



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **143089** (13) **U**
(51) МПК (2020.01)
A01H 4/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2020 00583</p> <p>(22) Дата подання заявки: 31.01.2020</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2020</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2020, Бюл.№ 13</p>	<p>(72) Винахідник(и): Карпук Леся Михайлівна (UA), Павліченко Андрій Андрійович (UA), Кононенко Лідія Михайлівна (UA), Войтовська Вікторія Іванівна (UA), Сторожик Лариса Іванівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, площа Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ РОДОДЕНДРОНІВ (RHODODENDRON L.)

(57) Реферат:

Спосіб клонального мікророзмноження рододендронів (*Rhododendron L.*) включає введення апікальних бруньок, використання для розмноження та укорінення живильних середовищ за прописами Андерсона та Мурасіге і Скуга, модифікацію з тидіазуроном (ТДЗ) - 0,1 мг/л, культивування за освітлення - 3-4 тис. лк, температури - 24±2 °С, з вологістю повітря ~70 % та 16-годинним фотоперіодом, укорінення рослин. Використовують насіння рододендронів, для стерилізації - 35 % розчин Білизни за експозиції 35 хвилин, для розмноження у середовище додають зеатин - 1,2 мг/л, для укорінення - індолілоцтову кислоту (ІОК) - 0,5 мг/л, нафтилоцтову кислоту (НОК) - 0,3 мг/л, індолілмасляну кислоту (ІМК) - 0,01 мг/л, застосовують агар-агар - 0,8 %, пересаджують рослини у ґрунт на 14 добу.

UA 143089 U

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

Рододендрон (*Rhododendron*), або ж азалія - рід рослин родини Вересових, який налічує понад 600 видів. Більшість видів є гарно квітучими декоративними рослинами, багато з яких культивуються. Рододендрони - це вічнозелені, напіввічнозелені або листопадні кущі, рідше дерева. Вони є лікарськими, ефіроолійними і декоративними рослинами. За різноманітням форм і забарвленням квіток і листя, по збереженню декоративного виду в будь-який час року вони не мають собі рівних, тому часто їх використовують в ландшафтному дизайні і озелененні міст. Рослини сильно відрізняються за розмірами. В Українських Карпатах на луках субальпійської зони росте занесений до Червоної книги Рододендрон карпатський (*Rhododendron myrtifolium*), який цвіте у червні. На Поліссі поширений рододендрон жовтий (*Rhododendron luteum*). Розмножують рододендрон переважно вегетативно. Однак, при створенні нових гібридів подальша селекційна робота неможлива без біотехнологічних методів, які дозволяють пришвидшити отримання цінного матеріалу.

Найближчим аналогом корисної моделі є розмноження троянди ефіроолійної в культурі *in vitro* (Олійник, О., Kluvadenko, A., & Melnychuk, M. (2016). Покращення складу живильних середовищ для пришвидшення росту і розвитку троянди ефіроолійної в культурі *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України, 26(7), 134 - 139). Відомий спосіб базується на тому, що сорти троянди ефіроолійної української селекції Лань, Лада та Райдуга були введені в умови *in vitro*. Як експлантати використовували апікальні меристем вегетативних бруньок (Лада, Лань) або частин пагонів (Райдуга, Лань). Експлантати культивували за освітлення 3-4 тис. лк, T – 24 ± 2 °C, з вологістю повітря ~ 70 % та 16-годинним фотоперіодом. Для розмноження використовували: рослини сорту Райдуга - на середовищі Андерсона з подвійним вмістом Фе-хелату та 2,0 мг · л⁻¹ БАП; сорту Лада - на середовищі Андерсона 0,5 мг · л⁻¹ БАП або WPM 1,5 мг · л⁻¹ БАП, 0,1 мг · л⁻¹ НОК. Модифікації проводили з додаванням до їх складу різних груп цитокінінів і ауксинів. Додатково до середовища додавали сахарозу (0,3 %), мезоінозит (100 мг × л⁻¹) та агар-агар (0,7 %). Для індукції ризогенезу використовували перенесення на ризогенез середовище експлантатів розміром не менш ніж 1,5 см. За таких умов корені починають утворюватись на 8 - 10-ту добу.

Відомий і пропонується способи мікророзмноження мають спільні ознаки: введення апікальних бруньок, використання для розмноження та укорінення живильних середовищ за прописами Мурасіге і Скуга та Андерсона, модифікація з ТДЗ - 0,1 мг/л, культивування за освітлення 3 - 4 тис. лк, температури – 24 ± 2 °C, з вологістю повітря ~ 70 % та 16-годинним фотоперіодом, укорінення рослин.

Проте, відомий спосіб клонального мікророзмноження не забезпечує отримання високого коефіцієнта розмноження у рододендронів, а відсутність умов стерилізації та експозиції не дозволяють отримати стерильні матеріали.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб клонального мікророзмноження рододендронів (*Rhododendron L.*), що дозволить підібрати умови стерилізації та експозиції, модифікувати живильні середовища для розмноження та укорінення, підібрати оптимальні концентрації ауксинів і цитокінінів, зменшити собівартість рослини, вирощеної в умах *in vitro*, збільшити коефіцієнт розмноження.

Поставлена задача вирішується тим, що в Спосіб клонального мікророзмноження рододендронів (*Rhododendron L.*), що включає введення апікальних бруньок, використання для розмноження та укорінення живильних середовищ за прописами Андерсона та Мурасіге і Скуга, модифікацію з тидіазуроном (ТДЗ) - 0,1 мг/л, культивування за освітлення – 3 - 4 тис. лк, температури – 24 ± 2 °C, з вологістю повітря ~70 % та 16-годинним фотоперіодом, укорінення рослин, згідно з корисною моделлю, використовують насіння рододендронів, для стерилізації – 35 % розчин Білизни за експозиції 35 хвилин, для розмноження у середовище додають зеатин - 1,2 мг/л, для укорінення - індолілоцтову кислоту (ІОК) - 0,5 мг/л, нафтілоцтову кислоту (НОК) - 0,3 мг/л, індолілмасляну кислоту (ІМК) - 0,01 мг/л, застосовують агар-агар - 0,8 %, пересаджують рослини у ґрунт на 14 добу.

У відомому способі вводять сорти троянди ефіроолійної. За експлант використовували апікальні меристем вегетативних бруньок або частин пагонів. Культивування проводили за освітлення – 3 - 4 тис. лк, T – 24 ± 2 °C, з вологістю повітря ~ 70 % та 16-годинним фотоперіодом. Для розмноження використовували середовища Андерсона 2,0 мг·л⁻¹ БАП та WPM 1,5 мг·л⁻¹ БАП, 0,1 мг·л⁻¹ НОК. Додатково до середовища додавали сахарозу (0,3 %), мезоінозит (100 мг × л⁻¹) та агар-агар (0,7 %). Для індукції ризогенезу використовували безгормональне середовище MS та експлантати не менш ніж 1,5 см і корені починали

утворюватись на 8 - 10-ту добу. Запропонований спосіб клонального мікророзмноження рододендронів (*Rhododendron L*) включає використання апікальних бруньок та насіння, яке промивають дистильованою водою. Із бруньок, відібраних у поточному році у третій декаді квітня та першій декаді травня, знімають декілька покривних лусочок та стерилізують 35 % розчином Білизни за експозиції 35 хвилин, що забезпечує отримання 87 % стерильних та 81 % життєздатних експлантів. Пересаджують матеріал на модифіковане живильне середовище Андерсона (An), що доповнене зеатином - 1,2 мг/л, ТДЗ - 0,1 мг/л і цукрозою - 30,0 г/л. Для укорінення було введено на безгормональне живильне середовище Мурасіге і Скуга додавання ІОК - 0,5 мг/л, НОК - 0,3 мг/л, ІМК - 0,01 мг/л і цукрози - 30,0 г/л. Використовували тверді живильні агаризовані середовища із агар-агаром - 0,8 %. Коефіцієнт розмноження становить 12 - 18 штук. Культивування проводили за температури 24 ± 2 °С і освітлення 3 - 4 тис. лк, з вологістю повітря ~ 70 % та 16-годинним фотоперіодом.

Новими відмінними від найближчого аналога ознаками є:

введення насіння рододендронів;
 15 стерилізатор Білизна – 35 % і експозиція 35 хвилин;
 використання агар-агару - 0,8 %;
 додавання у середовище для розмноження зеатину - 1,2 мг/л;
 для укорінення ІОК - 0,5 мг/л, НОК - 0,3 мг/л, ІМК - 0,01 мг/л;
 пересаджування рослин у ґрунт на 14 добу.

20 Відмінні від прототипу ознаки при взаємодії з відомими дозволяють підібрати оптимальні умови стерилізації та експозиції і отримати високий вихід стерильних та життєздатних експлантів, зменшити собівартість і модифікувати живильні середовища для розмноження та укорінення, підібрати оптимальні концентрації ауксинів і цитокінінів, збільшити коефіцієнт розмноження.

25 Ефективність нового способу клонального мікророзмноження рододендронів у культурі *in vitro* досліджували на таких сортах і гібридах: Libretto, Якушеманський Поляріс, Якушеманський lumina, Балалайка, Якушеманський Rothenburg, Summertglut, Cunningharis White, Goldenflare, Shamrock, Meritt, Simona, August lamken, Крупноквітковий або Грандіфлора.

Експериментальні дослідження підтверджують, що для насіння і апікальних бруньок потрібно використовувати - стерилізатор Білизна – 35 % за експозиції 35 хвилин, що забезпечує отримання 87 % стерильних та 81 % життєздатних експлантів. Важливим є зняття декількох лусочок із бруньок, що забезпечує кращу проникність стерилізатора. Доцільно використовувати агар-агр - 0,8 % у середовищах. Для розмноження найкращою була модифікація із зеатином - 1,2 мг/л, ТДЗ - 0,1 мг/л і цукрозою - 30,0 г/л, а для укорінення ІОК - 0,5 мг/л, НОК - 0,3 мг/л, ІМК - 0,01 мг/л і цукрози - 30,0 г/л. Завдяки даним модифікація отримано коефіцієнт розмноження 12 - 18 штук.

40 Спосіб клонального мікророзмноження рододендронів (*Rhododendron L*) здійснюється таким чином: вводять апікальні бруньки і насіння, яке промивають дистильованою водою. Бруньки відбирають у поточному році у третій декаді квітня та першій декаді травня, знімають декілька покривних лусочок та стерилізують 35 % розчином Білизни за експозиції 35 хвилин. Матеріал пересаджують на модифіковане живильне середовище Андерсона (An), що доповнене зеатином - 1,2 мг/л, ТДЗ - 0,1 мг/л і цукрозою - 30,0 г/л. Для укорінення використовували безгормональне живильне середовище Мурасіге і Скуга і додавання ІОК - 0,5 мг/л, НОК - 0,3 мг/л, ІМК - 0,01 мг/л та цукрози - 30,0 г/л. Концентрація агар-агару - 0,8 %. Культивування 45 проводили за температури 24 ± 2 °С і освітлення 3-4 тис. лк, з вологістю повітря ~70 % та 16-годинним фотоперіодом. Коефіцієнт розмноження становить 12 - 18 штук (табл. 1).

Показники ефективності використання запропонованого способу розмноження рододендронів (Rhododendron L)

Показники	Відомий спосіб	Запропонований спосіб
Стерилізація	-	Білизна - 35 %
Експозиція, хвилин	-	35
Експлант	апикальні бруньки, частин пагонів	насіння, апикальні бруньки
Мінеральна основа середовища для розмноження і укорінення	Андерсона, WPM, MS	Андерсона (An), MS
БАП, мг/л	0,5-2,0	-
ТДЗ, мг/л	0,1	0,1
Зеатин, мг/л	-	1,2
ІОК, мг/л	0,01	0,5
НОК, мг/л	0,1	0,3
ІМК, мг/л	-	0,01
Агар - агар, %	0,7	0,8
Мезоінозит, мг/л	100	-
Сахароза, г/л	30,0	30,0
Коефіцієнт розмноження, шт.	7-14	12 - 18
Довжина фотоперіоду, годин	16	16
Температура культивування, °С	24 ± 2	24 ± 2
Пересаджування рослин у ґрунт, доба	8 - 10	14

- 5 Технічний результат. Впровадження корисної моделі дозволить оптимізувати умови стерилізації та експозиції і отримати високий відсоток стерильних та життєздатних експлантів, зменшити собівартість і модифікувати живильні середовища для розмноження і укорінення, оптимально підібрати концентрації ауксинів і цитокінінів, збільшити коефіцієнт розмноження.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб клонального мікророзмноження рододендронів (Rhododendron L.), що включає введення апікальних бруньок, використання для розмноження та укорінення живильних середовищ за прописами Андерсона та Мурасіге і Скуга, модифікацію з тидіазуроном (ТДЗ) - 0,1 мг/л, культивування за освітлення - 3-4 тис. лк, температури - 24±2 °С, з вологістю повітря ~70 % та 16-годинним фотоперіодом, укорінення рослин, який **відрізняється** тим, що використовують
- 15 насіння рододендронів, для стерилізації - 35 % розчин Білизни за експозиції 35 хвилин, для розмноження у середовище додають зеатин - 1,2 мг/л, для укорінення - індолілоцтову кислоту (ІОК) - 0,5 мг/л, нафтілоцтову кислоту (НОК) - 0,3 мг/л, індолілмасляну кислоту (ІМК) - 0,01 мг/л, застосовують агар-агар - 0,8 %, пересаджують рослини у ґрунт на 14 добу.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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