



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **139242** (13) **U**  
(51) МПК (2019.01)  
**A01H 4/00**

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 06684</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>13.06.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>26.12.2019</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>26.12.2019, Бюл.№ 24</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Карпук Леся Михайлівна (UA), Павліченко Андрій Андрійович (UA), Сторожик Лариса Іванівна (UA), Войтовська Вікторія Іванівна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, площа Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117 (UA)</b></p>
--	--

**(54) СПОСІБ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ РУКОЛИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб клонального мікророзмноження руколи включає стерилізацію, отримання життєздатних проростків, укорінення, культивування та пересаджування у ґрунт. При цьому насіння руколи стерилізують розчином сулеми, у модифіковане середовище додають бензиламінопурин (БАП) 0,5-0,8 мг/л, нафтилоцтову кислоту (МОК) 0,2-0,4 мг/л, індолілоцтову кислоту (ІОК) 0,3-0,5 мг/л і цукрозу 30,0 г/л та пересаджують проростки у ґрунт на 14 добу.

**UA 139242 U**



Корисна модель належить до галузі сільського господарства і може бути використана в сільськогосподарській біотехнології, селекції, овочівництві, рослинництві, зокрема для розмноження і отримання розсади цінних селекційних матеріалів та збереження генотипу вихідної форми.

5 Аналогами способу клонального мікророзмноження є:

Спосіб клонального мікророзмноження міскантусу, який включає стерилізацію насіння міскантусу, використання для розмноження та укорінення модифікованого середовища за прописом Мурасіге і Скуга. Як експлант використовують насіння, яке стерилізують 35 % розчином Білизни за експозиції 30 хвилин. Для розмноження у середовище Мурасіге і Скуга додають БАП 0,4-0,8 мг/л. Для укорінення у середовище Мурасіге і Скуга додають ІОК - 0,5-0,8 мг/л та НОК - 0,5-0,8 мг/л і 30 г/л цукрози. Культивування проводять при 16-годинному фотоперіоді за температури  $24 \pm 2$  °С з інтенсивністю освітлення 4000-4500 лк, відносній вологості 70-80 % [Спосіб клонального мікророзмноження Міскантусу: пат. 76088 України: МПК А01Н 4/00, u201206478; заявл. 29.05.2012; опубл. 25.12.2012, Бюл. № 24].

15 Спосіб клонального мікророзмноження світчграсу (*Panicum virgatum* L.) включає стерилізацію вторинних коренів, культивування на модифікованому середовищі Мурасіге і Скуга, укорінення на модифікованому середовищі Мурасіге і Скуга. Стерилізація вторинних коренів здійснюється 0,2 % розчином сулеми за експозиції 40-45 хвилин. Для розмноження у середовище Мурасіге Скуга додають БАП 0,2-0,5 мг/л та цукрозу 30 г/л. Для укорінення у середовище Мурасіге і Скуга додають ІОК 0,8-1,0 мг/л, НОК 0,8-1,0 мг/л і 30 г/л цукрози. Культивування проводять при 16-годинному фотоперіоді за температури  $22 \pm 2$  °С [Спосіб клонального мікророзмноження світчграсу (*Panicum virgatum* L.): пат. 76085 України: МПК А01Н 4/00, u201206475; заявл. 29.05.2012; опубл. 25.12.2012, Бюл. № 24].

25 Найближчим аналогом корисної моделі є спосіб клонального розмноження цимбідіума [Лаврентьевна А.Н. Клональное размножение цимбидиума / Культура клеток растений и биотехнология. Тезисы докладов IV Всесоюзной конференции (3-6 октября 1983). Кишинев: Штиинца 1983. С. 131-133.] Даний спосіб базується на тому, що як експланти використовували сплячі бруньки цимбідіума, які виводили із стану спокою (при температурі +20 °С упродовж 3-5 діб). Бруньки промивали дистильованою водою 2-3 рази, а потім стерилізували 70 % розчином етанолу упродовж 60 хвилини і пересаджували на живильне середовище. Дана стерилізація забезпечувала отримання 65 % стерильних експлантів. Стерильні і життєздатні експланти переносили на модифіковане живильне середовище Мурасіге і Скуга з додаванням 6-бензиламінопурину (БАП) - 1,0 мг/л та 20,0 г/л цукрози та отримували коефіцієнт розмноження 4 штуки. Культивування рослин проводили при  $24 \pm 2$  °С та 16 годинному фотоперіоді. Отримані від розмноження пагони пересаджували на середовище Мурасіге і Скуга, яке було доповнене 20,0 г/л цукрози, ІОК - 0,5-1,0 мг/л і ІМК - 0,5 мг/л і отримали 68,0 % укорінених рослин руколи. Придатність рослин до пересаджування у ґрунт - можливо на 28 добу.

40 Недоліком такого способу клонального розмноження є отримання недостатньої кількості стерильних та життєздатних експлантів, що впливає на коефіцієнт розмноження та не забезпечує високий відсоток укорінення рослин.

45 В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб клонального мікророзмноження руколи шляхом стерилізації насіння руколи розчином сулеми, пересадження проростків на модифіковане середовище, культивування в термальном приміщенні, укорінення та пересаджування у ґрунт, що забезпечить отримання високого відсотку стерильних та життєздатних експлантів, збільшення коефіцієнта розмноження рослин, зменшення затрат на живильні середовища для розмноження та укорінення, скорочення терміну культивування, підвищення відсотку укорінення рослин та пришвидшення отримання розсади.

50 Поставлена задача вирішується тим, що в способі клонального мікророзмноження руколи, що включає стерилізацію, отримання життєздатних проростків, укорінення, культивування та пересаджування у ґрунт, згідно з корисною моделлю, використовують насіння руколи, яке стерилізують розчином сулеми, у модифіковане середовище додають бензиламіноурин (БАП) 0,5-0,8 мг/л, нафтилоцтову кислоту (МОК) 0,2-0,4 мг/л, індолілоцтову кислоту (ІОК) 0,3-0,5 мг/л і цукрозу 30,0 г/л та пересаджують проростки у ґрунт на 14 добу.

55 Ефективність нового способу клонального мікророзмноження руколи у культурі *in vitro* вивчали на таких матеріалах: Ізмурдна, Вітамінна.

60 Запропонований спосіб клонального мікророзмноження полягає в наступному: використовують насіння руколи, яке стерилізують розчином сулеми - 0,2 % за експозиції 40 хвилин, промивають у дистильованій воді 2-3 рази. Дана стерилізація забезпечує отримання 98,0 % стерильних та життєздатних експлантів. Отримані стерильні та життєздатні експланти пересаджують на модифіковане живильне середовище Мурасіге і Скуга з додаванням 6-

бензиламінопурину (БАП) 0,5-0,8 мг/л та цукрози - 30,0 г/л, що дає змогу отримати 6 додаткових пагонів. Клоновані рослини культивують в термальних приміщеннях при температурі 24±2 °С та фотоперіоді - 16 годин. Для укорінення використовують модифіковане середовище Мурасіге і Скуга із додаванням нафтилоцтової кислоти (НОК) 0,2-0,4 мг/л і індолілоцтової кислоти (ІОК) 0,3-0,5 мг/л, цукрози 30,0 г/л, що забезпечує 96 % укорінених рослин. Коефіцієнт розмноження становить - 6,0 штук, а пересаджування рослин можливе у ґрунт на 14 добу.

Новими, відмінними від найближчого аналога, ознаками є:

- використання як експлантата насіння руколи;
- використання для стерилізації Сулеми - 0,2 %;
- експозиція 40 хвилин;
- додавання у середовище для розмноження БАП - 0,5-0,8 мг/л;
- використання цукрози - 30,0 г;
- для укорінення рослин додавання НОК - 0,2-0,4 мг/л та ІОК - 0,3-0,5 мг/л;
- пересаджування рослин у ґрунт на 14 добу.

Таблиця 1

Спільні та відмінні показники використання запропонованого способу клонального мікророзмноження руколи

Показники	Найближчий аналог	Запропонований спосіб
Стерилізація	Етанол 70 %	Сулема - 0,2 %
Експозиція	60 хвилин	40 хвилин
Експлант	сплячі бруньки	насіння
Стерильність експлантів, %	65	98,0
Мінеральна основа середовища для розмноження і укорінення	MS	MS
Гормони БАП, мг/л	1,0	0,5-0,8
ІОК, мг/л	0,5-1,0	0,3-0,5
НОК, мг/л	-	0,2-0,4
ІМК, мг/л	0,5	-
Укорінення, %	68,0	96,0
Цукроза, г	20,0	30,0
Довжина фотоперіоду, годин	16,0	16,0
Температура культивування, °С	24±2	24±2
Коефіцієнт розмноження	4,0	6,0
Придатність рослин до пересаджування у ґрунт, доба	28	14

Результати досліджень вказують, що доцільно замінити стерилізуючу речовину та експозицію. Так, використання 0,2 % розчину сулеми замість етанолу 70 % та зменшення експозиції до 40 хвилин дає можливість отримати 98,0 % стерильних та життєздатних експлантів. Крім того, зменшення БАП (6-бензиламінопурин) із 1,0 мг/л до 0,5-0,8 мг/л та поєднання із цукрозою - 30,0 г/л забезпечує утворення 6 додаткових пагонів. Слід відзначити, що збільшення цукрози на 10,0 г/л позитивно впливає на загальний стан рослин. Дослідженнями встановлено, що недоцільно використовувати індолілмасляну кислоту (ІМК), а доцільніше поєднання нафтилоцтової кислоти (НОК) та індолілоцтової кислоти (ІОК). Дана модифікація НОК 0,2-0,4 мг/л і ІОК 0,3-0,5 мг/л та цукрози 30,0 г/л у середовищі для укорінення забезпечує 96 % укорінених рослин на 14 добу.

## Показники клонального мікророзмноження руколи

Показники	Найближчий аналог	Корисна модель
Стерильність експлантів	65 %	98 %
Здешевлення складу живильного середовища	100 %	70 %
Коефіцієнт розмноження	6	4
Укорінення рослин	68,0	96,0
Термін отримання розсади	28	14

- 5 Впровадження запропонованої корисної моделі дає можливість отримати високий вихід стерильних та життєздатних експлантів, удосконалити та здешевити склад живильного середовища для розмноження і укорінення, збільшити коефіцієнт розмноження, підвищити відсоток укорінення рослин та пришвидшити отримання розсади.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб клонального мікророзмноження руколи, що включає стерилізацію, отримання життєздатних проростків, укорінення, культивування та пересаджування у ґрунт, який **відрізняється** тим, що використовують насіння руколи, яке стерилізують розчином сулеми, у модифіковане середовище додають бензиламінопурин (БАП) 0,5-0,8 мг/л, нафтилоцтову кислоту (МОК) 0,2-0,4 мг/л, індолілоцтову кислоту (ІОК) 0,3-0,5 мг/л і цукрозу 30,0 г/л та
- 15 пересаджують проростки у ґрунт на 14 добу.

---

Комп'ютерна верстка М. Мацело

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601