



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **148950** (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 00474</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), Заболотний Олександр Іванович (UA), Гнатюк Наталія Олександрівна (UA), Воробйова Наталія Василівна (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА, вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська обл., 20305 (UA)</p>
---	--

(54) СПОСІБ УКОРИНЕННЯ ЕКСПЛАНТІВ СМОРОДИНО-АГРУСОВОГО ГІБРИДУ ЙОШТИ IN VITRO

(57) Реферат:

Спосіб укорінення експлантів смородино-агрусового гібриду йошти in vitro включає приготування живильного середовища, яке містить мікросолі, сахарозу та мезоінозит і амінооцтову кислоту, вітаміни (B1, B6, PP), крім того додають нафтилоцтову кислоту, нітроприсид натрію, гумінові кислоти і проводять автоклавування, охолодження та висадку експлантів на другу-третю добу.

UA 148950 U

Корисна модель належить до біотехнологічних методів, а саме до методів клітинної селекції і, зокрема, мікроклонального розмноження рослин *in vitro*, що надає широкі можливості для збереження генофонду рослин, для створення вихідного селекційного матеріалу смородино-агрускових гібридів.

5 Відомий спосіб вирощування рослин *in vitro*, при якому в живильне середовище для вкорінення для підвищення коефіцієнта укорінення культивованих рослин *in vitro* вводять регулятор росту ауксинової природи, причому в ролі останнього 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*.
10 Бюл. № 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 (індолілмасляна кислота) на поверхні
15 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 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 поставлено задачу знайти спосіб укорінення експлантів смородино-агрускового гібриду йошти у культурі *in vitro*, який буде позбавлений недоліків аналога.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб укорінення експлантів смородино-агрускового гібриду йошти у культурі *in vitro* включає приготування живильного середовища, яке містить
30 мікросолі, сахарозу та мезоінозит (збільшені концентрації) і амінооцтову кислоту (зменшене співвідношення), вітаміни (В₁, В₆, РР). Додатково вносять нафтилоцтову кислоту, нітропрурид натрію та гумінові кислоти. 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 гібриду йошти.

35 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, нітропрурид натрію в концентрації 0,5 мг/л і гумінові кислоти в концентрації 30 мг/л, джерело вуглецю (сахарозу) зменшують до 20000 мг/л.
40 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 гібриду йошти.

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.

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 молибденовоокислий (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 ⁻⁵ М	-
нафтилоцтова кислота (1-НОК)	-	-	0,25
нітропрурид натрію	-	-	0,5
гумінові кислоти	-	-	30,0
Джерело вуглеводів			
сахароза	30000	15000	20000
рН - 5,6-5,8			

5 Запропоноване середовище суттєво відрізняється від середовища за найближчим аналогом збільшеною кількістю мікросолей, джерелом заліза та мезо-інозиту, крім того, воно доповнене іншим співвідношенням амінооцтової кислоти, вітамінів (В₁, В₆, PP), замінене ауксином 1-НОК і доповнене нітропруридом натрію та гуміновими кислотами.

10 Використання модифікованого живильного середовища на відміну від найближчого аналога скорочує на сім діб початок ризогенезу і збільшує кількість укорінених рослин з 47,2 % (найближчий аналог) до 71,5 % (модифіковане) (таблиця 2).

Ризогенез рослин гібриду йошти в культурі in vitro

Середовище	Вивчено номерів, шт.	Початок ризогенезу, діб	Експланти, що утворювали кореневу систему, %	Середня кількість укорінених експлантів, шт.
базове	93	41	40,8±4,4	38,0±2,0
найближчий аналог	97	37	47,2±3,3	45,8±4,2
модифіковане	95	30	71,5±3,8	68,0±2,0
середнє	95	36	53,2±3,8	50,6±2,7

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 смородино-агрусового гібриду йошти 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, нітропрусид натрію, гумінові кислоти і проводять автоклавування, охолодження та висадку експлантів на другу-третю добу.

10
15