



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 3104  
(51) A01H 4/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2017/0725.2

(22) 24.10.2017

(45) 17.09.2018, бюл. №35

(72) Турдиев Тимур Туйгунович; Ковальчук Ирина Юрьевна; Кабылбекова Балнур Жасулановна; Фролов Сергей Николаевич; Мухитдинова Зинат Рахимжановна

(73) Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Институт биологии и биотехнологии растений" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

(56) Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* - 1962.-Vol. 15, N. 13.-P. 473-497

(54) **ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ТОПОЛЯ, ЯБЛОНИ, ГРУШИ**

(57) Полезная модель относится к биотехнологии, сельскому хозяйству и лесоводству и может быть использовано в процессе микроклонального размножения древесных культур.

Предлагаемая питательная среда, основанная на Мурасиге и Скуга, дополнительно содержит

аскорбиновую кислоту, тиамин, пиридоксин, никотиновую кислоту, 6-бензиламинопурин, гибберелловую кислоту при следующем содержании компонентов, мг/л: аммоний азотнокислый - 1650, калий азотнокислый - 1950, магний сернокислый - 185, калий фосфорнокислый - 170, борная кислота - 12,4, марганец сернокислый - 48,2, цинк сернокислый - 21,2, калий йодистый - 1,66, натрий молибденовокислый - 0,5, медь сернокислую - 0,05, кобальт хлористый - 0,05, железо сернокислое - 27,8, этилендиаминотетраацетат натрия - 37,25, кальций хлористый безводный - 166,25, глицин - 2, мезоино-зит- 100, сахарозу - 30000, аскорбиновую кислоту - 50, тиамин - 0,05, пиридоксин - 0,25, никотиновую кислоту - 0,25, 6-бензиламинопурин - 0,1, гибберелловую кислоту - 0,2, агар - 7000, бидистиллированную воду - до 1л.

Разработанная питательная среда, предназначенная для микроклонального размножения тополя, яблони и груши, обеспечивает увеличение числа образуемых побегов и длины побегов, повышение выхода посадочного материала.

(19) KZ (13) U (11) 3104

Полезная модель относится к биотехнологии, сельскому хозяйству и лесоводству и может быть использовано в процессе микроклонального размножения древесных культур.

Наиболее близким техническим решением, выбранным в качестве прототипа, является модифицированная питательная среда Мурасиге и Скуга, содержащая, следующие компоненты, мг/л: аммоний азотнокислый - 1650, калий азотнокислый - 1950, магний сернокислый - 185, калий фосфорнокислый - 170, борную кислоту 6,2, марганец сернокислый - 24,1, цинк сернокислый - 10,6, калий йодистый - 0,83, натрий молибденовоокислый - 0,25, медь сернокислую - 0,025, кобальт хлористый - 0,025, железо сернокислое - 27,8, этилендиаминотетраацетат натрия - 37,25, кальций хлористый безводный -332,5, глицин - 2мг, мезоинозит - 100мг, сахарозу - 30мг, агар - 7000, воду - до 1л (Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* - 1962. - Vol. 15, N. 13. - P. 473-497).

Однако при культивировании древесных культур, а именно тополя, яблони, груши на указанной среде не удается получить высокий коэффициент размножения, а также высокое качество побегов. Это приводит к снижению выхода посадочного материала, удлинению технологического цикла производства, а, следовательно, к возрастанию материальных и трудовых затрат.

Задачей предлагаемой полезной модели является создание питательной среды для микроклонального размножения тополя, яблони и груши, обеспечивающей увеличение числа образуемых побегов и длины побегов.

Задача решается тем, что питательная среда, основанная на Мурасиге и Скуга, дополнительно

содержит аскорбиновую кислоту, тиамин, пиридоксин, никотиновую кислоту, 6-бензиламинопурин, гибберелловую кислоту при следующем содержании компонентов, мг/л: аммоний азотнокислый - 1650, калий азотнокислый - 1950, магний сернокислый - 185, калий фосфорнокислый - 170, борная кислота - 12,4, марганец сернокислый - 48,2, цинк сернокислый - 21,2, калий йодистый - 1,66, натрий молибденовоокислый - 0,5, медь сернокислую - 0,05, кобальт хлористый - 0,05, железо сернокислое - 27,8, этилендиамино-тетраацетат натрия - 37,25, кальций хлористый безводный - 166,25, глицин - 2, мезоинозит - 100, сахарозу - 30000, аскорбиновую кислоту - 50, тиамин - 0,05, пиридоксин - 0,25, никотиновую кислоту - 0,25, 6-бензиламинопурин - 0,1, гибберелловую кислоту - 0,2, агар - 7000, бидистиллированную воду - до 1л.

Сопоставительный анализ заявляемого технического решения с прототипом показывает, что заявляемая питательная среда отличается от известной тем, что компоненты - сульфат магния и безводный хлорид кальция уменьшаются в два раза, в то время как все микроэлементы - борная кислота, сульфат марганца, сульфат цинка, йодид калия, молибдат натрия, сульфат меди, хлорид кобальта увеличиваются в два раза. Кроме того, дополнительно вводят аскорбиновую кислоту, тиамин, пиридоксин, никотиновую кислоту, 6-бензиламинопурин, гибберелловую кислоту.

Указанная среда модифицирована именно для древесных культур - тополя, груши, яблони, отличия предлагаемого состава от известного обеспечивают увеличение числа образуемых побегов и длины побегов - высокое качество побегов.

Таблица 1

Предлагаемый состав питательной среды для микроклонального размножения тополя, яблони, груши

Компоненты	Концентрация на 1 л
Макроэлементы:	
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650 мг
$\text{KNO}_3$	1950 мг
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	185 мг
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170 мг
Микроэлементы:	
$\text{H}_3\text{BO}_3$	12,4 мг
$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	48,2 мг
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	21,2 мг
KJ	1,66 мг
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5 мг
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,05 мг
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,05 мг
Хелат железа:	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8 мг
$\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,25 мг
$\text{CaCl}_2$ (б/в)	166,25 мг
Глицин	2 мг
Мезоинозит	100 мг

Сахароза	30 г
Компоненты	Концентрация на 1 л
Аскорбиновая кислота	50 мг
Тиамин	0,05 мг
Пиридоксин	0,25 мг
Никотиновая кислота	0,25 мг
6-бензиламинопурин	0,1 мг
Гибберелловая кислота	0,2 мг
pH	5,7
Агар	7 г

Предлагаемую питательную среду готовят следующим образом: в небольшом количестве бидистиллированной воды растворяют, мг: аммоний азотнокислый - 1650, калий азотнокислый - 1950, магний сернокислый - 185, калий фосфорнокислый - 170, борную кислоту - 12,4, марганец сернокислый - 48,2, цинк сернокислый - 21,2, калий йодистый - 1,66, натрий молибденовокислый - 0,5, медь сернокислую - 0,05, кобальт хлористый - 0,05, мезоинозит - 100, сахарозу - 30000, аскорбиновую кислоту - 50, тиамин - 0,05, пиридоксин - 0,25, никотиновую кислоту - 0,25. Затем добавляют растворы, мл: 6-бензиламинопурин - 0,1, гибберелловую кислоту - 0,2, хелат железа - 5. Для приготовления раствора хелата железа в 90 мл бидистиллированной воды растворяют, мг: железо сернокислое - 27,8, этилендиаминотетраацетат натрия - 37,25, кипятят 5 минут, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем бидистиллированной водой до 100 мл.

Раствор 6-бензиламинопурина готовят следующим образом: 50 мг 6-бензиламинопурина

растворяют в нескольких каплях 1N гидроксида натрия, осторожно добавляют 20-30 мл бидистиллированной воды и доводят объем до 50 мл. Для приготовления раствора гибберелловой кислоты 50 мг гибберелловой кислоты растворяют в нескольких каплях 50% этилового спирта, осторожно добавляют 20-30 мл бидистиллированной воды и доводят объем до 50 мл.

После добавления всех необходимых компонентов объем раствора доводят до 1 л, доводят pH до 5,7 и при нагревании растворяют навеску агара. Питательную среду разливают по сосудам и автоклавируют при давлении 0,8атм, температуре 120°C в течение 20-25 мин, после чего высаживают экспланты. Растения *in vitro* проращиваются в светокультуральной комнате при температуре +23-25°C, освещенности 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 16-часовом фотопериоде.

В таблице 2 приведены примеры микроклонального размножения тополя, груши, яблони.

Таблица 2

Развитие побегов груши, яблони и тополя на заявленной среде.

Сорт груши	Коэффициент размножения	Средняя длина побега, мм
Талгарская красавица	5,33	35
Айдана	3,83	36,67
Old Home	3,74	36,67
В среднем по сортам груши	4,3	36,11
Сорт яблони	Коэффициент размножения	Средняя длина побега, мм
Максат	5,67	36,67
Керемет	6,47	36
Золотое Превосходное	5,33	36,68
В среднем по сортам яблони	5,82	36,45
Сорт тополя	Коэффициент размножения	Средняя длина побега, мм
2/67	15	30
1/86	10	35,67
№39	12	36
В среднем по сортам тополя	12,33	33,89

На заявленной среде коэффициент размножения тополя составил от 10 до 15, яблони от 5,33 до 6,47 и груши от 3,83 до 5,33, средняя длина побегов, соответственно: 30-36; 36 -36,68; 35 -36,67.

Таким образом, полученные результаты показывают высокий коэффициент размножения и высокое качество побегов тополя, яблони, груши.

#### **ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ**

Питательная среда для микроразмножения, содержащая нитрат аммония, нитрат калия, сульфат магния, гидрофосфат калия, борную кислоту, сульфат марганца, сульфат цинка, йодид калия, молибдат натрия, сульфат меди, хлорид кобальта, сульфат железа, натрий железную соль этилендиаминотетрауксусной кислоты, безводный хлорид кальция, глицин, мезоинозит, сахарозу, агар

и воду, *отличающаяся* тем, что она дополнительно содержит аскорбиновую кислоту, тиамин, пиридоксин, никотиновую кислоту, 6-бензиламинопури, гибберелловую кислоту при следующем содержании компонентов, мг/л:

Нитрат аммония 1650  
 Нитрат калия 1950  
 Сульфат магния 185  
 Гидрофосфат калия 170  
 Борная кислота 12,4  
 Сульфат марганца 48,2  
 Сульфат цинка 21,2  
 Йодид калия 1,66  
 Молибдат натрия 0,5  
 Сульфат меди 0,05  
 Хлорид кобальта 0,05

Сульфат железа 27,8  
 Натрий железная соль  
 этилендиаминтетрауксусной кислоты 37,25  
 Безводный хлорид кальция 166,25  
 Глицин 2  
 Мезоинозит 100  
 Сахароза 30000  
 Аскорбиновая кислота 50  
 Тиамин 0,05  
 Пиридоксин 0,25  
 Никотиновая кислота 0,25  
 6-бензиламинопури 0,1  
 Гибберелловая кислота 0,2  
 Агар 7000  
 Бидистиллированная вода до 1 литра.