



УКРАЇНА

(19) UA₍₁₁₎ 15586 «3, C1

(5i)5 C 12 N5/04

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ РАУВОЛЬФІЇ

1

(20)95321180,29.10.93

(21)4918432/SU

(22) 12.03.91

(24) 30.06.97

(46) 30.06.97. Бюл. № 3

(56) Авторское свидетельство СССР

№ 1566722, кл. С 12 N 5/00. 1988

(72) Кунах Віктор Анатолійович (UA)

(73) Інститут молекулярної біології і генетики
НАН України (UA)

(57) Способ микроклонального размножения раувольфии, включающий эксплантацию пазушных почек на модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга, получение растительного материала, культивирование его до получения растений-регенерантов и их укоренение, отличающийся тем, что эксплантацию осуществляют на питательную среду, содержащую макросоли по Мурасиге-Скугу в концентрации, равной 1/3 указанной в прописи, микроэлементы по Му-

расиге-Скугу, 5 мл/л Fe-хелата, 2 мг/л глицина, 3-5 мг/л аскорбиновой кислоты, 0,3-0,5 мг/л ИУК, 0,01-0,1 мг/л БАП, 30-50 мг/л гумата натрия, 15-20 г/л сахарозы. 5-7 г/л агара, культивирование растительного материала осуществляют на питательной среде того же состава или на питательной среде, содержащей макросоли по Мурасиге-Скугу в концентрации, равной 80% от указанной в прописи, микроэлементы по Мурасиге-Скугу, 5 мл/л Fe-хелата, 5 мг/л аденина, 1 мг/л кинетина, 0,5 мг/л а-НУК, 1 мг/л тиамина, 3-5 мг/л аскорбиновой кислоты, 30-50 мг/л гумата натрия, 20 г/л сахарозы, 5-7 г/л агара, и укоренение осуществляют на питательных средах того же состава или на питательной среде, содержащей макросоли по Уайту, микроэлементы по Мурасиге-Скугу, 5 мл/л Fe-хелата, 2 мг/л глицина, 3 мг/л аскорбиновой кислоты, 0,5 мг/л индолилуксусной кислоты, 50 мг/л гумата натрия, 10 г/л сахарозы, 5-7 г/л агара.

Изобретение относится к биотехнологии и может применяться для ускоренного размножения растений с их одновременным оздоровлением от фитопатогенных микроорганизмов.

Целью изобретения является разработка способа микроклонального размножения разных видов раувольфии, в том числе видов, являющихся источником ценных алкалоидов, используемых в медицине.

Пример. Вычлененные из однолетних побегов пазушные почки с участком побега после поверхностной стерилизации переносят в асептических условиях на простерили-

зованную питательную среду следующего состава, мг/л:

Макросоли по Мурасиге-Скугу 1/3, микроэлементы по Мурасиге-Скугу:

Fe-хелат	5 мл/л
Глицин	2
Аскорбиновая кислота	3-5
ИУК	0,3-0,5
БАП	0,01-0,1
Гумат натрия	30-50
Сахароза	15-20 г/л
Агар	5-7 г/л

Пробирки с высаженными пазушными почками помещают в термостатированные

УС

ел
ел
сф

О

условия (22-28°C) с 12-16-часовым световым днем и с освещением 1000-2000 люкс.

Через 30-50 дней из почек вырастают стебельки, которые в асептических условиях отделяют от остатка стебля исходного растения. В дальнейшем стебельки либо укореняют, либо размножают далее. С целью размножения стебельки разрезают на фрагменты с одной пазушной почкой и культивируют в тех же условиях.

Дальнейшее размножение выросших из пазушной почки растений проводят либо на среде указанного выше состава, либо же на среде следующего состава, мг/л:

Макросоли по Мурасиге-Скугу 80%, микроэлементы по Мурасиге-Скугу,

Fe-хелат	5 мл/л
Аденин	5
Кинетин	1
а-НУК	0.5
Тиамин	1
Аскорбиновая кислота	3-5
Гумат натрия	30-50
Сахароза	20 г/л
Агар	5-7 г/л

Укореняют растения на среде следующего мг/л:

Макросоли по Уайту, микроэлементы по Мурасиге-Скугу.

Fe-хелат	5 мл/л
Глицин	2
Аскорбиновая кислота	3
ИУК	0.5
Гумат натрия	50
Сахароза	Юг/л
Агар	5-7 г/л

Укорененные растения высаживают в почву и выращивают, как это принято для тропических растений.

По изложенному способу были размножены, укоренены, высажены в почву и выращены до взрослого состояния раувольфии змеиная *Rauwolfia serpentina*, раувольфия мутовчатая *Rauwolfia verticillata*, раувольфия седоватая *Rauwolfia canescens*, раувольфия рвотная *Rauwolfia vomitoria*, раувольфия китайская *Rauwolfia chinensis*, раувольфия кафрская *Rauwolfia caffra*. Все размноженные *in vitro* растения нормально развивались, цвели и плодоносили, отличались здоровым внешним видом. Других отличий по сравнению с исходными растениями не установлено. В таблице даны результаты микрклонального размножения разных видов раувольфии на основе культивирования пазушных почек стебля.

Наиболее легко по изложенному способу размножается раувольфия рвотная, относительно трудно - раувольфия китайская и раувольфия седоватая. Последние два вида для эффективного размножения необходимо выращивать попеременно на приведенных составах питательных сред.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет размножать разные виды раувольфии. Это особенно важно для тропических, фармакологических ценных видов как при их выращивании в теплице, так и для ускоренного размножения ценных форм с одновременным их оздоровлением от фитопатогенных микроорганизмов.

Вид растения	Формирование побегов из почек				Укоренение побегов	
	На среде 1*		На среде 2		На среде 1	
	Высажено почек, шт	Сформировали побеги, %	Высажено почек, шт	Сформировали побеги, %	Высажено побегов, шт	Укоренилось, %
<i>R. serpentina</i>	52	86,5±4,7	37	94,6±3,7	30	0
<i>R. verticillata</i>	60	85,0±4,6	30	90,0±5,5	41	0
<i>R. canescens</i>	41	56,1±7,8	35	45,7±8,4	28	3,6±3,5
<i>R. vomitoria</i>	61	98,4±1,6	54	98,1±1,9	56	85,7±4,7
<i>R. caffra</i>	53	49,1±6,9	38	50,0±8,1 *	31	0
	62	95,2±2,7	49	97,2±2,0	39	51,3±8,0

Продолжение таблицы

Вид растения	Укоренение побегов				Число жизнеспособных, морфологически нормальных растений, растущих в почве	
	На среде 2		На среде 3			
	Высажено побегов, шт	Укоренилось, %	Высажено побегов, шт	Укоренилось, %	Всего высажено, шт	%
R. serpentina	35	2,9±2,8	53	79,2 ±5,6	40	87,5±5,2
R. verticillata	37	0	74	82,4±4.4	53	88,7±4,3
R.canescens	15	6,7±6,5	32	68,8±8,2	24	62,5±9,9
R. vomitoria	38	78.9±6,6	43	95,3 ±3,2	39	82,1 ±6,1
R. chinensis	18	0	47	52,2 ±7,3	53	47,2 ±6,9
R. caffra	51	76,5±5,9	53	96,2 ±2,6	63	95,2±2,7

Среда 1, среда 2, среда 3 - номер среды в порядке приведения ее состава в тексте заявки.

Упорядник

Техред М.Моргентал

Коректорі О.Кравцова

Замовлення 4191

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101

