



УКРАЇНА

(19) UA (11) 47178 (13) A

(51) G 01G 1/00, A 01G 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ВИРОЩУВАННЯ ПОСАДКОВОГО МАТЕРІАЛУ З РОСЛИН IN VITRO

1

(21) 2001085813

(22) 17 08 2001

(24) 17 06 2002

(46) 17 06 2002, Бюл. № 6, 2002 р.

(72) Таран Оксана Петрівна, Таран Серпій Володимирович

(73) Мале підприємство "СТОІК"

(57) 1 Спосіб вирощування посадкового матеріалу з рослин in vitro, який включає одержання вихідних рослин in vitro, висаджування маточного матеріалу в теплицю, розмноження маточних рослин шляхом укорінення живців, підживлення і періодичне зволоження субстрату, який відрізняється тим, що рослини in vitro живцюють за кількістю наявних міжвузлів, проводять адаптацію до нових умов культивування, висаджуючи свіжозрізані живці у відкритій культурі на синтетичний водоутримуючий субстрат, де вирощують їх до укорінення, після чого пікують в теплицю на постійне місце

2

2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що з рослин-регенерантів, які сформувалися після укорінення живців і утворення щонайменше двох міжвузлів, новоутворену верхівку зрізають і укорінюють в синтетичному водоутримуючому субстраті, після чого проводять пікування в теплицю

3 Спосіб за пп. 1, 2, який відрізняється тим, що глибина посадки зрізаних верхівок при укоріненні залежить від довжини міжвузля, а площу живлення забезпечують не менше 1 см²

4 Спосіб за пп. 1, 2, який відрізняється тим, що як субстрат для вирощування рослин у відкритій культурі використовують біологічно інертний матеріал у вигляді гранул із заданою вологістю, який насичують поживним середовищем

5 Спосіб за пп. 1, 2, 4, який відрізняється тим, що живці у відкритій культурі висаджують на гранульований субстрат на основі потакриламідної композиції

Винахід належить до технології вирощування сільськогосподарських культур, а саме до способу вирощування посадкового матеріалу вегетативно розмножуваних рослин, і може бути використаний в сільському господарстві.

Відомий спосіб вирощування стеблових живців, згідно з яким зрізані фрагменти стебел з листком і брунькою висаджують в контейнері у вологий пісок або перліт, після цього контейнер закривають зверху плівкою або склом, висаджені живці укорінюють, а потім дорощують до утворення кореневої системи та листків. При цьому під накриттям підтримують високу вологість повітря, періодично змочуючи субстрат водою [А. М. Гродзинский, Д. М. Гродзинский. Краткий справочник по физиологии растений - К. Наукова думка, 1973 - с. 543].

Цей спосіб малопридатний для масового вирощування рослин із-за наступних причин. Пісок або перліт, вибрані в якості субстрату, не забезпечують належних умов для аерації кореневої системи, особливо на ранній фазі укорінення живців. Тому при їх використанні, в тому числі при здійсненні даного способу, одержують, як правило, низький рівень приживання висаджуваних живців, а

значна частина рослин, що прижилися, часто має слабку кореневу систему і характеризується недостатнім тургором. Використання цього способу не дає можливості одержати заявлений технічний результат і через низький рівень водоутримання, притаманний для піску і перліту, що викликає необхідність застосовувати часті й інтенсивні поливи субстрату або іншим шляхом запобігати його висиханню. Крім цього, вага піску і перліту за умови достатнього для рослин насичуючого зволоження збільшується настільки, що для розміщення контейнерів з рослинами (а відтак - і піддонів для стікання зайвої води, що просочується через субстрат) потребуються підтримуючі конструкції з підвищеною міцністю. До того ж, пісок і перліт заселяються сапрофітною мікрофлорою, і щоб запобігти цьому необхідно проводити стерилізацію субстрату, наприклад, високими температурами.

Найбільш близьким до заявленого способу, вибраним як прототип, є спосіб вирощування стеблових живців і пазушних пагонів, який включає одержання вихідних рослин in vitro, висаджування рослин in vitro в теплицю, живцювання маточних рослин з наступним укоріненням зрізаних живців,

(13) A

(11) 47178

(19) UA

штучне підживлення і періодичне зволоження субстрату

Суть даного способу полягає в тому, що в теплицю висаджують рослини, вирощені в пробірках, або бульби, рослини *in vitro* пересаджують цілими безпосередньо в тепличний ґрунт і одержані після цього рослини використовують в якості маточних, для першого й наступних живцювань беруть рослини, які прижилися в умовах теплиці й досягають висоти 20 - 25 см, при першому живцюванні зрізають верхівки з трьома-чотирма справжніми листками, перед укоріненням верхівки витримують протягом 6 год в розчині гетероауксину (50 мг/л), висаджування живців для укорінення проводять у вологу суміш із торфу, перегною й піску на глибину міжвузля (3 - 4 см), після укорінення живці пікірують в тепличний ґрунт на постійне місце вирощування, через кожні 10 - 15 днів після зрізання верхівок із маточних рослин проводять друге і наступні живцювання, багаторазово відділяючи пазушні пагони, які також використовують як матеріал для посадки, укорінення зрізаних верхівок і пазушних пагонів проводять ч. площею живлення 10 x 10 см, виділення пазушних живців продовжують до настання фази бутонізації маточних рослин [Биотехнологические методы получения и оценки оздоровленного картофеля (рекомендации) - М. Агропромиздат, 1988 - с. 35]

Цей спосіб більш ефективний з точки зору прийнятності для масового вирощування, але він так само не забезпечує належного рівня приживання рослин, і тим самим дає низький вихід продуктивних рослин з одиниці площі вирощування, що обумовлюється наступними причинами

У ґрунт теплиці висаджують цілі рослини, вирощені *in vitro*, які як правило мають слабі механічні тканини, не адаптовані до умов теплиці, тому під час пересаджування рослини часто травмуються, що обумовлює низький коефіцієнт їх приживання в закритому ґрунті. Торф, перегній і пісок, вибрані в якості субстрату, також не сприяють активній регенерації коренів, оскільки вони мають здатність до швидкого висихання, а ще слабо утримують поживний розчин у верхньому своєму шарі. Живці маточного матеріалу, які зрізають після укорінення і приживання рослин *in vitro* в умовах теплиці, як правило, досить великі за розмірами, а тому для них потребується не лише велика площа живлення, але й значна площа для розміщення посадок взагалі, якщо розмноження маточного матеріалу здійснюється масово. Для забезпечення відповідної стерильності при використанні торфу, перегною і піску, тобто субстрату, який включає органічні й мінеральні речовини природного походження, необхідно перед висаджуванням живців здійснювати його попередню обробку високими температурами або хімічними речовинами. До того ж, при цьому способі субстрат залишається відкритим на протязі всього періоду вирощування живців, що створює можливість для заселення його небажаною супутною мікрофлорою.

Описаний спосіб може бути ефективним у випадку, коли всі пробіркові рослини мають однаково добре розвинену кореневу систему та листову поверхню, що забезпечувало б нормальне їх приживання при пересаджуванні у ґрунт теплиці. При

слаборозвиненій кореневій системі і листовій поверхні, що значно частіше має місце на практиці, приживання рослин *in vitro*, пересаджуваних в теплицю, як правило, не перевищує 60 - 70%

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб вирощування посадкового матеріалу з рослин *in vitro* шляхом введення етапу ефективною адаптації рослин, одержаних *in vitro*, зміни умов середовища на етапі укорінення живців, а також застосування принципово відмінного типу субстрату, що забезпечить регенерацію вирівняних компактних рослин з міцною, розвиненою кореневою системою та доброю облистяністю при достатніх умовах ізоляції вирощуваних живців від інфекції та інших несприятливих факторів. За рахунок цього збільшиться коефіцієнт приживання посадкового матеріалу та вихід продуктивних рослин з одиниці площі.

Поставлена задача вирішується тим, що в спосіб вирощування посадкового матеріалу з рослин *in vitro*, який включає одержання вихідних рослин *in vitro*, висаджування маточного матеріалу в теплицю, розмноження маточних рослин шляхом укорінення живців, підживлення і періодичне зволоження субстрату, згідно з винаходом, рослини *in vitro* живцюють за кількістю наявних міжвузлів, проводять адаптацію до нових умов культивування, висаджуючи свіжозрізані живці у відкритій культурі на синтетичний водоутримуючий субстрат, де вирощують їх до укорінення, після чого пікірують в теплицю на постійне місце.

З рослин-регенерантів, що сформувалися після укорінення живців і утворення щонайменше двох міжвузлів новоутворену верхівку зрізають і укорінюють в синтетичному водоутримуючому субстраті таким же чином, як описано вище, після чого проводять пікірування в теплицю.

Глибина посадки зрізаних верхівок при укоріненні залежить від довжини міжвузля, а площу живлення забезпечують не менше 1 см².

У окремій формі виконання, як субстрат для вирощування рослин у відкритій культурі використовують біологічно інертний матеріал у вигляді гранул із заданою вологістю, який насичують поживним середовищем, наприклад, на гранульований субстрат на основі поліакриламідної композиції.

Тут і далі використано термін "відкрита культура", який не має широкого вживання в даній галузі техніки і суть якого пояснюється наступним. На відміну від культури *in vitro*, при якій культуральні посудини повністю ізолюють рослину від оточуючого середовища (що значно утруднює газообмін і зводить до мінімуму фотосинтез), відкрита культура - це умови часткової ізоляції рослин, за яких ріст їхньої надземної частини не обмежується стінками культуральної посудини, а коренева система штучно забезпечується елементами живлення і водою й захищається від занесення сторонніх мікроорганізмів, причому всі основні режими оточуючого середовища регулюються. За умов відкритої культури корені рослин розміщуються в добре аерованому і достатньо зволоженому субстраті.

Укорінення живців пробіркових рослин у відкритій культурі, дозволяє вирощувати рослини з

розвиненою кореневою системою та листовою поверхнею. Розміри живців з пробіркових рослин дозволяють розміщати значну їх кількість на одиниці площі. Захист від зовнішньої інфекції забезпечується водночас із активним підживленням вирощуваних рослин і живців за рахунок використання синтетичного субстрату у поєднанні з його щільним накривтям, причому введення води і поживного розчину в субстрат здійснюють через спеціальні отвори, що мають ефективний захист від проникнення мікроорганізмів до субстрату.

Заявлений спосіб здійснюють таким чином.

Маточний і посадковий матеріал вирощують в контейнерах, які наповнюють синтетичним гідрофільним субстратом і щільно обтягують полімерною плівкою, в ній пробивають отвори, в які висаджують живці, перед вирощуванням рослин в субстрат доливають поживний розчин мінеральних солей, контейнери з живцями розміщують на світлових установках або в закритому ґрунті з природним освітленням і можливістю регулювання режимів оточуючого середовища, в період вирощування маточного і посадкового матеріалу в контейнери доливають поживний розчин через пристрій, що має захист від попадання мікроорганізмів до субстрату, після закінчення періоду вирощування накривну плівку розрізають, вирощений посадковий матеріал виймають з контейнерів і пересаджують на постійне місце.

Конкретний приклад здійснення заявленого способу демонструється результатами випробування рослин картоплі ранньостиглого сорту Косень та середньораннього сорту Світланок київський.

Зрізані з вихідних пробіркових рослин мікроживці висаджували по 200 штук в контейнери з площею живлення 1 x 1 см, які заповнювали гранульованим гідрофільним синтетичним субстратом на основі поліакриламідного гелю, перед висаджуванням живців субстрат попередньо покривали поліетиленою плівкою, щільно обтягуючи його з усіх боків.

Рідке мінеральне середовище готували за прописом Кнопа. Підживлення укорінюваних живців і вирощуваних рослин, а також зволоження субстрату здійснювали диференційовано по мірі використання води і поживних речовин рослинами.

Вирощування живців у відкритій культурі проводили на світлових установках з наступними режимами культивування: 16-годинний світловий період, освітленість 4 тис. лк, $t^{\circ} = 20 - 25^{\circ}\text{C}$.

В результаті проведених випробувань було виявлено, що рослини, вирощені за заявленим способом (варіант), мають істотні переваги над контрольними рослинами (прототип) за рядом по-

казників.

Так, у рослин у контролі питома вага листків становила лише 76% від такої для рослин, вирощених способом згідно винаходу (табл. 1). Рослини у варіанті формували у 6,6 - 8,2 рази більшу листову поверхню. Співвідношення мас надземної і підземної частин було більшим у варіанті (3,3 1), тоді як у контролі цей показник становив лише 1,8 1.

Маса надземної частини рослини визначає ефективність функціонування всього організму, а отже, вона впливає і на вміст сухих речовин. Для рослин у варіанті цей показник становив 8,4%, що в 1,4 рази більше, ніж у контролі. Крім того, контрольні рослини були малооблистими і видовженими, причому стебла у цих рослин в усіх випадках значно поступалися компактним і добре облистеним стеблам рослин у варіанті, і зокрема, за товщиною - у 2,5 рази.

Рослини у варіанті легко, без будь-яких ускладнень переносили пікірування, відновлення їхнього росту відмічалось вже на 3 - 4-й день, тоді як у контрольних рослин - на 10 - 14-й день. Добре розвинена і практично не травмована коренева система рослин у варіанті сприяла їх швидкій і ефективній адаптації до нового субстрату, що в результаті забезпечувало високий рівень приживання і виживання розсади. Зокрема, рівень приживання живців рослин у варіанті становив для сорту Світланок київський 95% і для сорту Косень - 90%, що в 1,6 рази перевищило контроль (табл. 2).

Таким чином, запропонований спосіб дає можливість одержати життєздатну, добре розвинену розсаду і яри цьому збільшується коефіцієнт приживання, за рахунок чого зростає вихід продуктивних рослин з одиниці площі.

Додатковим технічним результатом винаходу є те, що використання запропонованого способу дозволило на світловій установці, яка складається з 8 стелажів, розмістити 4800 рослин, тоді як контрольних рослин можна було розмістити максимум 1120 шт. Враховуючи, що загальна площа під однією світловою установкою становила 2 м^2 , у контролі на 1 м^2 припадало лише 560 рослин, тоді як у запропонованому способі - 2400 шт.

Затрати робочого часу при застосуванні способу згідно винаходу зростали всього на 7 люд/год (табл. 2), однак при цьому значно знижувався витрати електроенергії - в 2,9 рази. При вирощуванні розсади запропонованим способом на штучному освітленні з використанням ламп ДРЛ-400 витрати електроенергії становили всього 35% від затрат на вирощування взятих в якості контролю рослин, а при вирощуванні в теплиці без додаткового освітлення - лише 10,4%.

Таблиця 1

Морфологічна характеристика рослин картоплі, що вирощувалась для розсади

Показники	Світланок київський		Косень	
	прототип	заявлений спосіб	прототип	заявлений спосіб
Висота рослин, см	10,70	10,00	10,05	6,40
Маса рослин, мм	0,687	3,015	0,678	2,490
Товщина стебла, мм	1,15	2,90	1,30	2,65
Довжина міжвузля, мм	19,00	10,90	17,30	8,90

7	47178		8	
Маса коріння, г	0,248	0,687	0,243	0,587
Кількість листків, шт	6,5	9,1	5,8	7,2
Маса листків, г	0,160	1,759	0,158	1,380
Площа листової поверхні, см ²	8,543	70,156	8,430	55,727
Питома вага листків, г/см ²	0,019	0,025	0,019	0,025
Вміст сухої речовини, г	0,041	0,255	0,040	0,201

Таблиця 2

Вихід розсади та затрати на її вирощування (середнє по сортах Світанок київський і Косень)

Варіант	Приживання розсади	Затрати на вирощування	
		Ручної праці, люд/год	електроенергії, кВт/год
прототип	61,5	56	434,2
запропонований спосіб	92,6	63	151,7* (45)

* - вирощування при штучному освітленні лампами ДРЛ-400

в дужках — на вирощування з використанням теплиці на сонячному обігріві

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71