



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **148953** (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

(21) Номер заявки: **u 2021 00818**
(22) Дата подання заявки: **22.02.2021**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **06.10.2021**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **05.10.2021, Бюл.№ 40**

(72) Винахідник(и):
**Сержук Олександр Петрович (UA),
Любченко Андрій Іванович (UA),
Мостов'як Світлана Миколаївна (UA),
Очеретенко Людмила Юхимівна (UA),
Миколайко Ірина Іванівна (UA),
Жиляк Іван Дмитрович (UA),
Мостов'як Іван Іванович (UA),
Миколайко Валерій Павлович (UA),
Пушка Олександр Сергійович (UA)**
(73) Володілець (володільці):
**УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА,
вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська
обл., 20305 (UA)**

(54) СПОСІБ УКОРІНЕННЯ ЕКСПЛАНТІВ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ (HIPPOPHAE RHAMNOIDES L.) IN VITRO

(57) Реферат:

Спосіб укорінення експлантів обліпихи крушиноподібної (*Hippophae rhamnoides* L.) у культурі in vitro включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшені концентрації) і аміноцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР), крім того додають нафтилоцтову кислоту, зеатин, нітропрурид натрію та гумінові кислоти та проводять автоклавування, охолодження і висадку експлантів на другу-третю добу.

UA 148953 U

Корисна модель належить до біотехнологічних методів, а саме до методу клітинної селекції, і зокрема мікроклонального розмноження рослин *in vitro*, що надає широкі можливості для збереження генофонду рослин, для створення вихідного селекційного матеріалу обліпихи крушиноподібної (*Hipporhae rhamnoides L.*).

5 Відомий спосіб вирощування рослин *in vitro*, при якому в живильне середовище для вкорінення, підвищення коефіцієнта укорінення культивованих рослин *in vitro* вводять регулятор росту ауксинової природи, причому як останній найчастіше використовують індолілмасляну кислоту [авт.св. СРСР № 1792270, кл. А01Н 4/00, 29.04.91. Пивень Н.М., Мельничук Г.Г., Фелалиев А.С. Способ укоренения побегов орехоплодных, полученных *in vitro*. Бюл. № 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 (індолілмасляна кислота) на поверхні агаризованого середовища [патент РФ № 2060646 кл. А01Н 4/00, 1994 г. Туровская Н.И., Пронина И.Н., Матушкина О.В. Способ укоренения побегов плодовых культур, полученных *in vitro*. Бюл. № 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 Найбільш близьким аналогом є спосіб вкорінення мікропагонів в умовах *in vitro*, де в живильне середовище додатково вводили оксibenзойну кислоту в концентрації $1 \cdot 10^{-4}M$. [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 обліпихи крушиноподібної (*Hipporhae rhamnoides L.*) у культурі *in vitro*, який включає приготування живильного середовища.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб укорінення експлантів обліпихи крушиноподібної (*Hipporhae rhamnoides L.*) у культурі *in vitro*, який включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоіозит (збільшені концентрації) і амінооцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР). Додатково містить нафтилоцтову кислоту, зеатин, нітропрусид натрію та гумінові кислот. Живильне середовище розливають у пробірки і автоклавують при тиску 1,1 атм (температура 121 °С) протягом 15-20 хв. Після охолодження живильного середовища, як правило, на другу-третю добу проводять висадку на неї пагонів обліпихи крушиноподібної (*Hipporhae rhamnoides L.*).

30 Приклад. Для вкорінення використовували базове живильне середовище за прописом Мурасіге-Скуга зі зменшеними концентраціями мінеральних і органічних компонентів. У зазначеному середовищі збільшують концентрації вітаміну В і до 1,0 мг/л та додають нафтилоцтову кислоту у концентрації 0,25 мг/л, зеатин 0,5 мг/л, нітропрусид натрію 0,006 мг/л та гумінові кислоти в концентрації 25 мг/л., джерело вуглецю (сахарозу) зменшують до 40 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) протягом 15-20 хв. Після охолодження живильного середовища, як правило на другу-третю добу, проводять висадку на неї пагонів порічок червоних.

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

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

50

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 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 (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			
Індолілмасляна кислота (β-ІМК)	1,0	-	-
П-Оксибензойна кислота	-	1-10° М	-
Нафтилоцтова кислота (1-НОК)	-	-	0,25
Зеатин	-	-	0,5
Нітропрурид натрію	-	-	0,006
Гумінові кислоти	-	-	25,0
Джерело вуглеводів			
Сахароза	30000	15000	21000
pH - 5,6-5,8			

Запропоноване середовище суттєво відрізняється від найближчого аналога збільшеною кількістю мікросолей та мезоінозиту, крім того, воно доповнене іншим співвідношенням амінооцтової кислоти, вітамінів (В₁, В₆, РР), доповнено ауксином 1-НОК, зеатином, нітропрурид натрієм та гуміновими кислотами.

Використання модифікованого живильного середовища на відміну від найближчого аналога скорочує на чотири доби початок ризогенезу і збільшує кількість укорінених рослин з 67 % (найближчий аналог) до 93 % (модифіковане) (табл. 2).

Ризогенез рослин обліпики крушиноподібної (*Hipporhae rhamnoides L.*) в культурі *in vitro*

Середовище	Вивчено номерів, шт.	Початок ризогенезу, діб	Експланти, що утворювали кореневу систему, %	Середня кількість укорінених експлантів, шт.
базове	188	34	52±3,5	97,8±2,1
найближчий аналог	192	31	67±3,8	128,6±2,8
модифіковане	187	27	93±3,2	173,9±2,5
Середнє	189	31	70,1±3,5	133,4±2,5

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 обліпики крушиноподібної (*Hipporhae rhamnoides L.*) у культурі *in vitro*, який включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшені концентрації) і амінооцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР), крім того додають нафтилоцтову кислоту, зеатин, нітропрусид натрію та гумінові кислоти та проводять автоклавування, охолодження і висадку експлантів на другу-третю добу.

10