



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **96130** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A01H 4/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 09952	(72) Винахідник(и): Білоус Світлана Юріївна (UA), Клюваденко Андрій Андрійович (UA), Ліханов Артур Федорович (UA), Білоус Андрій Михайлович (UA)
(22) Дата подання заявки: 10.09.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.01.2015	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.01.2015, Бюл.№ 1	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041 (UA)

(54) СПОСІБ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ШТУЧНО ПРОБУДЖЕНИХ ЕКСПЛАНТІВ *POPULUS TREMULA L.* ЗЕЛЕНОКОРОЇ

(57) Реферат:

Спосіб стерилізації штучно пробуджених експлантів *Populus tremula L.* зеленокорої, до складу якого входить асептична культура однорічних пагонів, стійких до збудників хвороб, з верхівковими та бічними бруньками, молоді проростки, розчин етанолу та стерильна dH_2O . Додатково у будь-який період року пагони типу - штучно пробуджені пагони (ШПП) - поміщають у посудину з водою, у контрольовані умови з $t=24\pm 2$ °C, відносною вологістю повітря 70 %, освітленням 3-4 тис. лк., штучно пророщують до отримання зеленого конусу довжиною 1,5-3,0 см. Поетапно стерилізують у розчинах: детергенту (15 хв.), здійснюють відмивання у проточній воді (10 хв.), перенесення у стерильну dH_2O , а після у C_2H_5OH - 70 % (30 с), H_2O_2 - 25 % (10 хв.) з п'ятихвилинним відмиванням у стерильній dH_2O . Експланти розрізають на фрагменти стебел довжиною 1,5-2,0 см з однією брунькою.

UA 96130 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема до лісорозведення.

Відомим аналогом способу розмноження є (Aubakirova L., Kalashnikova E. Application of cellular biotechnology for storage of aspen biodiversity (*Populus tremula* L.) / International Journal of Agriculture: Research and Review. - Vol., 1(1), 16-20, 2011), який складається з відбору
 5 однорічних пагонів з верхівковими та бічними бруньками довжиною 15-20 см, ізольованих із
 крони дорослого дерева *Populus tremula* L., стійкого до збудника серцевинної гнилі. Їх штучно
 пробуджували за кімнатних умов до отримання молодих паростків, які обробляли 96 %-им
 розчином етанолу, розділяли на сегменти довжиною 1-1,2 см і витримували у концентрованому
 10 розчині гіпохлориту натрію або 3 % хлораміну протягом 30-45 хв. Промивали експланти у
 стерильній дистильованій воді.

Недоліком відомого аналога є те, що у способі використовуються стериланти, які більш
 токсичні для молодих рослинних тканин та такі, що значно ускладнюють процес отримання
 асептичної культури. Також не передбачено застосування розчину H_2O_2 , що є простим у
 використанні, не токсичним для дослідника та молодих тканин рослини. Забезпечує високий
 15 відсоток виходу стерильних експлантів за короткий час та не потребує відмивання у стерильній
 dH_2O .

Спосіб стерилізації штучно пробуджених експлантів *Populus tremula* L. зеленокорої включає
 використання як рослин-донорів осики зеленокорої форми без морфологічних та фізіологічних
 відхилень, не уражених хворобами та шкідниками, віком 30-40 років. Як первинні експланти
 20 використовують штучно пробуджені пагони (ШПП), які отримують із бруньок, що знаходяться у
 стані спокою. Для цього частини пагонів з верхівковими та бічними бруньками, які відбирають
 упродовж року, завдовжки 20-30 см, поміщають у посудину з водою і за рахунок контрольованих
 лабораторних умов ($t=24\pm 2$ °C, відносна вологість повітря -70 %, освітлення 3-4 тис. лк.) штучно
 пророщують до отримання зеленого конусу довжиною 1,5-3,0 см.

Для ефективного знешкодження екзогенної та ендогенної мікрофлори експланти
 25 стерилізували в лабораторних умовах у два етапи: I - в нестерильних умовах та II - в умовах
 ламінарного боксу.

На I - етапі пагони витримують у мильному розчині 15 хв., інтенсивно помішуючи. Після -
 відмивають у проточній воді протягом 10 хв. та переносять у посудину із стерильною dH_2O . На II
 30 - етапі усі маніпуляції проводять у стерильному ламінарному боксі із стерильними розчинами та
 інструментами. У запропонованому способі стерилізації використовують стериланти у такій
 послідовності: 70 %-вий розчин етанолу (C_2H_5OH) - 30 с, 25 %-вий розчину пероксиду гідрогену
 (H_2O_2) 10 хв. та одноразове відмивання 5 хв. При використанні 12,5 %-го розчину H_2O_2 -15 хв.
 експланти не відмивають від залишків стериланта, а відразу переносять на чашку Петрі з
 35 фільтрувальним папером.

Використання даного способу стерилізації експлантів *Populus tremula* L. зеленокорої надасть
 можливість отримати 98 % стерильних життєздатних експлантів з мінімальною шкодою для
 рослинних тканин. Забезпечить лісову галузь значною кількістю високоякісного генетично-
 40 однорідного садивного матеріалу для плантаційного лісовирощування та інших потреб.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб стерилізації штучно пробуджених експлантів *Populus tremula* L. зеленокорої, до складу
 якого входить асептична культура однорічних пагонів, стійких до збудників хвороб, з
 45 верхівковими та бічними бруньками, молоді проростки, розчин етанолу та стерильна dH_2O , який
відрізняється тим, що додатково у будь-який період року пагони типу - штучно пробуджені
 пагони (ШПП) - поміщають у посудину з водою, у контрольовані умови з $t=24\pm 2$ °C, відносною
 вологістю повітря 70 %, освітленням 3-4 тис. лк., штучно пророщують до отримання зеленого
 конусу довжиною 1,5-3,0 см, поетапно стерилізують у розчинах: детергенту (15 хв.), здійснюють
 50 відмивання у проточній воді (10 хв.), перенесення у стерильну dH_2O , а після у C_2H_5OH -70 % (30
 с), H_2O_2 - 25 % (10 хв.) з п'ятихвилинним відмиванням у стерильній dH_2O при цьому, експланти
 розрізають на фрагменти стебел довжиною 1,5-2,0 см з однією брунькою.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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