляк Іван Дмитрович (UA), Мостов'як Іван Іванович (UA), Любченко Андрій Іванович (UA), Мартинюк Андрій Тимофійович (UA), Миколайко Валерій Павлович (UA), Розборська Лариса Василівна (UA), Красноштан Ігор Васильович (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 ПОРІЧОК ЧЕРВОНИХ (RIBES RUBRUM L.) IN VITRO

(57) Реферат:

Спосіб укорінення експлантів порічок червоних (*Ribes rubrum*L.) in vitro включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит, і амінооцтову кислоту, вітаміни (B1, B6, PP), крім того додають нафтилоцтову кислоту, зеатин, N-оксид-2,6-диметилпіридину, гумінові кислоти та проводять автоклавування, охолодження та висадку експлантів на другу-третю добу.

UA 148949 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 порічок червоних (*Ribes rubrum* 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 як останній найчастіше використовують індоліл-масляну кислоту [авт.св. ССРСР N 1792270, кл. А 01 Н 4/00, 29.04.91. Пивень Н.М., Мельничук Г.Г., Фелалиев А.С. Способ укоренения побегов орехоплодных, полученных *in vitro*. Бюл. N 4 от 10 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 регулятора росту (індоліл-масляна кислота) на поверхні агаризованого середовища [патент РФ N2060646 кл. А 01 Н 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 15 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 Найближчим аналогом 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 А01Н 4/00. Способ выращивания растений *in vitro* I М.Т. Упадышев, заявл. 24.12.1999, опубл. 10.12.2000, Бюл. № 34.- 12 с].

Недоліком цього способу є низький вихід укорінених рослин-регенерантів.

25 В основу корисної моделі поставлена задача створення способу укорінення експлантів порічок червоних (*Ribes rubrum* L.) у культурі *in vitro*, який включає приготування живильного середовища.

30 Поставлена задача вирішується тим, що спосіб укорінення експлантів порічок червоних (*Ribes rubrum* L.) у культурі *in vitro* включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшені концентрації), і амінооцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В1, В6, РР). Додатково, містить нафтилоцтову кислоту, зеатин, N-оксид-2,6-диметилпіридину та гумінові кислоти.

35 Живильне середовище розливають у пробірки і автоклавують при тиску 1,1 атм (температура 121 °С) впродовж 15-20 хв, . Після охолодження живильного середовища, як правило на другу-третю добу, проводять висадку на неї пагонів порічок червоних (*Ribes rubrum* L.).

40 Приклад. Для вкорінення використовували базове живильне середовище за прописом Мурасіге-Скуга зі зменшеними концентраціями мінеральних і органічних компонентів. У зазначеному середовищі збільшують концентрації вітаміну В1 до 1,0 мг/л та додають нафтилоцтову кислоту у концентрації 0,25 мг/л, зеатин 0,5 мг/л, N-оксид 2,6-диметилпіридину 0,001 мг/л та гумінові кислоти в концентрації 18 мг/л., джерело вуглецю (сахарозу) зменшують до 21000 мг/л. Об'єм розчину доводять до 1 л, встановлюють рН 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 живильного середовища, як правило на другу-третю добу, проводять висадку на неї пагонів порічок червоних.

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 - прототипу. Характеристика використаних середовищ наведена у таблиці 1.

Прописи живильних середовищ

Компоненти середовища	Середовища, мг/л		
	базове	прототип	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 сірчаноокислий (MgSO ₄ × 7H ₂ O)	370	185	185
калій фосфорнокислий однозаміщений (KH ₂ PO ₄)	170	85	85
Мікроелементи			
борна кислота (H ₃ BO ₃)	6,2	3,1	6,2
марганець сірчаноокислий (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 сірчаноокисла (CuSO ₄ × 5H ₂ O)	0,025	0,013	0,025
цинк сірчаноокислий (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 EDTA × 2H ₂ O)	37,3	18,7	37,3
залізо сірчаноокисле (FeSO ₄ × 7H ₂ O)	27,8	13,6	27,8
Амінокислоти			
амінооцтова кислота (гліцин)	2,0	2,0	1,0
Вітаміни			
тіамін-НСІ (В1)	0,1	0,25	1,0
піридоксин-НСІ (В6)	0,5	0,25	0,5
нікотинова кислота (PP)	0,5	0,25	0,5
аскорбінова кислота (С)	—	0,5	—
мезоінозит	100	50	100
Регулятори росту			
Індолилмасляна кислота ф-ІМК)	1,0	—	—
П-Оксибензойна кислота	—	1·10 ⁻⁵ М	—
Нафтилоцтова кислота (1-НОК)	—	—	0,25
Зеатин	—	—	0,5
N-оксид-2,6-диметилпіридину	—	—	0,001
Гумінові кислоти	—	—	18,0
Джерело вуглеводів			
Сахароза	30000	15000	21000
pH — 5,6-5,8			

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

Використання модифікованого живильного середовища на відміну від прототипу скорочує на дві доби початок ризогенезу і збільшує кількість укорінених рослин з 69,3 % (прототип) до 92,2 % (модифіковане) (табл. 2).

Ризогенез рослин порічок червоних (*Ribes rubrum* L.) в культурі in vitro

Середовище	Вивчено номерів, шт.	Початок ризогенезу, діб	Експланти, що утворювали кореневу систему, %	Середня кількість укорінених експлантів, шт.
Базове	175	30	50,1±6,5	87,6±4,1
Прототип	180	27	69,3±3,6	124,7±3,4
Модифіковане	193	25	92,2±2,3	178,0±2,5
Середнє	183	27	70,5±4,1	130,1±3,3

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

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 Спосіб укорінення експлантів порічок червоних (*Ribes rubrum* L.) in vitro, який **відрізняється** тим, що включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит, і амінооцтову кислоту, вітаміни (B1, B6, PP), крім того додають нафтилоцтову кислоту, зеатин, N-оксид-2,6-диметилпіридину, гумінові кислоти та проводять автоклавування, охолодження та висадку експлантів на другу-третю добу.