



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 4998  
(51) A01H 4/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2019/0952.2

(22) 30.10.2019

(45) 05.06.2020, бюл. №22

(72) Кушнарченко Светлана Вениаминовна;  
Аралбаева Молдир Маликовна; Ромаданова Наталья  
Владимировна

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

(56) СН 106069746 А, 09.11.2016

(54) СПОСОБ РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕЩИНЫ  
ОБЫКНОВЕННОЙ

(57) Полезная модель относится к одной из  
отраслей растениеводства - ореховодству и может  
быть использована для массового размножения  
биотехнологическими методами лещины,  
применяемой в качестве подвоев для сортов  
фундука.

Для этого в способе размножения лещины,  
включающем отбор эксплантов, их дезинфекцию.

посадку на питательную среду и получение  
растений, согласно полезной модели, из собранных  
зрелых орехов лещины после поверхностной  
дезинфекции, в асептических условиях вычлениют  
зародышевые оси с прилегающей тканью семядолей  
и помещают их на питательную среду WPM с 0,01  
мг/л индолилмасляной кислоты и 1 мг/л 6-  
бензиламинопурина образованные побеги через 4  
недели делят на сегменты и пересаживают на  
свежие питательные среды.

Предлагаемый способ размножения лещины  
позволяет при дальнейшем размножении из одного  
экспланта - изолированной зародышевой оси  
получать неограниченное количество растений в  
лабораторных условиях независимо от сезона что  
обеспечит высокую эффективность размножения  
растения лещины, как для питомников  
орехоплодных культур в качестве подвойного  
материала, так и для сохранения популяции редкого  
исчезающего вида в РК.

(19) KZ (13) U (11) 4998

Полезная модель относится к одной из отраслей растениеводства - ореховодству и может быть использована для массового размножения биотехнологическими методами лещины, применяемой в качестве подвоев для сортов фундука.

В Западном Казахстане зарегистрирована единственная в РК популяция лещины обыкновенной, являющейся редким и исчезающим видом, занесенным в Красную книгу. В настоящее время состояние этой популяции неудовлетворительное, отсутствует естественное возобновление (Кушнаренко С.В. и др., 2019). Предлагаемая технология будет способствовать сохранению лещины обыкновенной, при этом размноженные растения могут быть использованы для реинтродукции в естественные места произрастания.

Традиционно сеянцы лещины получают, высаживая целые орехи в почву. При таком способе из одного ореха получают один сеянец.

Известен способ посева семян древесных растений, в том числе лещины, предусматривающий высев семян в открытый грунт в борозды глубиной 10-12 см. после чего семена покрывают сначала слоем неразложившихся органических остатков травянистых растений толщиной 10-15 см, затем слоем почвы такой же толщины. В зоне прорастания семян температура составляет 30-35°C, относительная влажность - 60-70%. Данный способ позволяет ускорить прорастание семян, осуществляя, также, как и традиционный способ, возможность из одного ореха получить один сеянец (а.с. SU15477733, кл. A01C 7/00, оп.07.03.1990).

Наиболее близким по технической сущности к предлагаемому является способ размножения гибридных лесных орехов *Corylus heterophylla* Fish. - лещины разнолистной и *Corylus avellana* L. - лещины обыкновенной, в соответствии с которым отобранные без повреждения однолетние побеги делят на сегменты с 1-2 пазушными почками, промывают проточной водой, погружают в 70%-ный раствор спирта, затем стерилизуют 0,1% раствором Левина; далее экспланты инокулируют для культивирования в индукционной среде Мурасиге-Скуга; полученные верхушки побегов переносят в пролиферативную среду WPM. побеги, достигшие высоты 5 см, переносят на среду для укоренения, получая растения *in vitro* (патент CN106069746A. кл. A01H 4/00, оп.09.11.2016).

В данном способе для размножения лещины в качестве эксплантов используют сегменты стебля с пазушными почками и получают асептические растения в культуре *in vitro*.

Задачей предлагаемой полезной модели является разработка нового способа размножения лещины обыкновенной на основе биотехнологических методов *in vitro*, но с использованием другого экспланта - изолированных зародышевых осей.

Для этого в способе размножения лещины, включающем отбор эксплантов, их дезинфекцию, посадку на питательную среду и получение растений, согласно полезной модели. из собранных

зрелых орехов лещины после поверхностной дезинфекции, в асептических условиях вычлениют зародышевые оси с прилегающей тканью семядолей и помещают их на оптимизированную питательную среду WPM с 0,01 мг/л индолилмасляной кислоты и 1 мг/л 6-бензиламинопурина образованные побеги через 4 недели делят на сегменты и пересаживают на свежие питательные среды.

Зародышевые оси гораздо менее инфицированы, по сравнению с вегетативными тканями - сегментами побегов, используемыми в качестве эксплантов в прототипе, что позволяет получить асептические растения с большей эффективностью и провести их размножение в культуре *in vitro*. Предлагаемый способ размножения лещины позволяет при дальнейшем размножении из одного экспланта - изолированной зародышевой оси, получать неограниченное количество растений в лабораторных условиях независимо от сезона, что обеспечит высокую эффективность размножения растения лещины, как для питомников орехоплодных культур в качестве подвойного материала, так и для сохранения популяции редкого исчезающего вида в РК.

Пример.

Предлагаемый способ осуществляется следующим образом. Собранные зрелые орехи лещины обыкновенной подсушивают при комнатной температуре в течение одной недели, затем их помещают в холодильник для стратификации при температуре 8-10°C на 2 недели. После чего осуществляют поверхностную дезинфекцию орехов, их промывают в водопроводной воде. Далее отделяют семя - ядро от деревянистого околоплодника - скорлупы. Ядра промывают в мыльном растворе в течение 5 мин, споласкивают проточной водой.

Осуществляют изолирование зародышевых осей и их стерилизацию, для чего в асептических условиях ламинар-бокса вычлениют зародышевые оси с прилегающей частью семядолей (фигура 1) и помещают в 0,1% раствор сулемы на 7 мин, после чего промывают стерильной дистиллированной водой 3 раза по 5 минут.

Далее проводят посадку изолированных зародышевых осей в пробирки с оптимизированной питательной средой Драйвера и Куньюки (DKW) (фигура 2).

Осуществляют микроклональное размножение побегов лещины. Из пробирок побеги, достигшие высоты 5-7 см черенкуют - делят на 2-3 части и пересаживают в большие культуральные сосуды для размножения (фигура 3). Используют следующий состав оптимизированной питательной среды для микроклонального размножения:

Макроэлементы:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 750 мг/л;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 147 мг/л;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 790 мг/л;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  - 3000 мг/л;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  - 1560 мг/л;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 740 мг/л.

Микроэлементы:  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 50 мг/л;  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  26 мг/л;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 0,6 мг/л;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,4 мг/л;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  - 7,5 мг/л.

Хелат железа:  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 33,4 мг/л;  $\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 45 мг/л.

Глицин - 2 мг/л; мезоинозит - 100 мг/л; глюкоза 20 г/л; витамин В<sub>1</sub> — 2 мг/л; витамин РР - 1 мг/л.

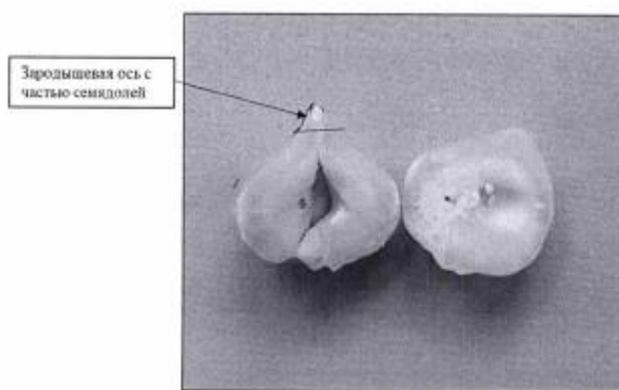
Гормоны - индолмасляная кислота (ИМК) - 0,01 мг/л; 6-бензиламинопурина (БАП) - 1 мг/л. рН - 5,7

Агар - 4 г/л; джелрайт - 1,75 г/л

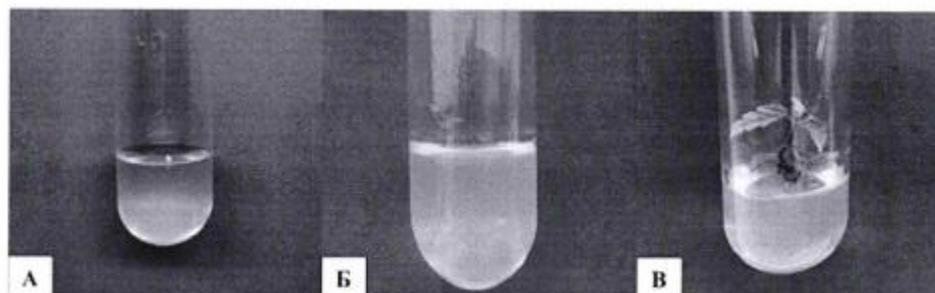
В эксперименте 41 зародышевую ось вводили в культуру *in vitro*, через две недели получено 34 растения в культуре *in vitro*, что составляет 82,9% от исходного количества эксплантов. Полученные растения через каждые 4 недели пересаживали на свежие питательные среды. В течение одного года из одной зародышевой оси можно получить до 100 растений, в дальнейшем это количество будет возрастать в геометрической прогрессии.

### ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ размножения лещины, включающий отбор эксплантов, их дезинфекцию, посадку на питательную среду и получение растений, **отличающийся** тем, что из собранных зрелых орехов лещины после поверхностной дезинфекции в асептических условиях вычлениют зародышевые оси с прилегающей тканью семядолей и помещают их на оптимизированную питательную среду WPM с добавлением 0,01 мг/л индолмасляной кислоты и 1 мг/л 6-бензиламинопурина, образованные побеги через 4 недели делят на сегменты и пересаживают на свежие питательные среды.



Фиг. 1 – Ядро лесного ореха. Показан сегмент, состоящий из зародышевой оси с прилегающей частью семядолей, который изолируется для проведения дезинфекции



Фиг. 2 – Изолированные зародышевые оси на питательной среде DKW. А – в день посадки; Б – проросток через неделю после посадки; В – проросток через 2 недели после посадки



Фиг. 3 – Размноженный образец *Coryllus avellana* L. на оптимизированной среде DKW с 1,0 мг/л БАП и 0,01 мг/л ИМК