ДЕРЖАВНА СЛУЖБА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ УКРАЇНИ

УКРАЇНА **(19) UA** **(11) 108193** **(13) U**

(51) МПК (2016.01)
A01H 4/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 12485**

(22) Дата подання заявки: **17.12.2015**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **11.07.2016**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **11.07.2016, Бюл.№ 13**

(72) Винахідник(и):
Муравчук Роман Васильович (UA)

(73) Власник(и):
Муравчук Роман Васильович,
вул. Княжий Затон, 21, кв. 178, м. Київ, 02095 (UA)

(54) СПОСІБ ВІДБОРУ ЕКСПЛАНТІВ ТА ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ ІМБИРУ

(57) Реферат:

Спосіб відбору експлантів та отримання асептичної культури імбиру (Zingiber officinale) в умовах in vitro, до складу якого входить стимулювання брунькоутворення та стерилізація бруньок. Для отримання вихідних експлантів бруньок імбиру необхідно культивувати кореневища в умовах термостату при температурі 28 °С (1-2 місяці), утворені бруньки розміром 0,5-1,0 см з частиною кореневища до 0,5 мм зрізати та промити у мильному розчині (30 хв.), відмити у dH_2O 3-4 рази, перенести у розчин C_2H_5OH - 76 % (5 хв.), після - у розчин $HgCl_2$ - 0,1 % (50-55 хв.), відмити у стерильній dH_2O 3-4 рази по 15-20 хв., від асептичної бруньки відсікти частину кореневища і висадити на живильне середовище.

UA 108193 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, може бути використана в сільськогосподарській біотехнології і селекції для розмноження і вирощування рослин імбиру (Zingiber officinale) в Україні.

Запропонований спосіб дозволить отримувати асептичну культуру імбиру in vitro з метою подальшого його клонування, одержання посадкового матеріалу та розробити заходи інтродукції даної культури в Україну для використання в харчовій промисловості та медицині.

Відомий і найбільш близький за сукупністю суттєвих ознак до способу, що заявляється, є спосіб, який описаний у патенті UA №96327 U A01H4/00 "Спосіб отримання асептичної культури Ribes nigrum L. в умовах in vitro" Ліханов А.Ф., Клюваденко А.А., Білоус С.Ю., Оверченко О.В., що включає стерилізацію однорічних пагонів смородини довжиною 1,5-3 см з верхівковими та бічними бруньками, які поетапно стерилізують у розчинах детергенту 15 хв., здійснюють відмивання в проточній воді 20 хв., переносять у стерильну dH_2O, після - у розчин C_2H_5OH 70 % (30 с), $HgCl_2$ 0,1 % (15 хв.), відмивають у стерильній dH_2O тричі по 10 хв., при цьому експланти розділяють на фрагменти стебел завдовжки 1,0-1,5 см з однією брунькою.

Недоліком відомого способу є те, що не враховано необхідність штучно пророщувати кореневища і отримувати експланти для введення в культуру у вигляді бруньок. За умов використання наведеного способу не досягається отримання асептичної культури бруньок імбиру та спостерігається грибкове і бактеріальне ураження.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб отримання бруньок на кореневищах імбиру та отримати звільнену від інфекції культуру бруньок імбиру in vitro.

Поставлена задача вирішується тим, що кореневища імбиру культивують у кюветах з водою, за умов термостату при температурі 28 °С, упродовж 1-2 місяців. Утворені бруньки розміром 0,5-1,0 см з частиною кореневища до 0,5 мм зрізають скальпелем та промивають у мильному розчині мила господарського 72 % (30 хв.). Для звільнення від мильної плівки бруньки промивають дистильованою водою 3-4 рази. Підготовлені бруньки занурюють у колби з розчином етанолу (C_2H_5OH), масовою часткою 76 %, на 5 хв.. В умовах стерильного приміщення в ламінарній камері бруньки переносять у проавтоклавовані колби, об'ємом 100 мл і заливають стерилізуючим розчином сулеми ($HgCl_2$), масовою часткою 0,1 %. Експозиція стерилізації залежить від розміру бруньок і варіює в межах 50-55 хв.. Потім проводять відмивання бруньок від $HgCl_2$ стерильною дистильованою водою (dH_2O) 3-4 рази з інтервалом 15-20 хв.. Частину зрізаного кореневища відсікають і асептичну бруньку імбиру висаджують на живильне середовище.

Новими відмінними від існуючого способу ознаками є:

- умови пророщування бруньок на кореневищах імбиру;
- за вихідний експлант використовують бруньки;
- обробка розчином етанолу - 76 % (5 хв.);
- експозиція стерилізації $HgCl_2$ - 0,1 % (50-55 хв.).

Нижче приводиться порівняльна характеристика запропонованого способу і найближчого аналога:

Показники	Відомий спосіб	Запропонований спосіб
Умови отримання бруньок	-	Культивування кореневищ в термостаті за температури 28 °С, упродовж 1-2 місяців
Вихідний експлант	Пагони з бруньками	Бруньки
Попередня обробка C_2H_5OH	70 % - 30 с	76 % - 5 хв.
Стерилізуючий розчин	$HgCl_2$ - 0,1%	$HgCl_2$ - 0,1 %
Експозиція стерилізації	15 хв.	50-55 хв.

Відмінні від прототипу ознаки способу при взаємодії з відомими дозволяють отримати на кореневищах імбиру бруньки та асептичну і життєздатну культуру бруньок in vitro.

Впровадження запропонованої корисної моделі дає можливість отримати до 86 % асептичних бруньок імбиру in vitro, а також в подальшому дозволить розробити метод клонального мікророзмноження для отримання посадкового матеріалу імбиру і використовувати його при вирощуванні сировини для харчової промисловості та медицини.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб відбору експлантів та отримання асептичної культури імбиру (Zingiber officinale) в умовах in vitro, до складу якого входить стимулювання брунькоутворення та стерилізація бруньок, який

відрізняється тим, що для отримання вихідних експлантів бруньок імбиру необхідно культивувати кореневища в умовах термостату при температурі 28 °С (1-2 місяці), утворені бруньки розміром 0,5-1,0 см з частиною кореневища до 0,5 мм зрізати та промити у мильному розчині (30 хв.), відмити у dH_2O 3-4 рази, перенести у розчин C_2H_5OH - 76 % (5 хв.), після - у розчин $HgCl_2$ - 0,1 % (50-55 хв.), відмити у стерильній dH_2O 3-4 рази по 15-20 хв., від асептичної бруньки відсікти частину кореневища і висадити на живильне середовище.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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

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