



УКРАЇНА

(19) UA (11) 52031 (13) A

(51) B C08B31/02, A01N57/00,
A01N59/00, A01C1/06МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ

1

2

(21) 2002010237

(22) 09 01 2002

(24) 16 12 2002

(46) 16 12 2002, Бюл. № 12, 2002 р.

(72) Дульнев Петро Георгійович, Кондратенко Сергій Іванович, Чернищенко Тетяна Володимирівна, Мирошниченко Віра Петрівна, Івченко Тетяна Володимирівна, Гончарова Світлана Анатольовна

(73) Дульнев Петро Георгійович

(57) 1 Спосіб отримання полімерних матеріалів, який включає обробку крохмалю хлорним заміном, фосфорною кислотою, пероксидом водню, силікатом натрію, який відрізняється тим, що додатково включає обробку крохмалю різними комбінаціями солей металів з перемінною ва-

лентністю, фосфористою, метафосфорною, фосфорноватистою, фосфорновольфрамовою, фосфорномолібденовою, сірчаною, азотною, соляною кислотами або/і кремнієвою, кремніємолібденовою, кремнієвольфрамовою кислотами або їх солями при наступному співвідношенні крохмалю, солей металів з перемінною валентністю, фосфорних кислот, пероксиду водню, кремнієвих кислот та їх солей $1.5 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-2} - 2 \cdot 10^{-1}$, $5 \cdot 10^{-2} - 2 \cdot 10^{-1}$, $2.5 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-1}$ при температурі 15-45°C і водному середовищі

2 Спосіб по п. 1, який відрізняється тим, що дані полімерні матеріали використовують як заміники агар-агару або плівкотвірні в концентрації 50-200 г/л

Винахід належить до виробництва і застосування полімерних матеріалів, що мають гелеутворюючі властивості для спеціалізованого використання у сільському господарстві, сільськогосподарській біотехнології рослин, мікробіології, медицині, ветеринарії і інших галузях народного господарства

Раніше (пріоритет матеріалів заявки на патент № 98031168/04 (6809) від 27 03 96) нами був описаний спосіб отримання модифікованого крохмалю солями кремнієвої кислоти у присутності перекису водню, фосфорної кислоти і хлорного заліза

Спосіб отримання полімерних матеріалів та їх використання у сільськогосподарській біотехнології і інших галузях народного господарства

Винахід належить до виробництва і застосування полімерних матеріалів, що мають гелеутворюючі властивості для спеціалізованого використання у сільському господарстві, сільськогосподарській біотехнології рослин, мікробіології, медицині, ветеринарії і інших галузях народного господарства

Раніше (пріоритет матеріалів заявки на патент № 98031168/04 (6809) від 27 03 96) нами був опи-

саний спосіб отримання модифікованого крохмалю солями кремнієвої кислоти у присутності перекису водню, фосфорної кислоти і хлорного заліза

Для розвитку даного напрямку нами розширено асортимент вихідних матеріалів. Для цієї мети було використано, взаємінно раніше запропонованого тільки хлорного заліза, солі органічних і неорганічних кислот всіх металів з перехідною валентністю, а в якості кислотоутворюючого агента були взяті фосфорна, фосфориста, метафосфорна, фосфорноватиста, фосфорновольфрамова, фосфорномолібденова, сірчана, азотна і соляна кислоти, в якості кремнієвих сполук були взяті не тільки різні солі кремнієвої кислоти, а й кремніємолібденову, кремнієвольфрамову кислоти і їх солі

Найближчими аналогами по дії є

1) агар-агар – еталон-1 [1] або його похідні (наприклад, агароза), які рекомендовані для використання при вирощуванні в асептичних умовах рослинних об'єктів на штучних поживних середовищах,

2) відмінні за хімічною побудовою від агар-агару інші фітогельні агенти поживних середовищ, наприклад фітогель "Gelrite" еталон-2, який пропо-

(13) A
(11) 52031
(19) UA

нується компанією "Sigma" (США) для застосування у біотехнологічних дослідженнях

Головними недоліками еталону-1 і еталону-2 є

- іноземне виробництво, висока закупівельна вартість і відсутність втчизняної сировини для налагодження технології виробництва в Україні,

- використання еталону-1 у біотехнологічних дослідках підвищує собівартість виробництва окремих технологічних процесів, пов'язаних з вирощуванням *in vitro* рослинних об'єктів, особливо, якщо це потрібно проводити у великих об'ємах,

- використання еталону-2 у проведених нами біотестах виявило деякі суттєві недоліки цього препарату, зокрема у ініціації вітрифікації вегетативного потомства різних овочевих культур при застосуванні у технології мікроклонального розмноження рослин *in vitro*

Завданням запропонованого винаходу є розробка високоактивних полімерних матеріалів, створених на основі широкого асортименту вихідних хімічних сполук для застосування у біотехнології

Поставлена задача вирішується тим, що в якості модифікаційних реагентів крохмалю використовують різні солі металів з перемінною валентністю, фосфору, фосфористу, метафосфору, фосфорноватисту, фосфорновольфрамову, фосфорномолібденову, сірчану, азотну і соляну кислоти, перекисводню або і кремнієву, кремніємолібденову, кремнієвольфрамову кислоти або їх солі у співвідношенні

$$1 \cdot 5 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-3} \cdot 5 \cdot 10^{-2} - 2 \cdot 10^{-1} \cdot 5 \cdot 10^{-1} \cdot 2,5 \cdot 10^{-2} - 8 \cdot 10^{-1}$$

при температурі 15-45°C і водному середовищі

Для кращого розуміння винаходу наводяться конкретні приклади

Приклад 1 Спосіб отримання модифікованих крохмалів

Спосіб 1 100г картопляного крохмалю суспензують в 700мл води, до цієї суспензії додають 20 мг хлористого кобальту (шестиводного), 10мл перекису водню і 10мл 85% фосфорної кислоти. Суспензію ефективно перемішують при температурі до 35°C 8 годин. Після цього реакційну масу відстоюють, декантують, осадок три рази таким чином промивають водою. Висушують на повітрі. Хімічний склад продукту, % С – 44,5, Н – 6,3, Р – 0,015. Динамічна в'язкість 1%-го розчину при 26°C становила 6,88мПа·с, кислотність даного продукту становила – 1,28ммоль на 100г

Спосіб 2 За умов дослідів описаного в способі 1 із 100г картопляного крохмалю, 700 мл води, 20 мг хлористого марганцю, 10мл 85% фосфорної кислоти і 10мл перекису водню отримують продукт наступного складу, % С – 44,25, Н – 6,2, Р – 0,012. Динамічна в'язкість 1% розчину – 6,75мПа·с, кислотність – 1,37ммоль на 100г

Спосіб 3 За умов дослідів описаного в способі 1 із 100г картопляного крохмалю, 700мл води, 25мг однохлористої міді, 5г двохзаміщеного фосфату натрію, 4мл сірчаної кислоти і 10мл перекису водню отримують продукт наступного складу, % С – 44,35, Н – 6,27, Р – 0,015. Динамічна в'язкість 1% розчину – 6,8мПа·с, кислотність – 1,4ммоль/100г

Спосіб 4 За умов дослідів описаного в способі 1 із 100г картопляного крохмалю, 700мл води,

30мг кобальту хлорного, 20г фосфорномолібденової кислоти, 2мл сірчаної кислоти і 10мл перекису водню отримують продукт наступного складу, % С – 44,18, Н – 6,28, Р – 0,018. Динамічна в'язкість 1% розчину – 6,9мПа·с, кислотність – 1,65ммоль на 100г

Спосіб 5 100г картопляного крохмалю суспензують в 700мл води, до суспензії додають 40мг хлорного заліза, 10мл перекису водню, 5г силікату натрію і 28г фосфорноватистої кислоти. Реакційну суміш перемішують 4 години при 45°C, фільтрують, а осадок промивають водою. Висушують на повітрі. Хімічний склад продукту, % С – 44,45, Н – 6,35, Р – 0,02, Si – 0,23. Динамічна в'язкість 1% розчину при 20°C становить – 13,8 мПа·с, кислотність – 1,7ммоль на 100г

Спосіб 6 За умов дослідів описаному в способі 5 із 100г картопляного крохмалю 700мл води, 30мг хлорного заліза, 15мл перекису водню, 40г натрієвої солі кремніємолібденової кислоти, 10мл фосфорної кислоти отримують продукт наступного складу, % С – 44,21, Н – 6,18, Р – 0,021, Si – 0,1. Динамічна в'язкість 1% розчину при 20°C становить 13,1мПа·с, кислотність – 2,1ммоль на 100г

Спосіб 7 За умов дослідів описаного в способі 5 із 100г картопляного крохмалю, 700мл води, 50мг хлористої міді, 15мл перекису водню, 5г силікату натрію, 28г фосфорноватистої кислоти отримують продукт наступного складу, % С – 44,61, Н – 6,22, Р – 0,025, Si – 0,24. Динамічна в'язкість 1% розчину – 13,5мПа·с, кислотність – 2,2ммоль на 100г

Приклад 2 Тестування препаратів на фізіологічну активність у біотехнологічних дослідженнях

При формуванні *de novo* рослин в культурі ізольованих тканин *in vitro* слід враховувати що у процесі морфогенезу відбувається специфічна взаємодія "експлант-середовище", як єдиної біологічної системи, яка може бути лише наближеною копією тих процесів, які відбуваються у природних умовах регенерації або вегетативного розмноження рослин

Згідно сучасних уяв основними кофакторами формоутворення *in planta* є фізіологічні процеси, які виконують функцію підтримання полярної структури рослинного організму. Серед них базипетальний транспорт ауксину, акропетальний рух кальцію, аксіальні градієнти біопотенціалів [1]. Відомо, що регуляторна роль ауксину пов'язана в спланованій у часі експресії життєвоважливих процесів. Зокрема, у ініціації роботи H⁺-помпи, яка підсилює поглинаючу активність тканин і ініціацію входження у клітину водних розчинів осмотично активних речовин у антипорті з іонами водню [3]. Осмотичний фактор виконує важливу роль у водному транспорті в рослинах. На відміну від існуючого вертикального градієнту осмотичноактивних речовин (від коренів до верхівки пагона), акропетальний транспорт кальцію потрібен для роботи кальмодулінової системи, секреції, а також для підтримання ростового розтягнення і поділу меристематичних клітин в апікальній зоні.

Сучасна експериментальна практика добору умов куптивування *in vitro* потребує проведення додаткового вивчення кожного кофактору окремо або їх комбінованої дії на реалізацію морфогенетичних програм культивованих експлантів рослин.

них тканин. При цьому для того чи іншого кофактору визначається ступенем його присутності у поживному середовищі (за аналогією закону "Лімітуючих факторів Лібіха", який враховує елементи мінерального живлення рослин в умовах вирощування на відкритому ґрунті). Наслідком саме такого експериментального підходу є уявлення про існування критичного періоду біологічної системи "експлант-середовище" найбільш вразливого до недостатньої дії одного з факторів або їх комбінованої дії на кінцевий результат – отримання фенотипічно нормальних рослин-регенерантів після завершення циклу культивування.

Більшість штучних поживних середовищ, що використовуються для культивування *in vitro* тканин чи органів рослин мають усі мінеральні і осмотичні компоненти за допомогою яких можливо регулювати важливі фізіологічні процеси морфогенезу. Регуляторна роль геліних агентів у цьому аспекті пов'язана, перш за все, з забезпеченням належних умов для реалізації обмінних процесів, які відбуваються між культивованим рослинним об'єктом та поживним середовищем для вирощування.

Методика проведення дослідів по біотестуванню запропонованих фітогеліних агентів поживних середовищ.

Для визначення фізіологічної дії запропонованих фітогеліних агентів використовувались сорти овочевих культур селекції Інституту овочівництва і баштанництва УААН. Зокрема, білоголової капусти (сорт Леся), томату (сорт Свтанок рS), огірка (сорт Джерело) і цибулі ріпчастої (сорт Мавка).

Препарати оцінювали у досліді по мікророзмноженню (тобто при вирощуванні *in vitro* на штучних поживних середовищах експлантів меристематичних тканин).

У попередніх дослідіх були визначені елементи технології мікророзмноження рослин кожної овочевої культури, пов'язані з добром трофічних, осмотичних і фітогормональних компонентів поживних середовищ. Зокрема, для капусти білоголової використовувалось модифіковане середовище Шенка-Хільдебрандта (ШХ, 1972 [4]), для цибулі ріпчастої – Гамборга В5 (БДС, 1979 [5]), для огірка і томату – Мурасіге і Скуга (МС, 1962 [6]). Приготування поживних середовищ, а також досліді по вирощуванню *in vitro* проводилось за загальноприйнятими методиками запропонованими у роботах [7, 8] (див табл. 1).

Для всіх відібраних сортів овочевих культур мікророзмноження проводилось у три етапи:

1) попереднє вирощування в асептичних умовах розсади на безгормональних поживних середовищах протягом одного місяця,

2) живцювання ювенільних рослин на сегментах з вмістом меристематичних тканин і висадка отриманих експлантів на поживні середовища для індукції адвентивних пагонів (див табл. 2),

3) відокремлення сформованих *de novo* адвентивних пагонів від донорних меристематичних тканин, їх подальша висадка і дорощування на поживних середовищах для укорінення.

Оцінка фізіологічної дії запропонованих геліних агентів проводилась з урахуванням взаємодії

"експлант-поживне середовище", як єдиної біологічної системи. Тому, окрім фенологічних спостережень за розвитком, отриманого *in vitro* вегетативного потомства, додатково проведено вивчення впливу різних геліних агентів на динаміку іонобіообмінних процесів, які спостерігалися протягом циклу культивування між культивованим експлантом та середовищем. А саме методом колориметричного визначення рН проведено вимірювання фізіологічного рН протягом 2-го етапу культивування (від стадії висадки експлантів тканин на поживне середовище до індукції адвентивних пагонів). З цією метою було використано спосіб реєстрації рН, описаний у роботі [9], який передбачає застосування індикатора рН метилового червоного (метилрот) для забезпечення реєстрації фізіологічного рН в межах 4,4-6,2 [9].

Вивчення геліних агентів, як еталонних так і запропонованих, проводилось під час 2-го і 3-го етапів мікророзмноження рослин. Результати фенологічних спостережень за розвитком культури *in vitro* представлені за результатами одного (першого) пасажу.

Під час тестових аналізів враховувались такі статистичні показники формування вегетативного потомства:

коефіцієнт розмноження (КР) – кількість утворених адвентивних пагонів на один культивований експлант тканини,

процент невітрифікованих адвентивних пагонів з нормальним фенотипом.

Процент сформованих *de novo* рослин-регенерантів, що мали некрози тканин корінців, пов'язані з незворотним процесом підкислення поживного середовища, внаслідок обмінних процесів між рослинами і середовищем для вирощування.

Для підрахунку КР використовували статистичний спосіб оцінки результатів досліджень, який враховував дискретне варіювання ознаки, що контролювалася.

Для одного варіанту досліді, процент невітрифікованих адвентивних пагонів брався від загальної суми сформованих пагонів, як з нормальним, так і аномальним (вітрифікованим) фенотипом.

Для сортів овочевих культур процент некротизації тканин корінців брався від загальної суми висаджених експлантів меристематичних тканин для індукції адвентивних пагонів у 2-му циклі культивування.

Індикатор рН - метиловий червоний розчиняли у етиловому спирті і додавали у поживні середовища після автоклавування і охолодження останніх до 40-50°C.

Повторність кожного варіанту досліді трьохкратна.

Порівняльний аналіз біотестів еталонних і аналізованих полімерних (гель-них) матеріалів.

Як зазначено вище, для використання у біотестах було використано два полімерних матеріали (ДКМод і БД-1^а – модифіковані крохмалі, одержані по способу 4 і 6 в опису прикладу 1). Результати вивчення фізіологічного впливу вище-наведених і еталонних препаратів на процеси росту і розвитку рослинних об'єктів на 2-му і 3-му етапах мікророзмноження сортів овочевих культур представлені у таблиці 3. Як свідчать ці дані, головною

особливістю рослин, які вирощували на двох запропонованих заміниках агар-агару (ДККмод і БД-1^а), було збереження їх нормального росту і розвитку без будь-яких наявних ознак некротизації тканин, пов'язаних з незворотнім процесом закислення поживного середовища внаслідок іонних обмінних процесів. На 2-му етапі культивування, де за умов досліду рослини протягом двох місяців не пересаджували на свіже поживне середовище, відмічено відсутність некротизації тканини корінців і збереження нормального фенотипу сформованих де ново пагонів усіх сортів овочевих культур. Тоді, як при застосуванні агар-агару некротизація коренів томатів досягала майже 100%, на фтогелі "Gelrite" – 78,3 %. Для інших овочевих культур ці показники негативного впливу закислення поживного середовища були дещо нижчі, але при застосуванні препаратів ДККмод і БД-1^а некротизація коренів була відсутня у всіх сортах овочевих культур.

Аналіз динаміки зміни фізіологічного рН свідчить про наявність високих буферних властивостей обох препаратів на відміну від агар-агару та фтогелю "Gelrite" (табл. 3). Оскільки у біотестах використовували гормональні середовища для мікророзмноження, то додатково слід відзначити позитивний ефект запропонованих препаратів на нормалізацію водного обміну адвентивних пагонів з поживним середовищем для культивування. Так, при застосуванні агар-агару відсоток вітрифікованих пагонів томату складав 14,57 %, цибулі ріпчастої – 11,4%, капусти білоголової – 43,7%, огірка – 23,1%. Особливо, стимулював вітрифікацію над-

земних частин експлантів на 2-му етапі мікророзмноження фтогель "Gelrite" у капусти білоголової і цибулі ріпчастої відмічено 100% вітрифікацію адвентивних пагонів, у томатів – 87,4%, огірка – 34,5%. Слід відзначити покращання показника КР (коефіцієнту розмноження) для деяких овочевих культур, особливо – цибулі ріпчастої і огірка. У капусти білоголової спостерігалось незначне зниження кількості сформованих адвентивних пагонів, але при цьому вітрифікація була відсутня, тому у загальному плані слід відзначити позитивний результат застосування геліних препаратів ДККмод та БД-1^а для цієї культури. Однією з імовірних причин збереження нормального (невітрифікованого) фенотипу овочевих культур протягом довготривалого вирощування без пересадки можуть також бути високі осморегуляторні властивості запропонованих геліних агентів.

На 3-му, заключному етапі культивування, біотести препаратів на поживних середовищах для укорінення адвентивних пагонів виявили аналогічні вищенаведеним ефекти по осмо- і протонній регуляції процесу вирощування рослин-регенерантів. Додатковим позитивним моментом у використанні препаратів ДККмод і БД-1^а слід відзначити те, що на етапі укорінення пагонів

дорощування не потребувало застосування повторних пасажів для адаптації рослин-регенерантів до умов *in vivo*. Тим самим знижувались норми розходу інших компонентів поживних середовищ і зменшувалась загальна собівартість технологічного процесу мікророзмноження овочевих культур.

Таблиця 1

Протоколи поживних середовищ для культивування експлантів меристематичних тканин овочевих культур (без урахування вмісту фітогормонів)

Компоненти, мг/л	МС	ШХмод	БДС
1	2	3	4
Макроелементи			
(NH ₄) ₂ SO ₄	–	–	134
KNO ₃	1900	670	2500
NH ₄ NO ₃	1650	–	–
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	–	2125	–
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	–	750
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	400	250
KH ₂ PO ₄	170	354	–
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	–	–	150
KCl	–	200	–
Fe-хепат			
Ma ₂ ЕДТА	37,3	37,3	37,8
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	27,8	27,8
Мікроелементи			
H ₃ BO ₃	6,2	11,2	3,0
MnSO ₄ ·5H ₂ O	24,1	16,9	10,0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	5,0	2,0
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25
KJ	0,83	0,83	0,75
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	од	0,025

Продовження табл. 1

Компоненти, мг/л	МС	ШХмод	БДС
1	2	3	4
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,25	0,025
Вітаміни та інші біологічно активні речовини			
мезоінозит	100	1000	100
гліцин	2	2	2
B_1	од	10	10
B_6	0,5	1	1
РР	0,5	1	1
гідролізат казеїну	—	200	—
глутамін	—	800	—
Сахара			
сахароза	30000	51300	30000
глюкоза	—	27000	—
агар	8000	8000	8000
pH	5,8	5,8	5,8

Таблиця 2

Задіяні у біотестах еталонні і запропоновані гелльні агенти поживних середовищ з урахуванням еталів мікро-розмноження сортосразків овочевих культур

Етап мікророзмноження	Овочева культура (сорт)	Рослинні об'єкти на початку етапу мікророзмноження	Поживні середовища з урахуванням гормональних препаратів	Перелік застосованих гелльних агентів
1	2	3	4	5
вирощування розсади in vitro	Білоголова капуста (Леся), томат (Світанок рS), огірок (Джерело), цибуля ріпчаста (Мавка)	насіння	МС (без гормонів)	агар-агар (8г/л)
культура експлантів меристематичних тканин	білоголова капуста (Леся)	експланти пілокотилів	ШХмод (1мг/л БАП-бензил-амінопурін)	агар-агар (8г/л) фітогель "Gelrite" (2,5г/л), ДККмод (150г/л, БД-1 ^а (150г/л)
	томат (Світанок рS)	Пазушна брунька	МС (без гормонів)	
	огірок (джерело)	апикальна меристема	МС (4мг/л БАП, 2мг/л НОК – нафтилоцтова кислота)	
	цибуля ріпчаста (Мавка)	квітколоже	БДС (4мг/л БАП, 2мг/л НОК)	
Укорінення рослин-регенерантів	білоголова капуста (Леся), томат (Світанок рS), огірок (Джерело), цибуля ріпчаста (Мавка)	адвентивні пагони	МС (0,1мг/л НОК)	агар-агар (8г/л) фітогель "Gelrite" (2,5г/л), ДККмод (150г/л, БД-1 ^а (150г/л)

Овочева культура (сорт)	Тип гелльного агенту	Тип експланта меристематичної тканини, склад гормонів поживного середовища	Значення фізіологічного pH поживного середовища протягом 1-го пасажу (дні культивування)				Результати фенологічних спостережень за станом вегетативного потомства		
			15 день	30 день	45 день	60 день	кількість втриманих адвентивних пагонів, %	ступінь некротизації адвентивних пагонів, %	коефіцієнт розмноження
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Продовження табл. 2

11			52031				12		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Білоголова капуста (сорт Ле- ся)	ДККмод	експланти п- покоти- лів, 1мг/л БАП	5,8	5,5	5,5	5,1	0,0	0,0	1,73±0,51
	БД-1 ^а		5,8	5,3	5,3	5,0	0,0	0,0	2,07±0,56
	агар		5,5	5,0	4,5	4,2	87,34±0,18	24,3	3,06±0,92
	Gelrite		5,3	4,9	4,5	4,1	100,00	11,9	3,13±2,0
Томат (сорт Сви- танок рS)	ДККмод	пазушні бру- ньки без гор- монів	5,8	5,7	5,6	5,4	0,0	0,0	1,00±0,0
	БД-1 ^а		5,8	5,7	5,5	5,1	0,0	0,0	1,00±0,0
	агар		5,6	5,2	5,0	4,6	14,57±0,47	96,7	1,00±0,0
	Gelrite		5,4	4,8	4,3	4,0	87,42±0,21	78,3	1,00±0,0
Опрок (сорт Дже- репо)	ДККмод	апикальні ме- ристеми, 4мг/л БАП, 2мг/л НОК	5,8	5,8	5,5	5,3	0,0	0,0	6,45±1,8
	БД-1 ^а		5,8	5,8	5,5	5,2	0,0	0,0	7,56±2,1
	агар		5,8	5,5	5,3	5,0	23,10±1,78	10,1	3,24±0,8
	Gelrite		5,6	5,3	4,5	4,2	34,54±0,99	5,3	4,81±1,3
Цибуля ріпчаста (сорт Мав- ка)	ДККмод	квітколоже, 4 мг/л БАП, 2мг/л НОК	5,8	5,1	5,6	5,3	0,0	0,0	48,3±5,7
	БД-1 ^а		5,8	5,5	5,3	5,1	0,0	0,0	39,6±2,3
	агар		5,8	5,4	4,7	4,3	11,4±0,61	15,6	41,7±1,5
	Gelrite		5,6	5,2	4,4	4,1	100	9,3	0,1

Література

- 1 Кретович В. А. Основы биохимии растений М Высшая школа, 1974, 464 с
- 2 Медведев С. С. Физиологические основы полярности растений С Петербург "Кельна", 1996, 159 с
- 3 Michelet B , Boutry M. The plasma membrane H⁺-ATPase Plant Physiol, 1995, Vol 108, P 1-6
- 4 Schenk R U , Hildebrandt A C. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dycotyledonous plant cell culture Can J Bot , 1972, Vol 50, P 199-204
- 5 Dunstan D J , Short K C. Scient hort, 1978 9,

P 99-100

- 6 Murashige T , Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture Physiol plant, 1962, Vol 15, P 473-497
- 7 Р. Г. Бутенко "Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений", М , 1964, 350 с
- 8 Ф. Л. Калинина, В. В. Сарнацька, В. Е. Полщук "Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений", К , 1980, 270 с
- 9 Агрохимические методы исследований Москва "Наука", 1965, 350 с под ред А. А. Фролова, М. Е. Анцеловича

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