

УКРАЇНА



# ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 142639

**СПОСІБ РЕГУЛЯЦІЇ МІКРОКРОНАЛЬНОГО  
РОЗМНОЖЕННЯ, РОСТУ ТА ВКОРІНЕННЯ  
КУЛЬТИВОВАНИХ IN VITRO РОСЛИН ТИРЛИЧУ ЖОВТОГО  
(GENTIANA LUTEA L.) ЗМІНОЮ РЕЖИМУ ОСВІТЛЕННЯ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.06.2020.

Заступник Міністра розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України

Д.О. Романович





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **142639** (13) **U**

(51) МПК (2020.01)

**A01H 4/00**

**A01H 3/02** (2006.01)

**C12N 5/04** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2019 10386</b>	(72) Винахідник(и): <b>Грицак Людмила Русланівна (UA), Нужина Наталія Володимирівна (UA), Дробик Надія Михайлівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>15.10.2019</b>	(73) Власник(и): <b>ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА, вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.06.2020</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.06.2020, Бюл.№ 12</b>	

## (54) СПОСІБ РЕГУЛЯЦІЇ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ, РОСТУ ТА ВКОРІНЕННЯ КУЛЬТИВОВАНИХ IN VITRO РОСЛИН ТИРЛИЧУ ЖОВТОГО (GENTIANA LUTEA L.) ЗМІНОЮ РЕЖИМУ ОСВІТЛЕННЯ

### (57) Реферат:

Спосіб регуляції мікроклонального розмноження, росту та вкорінення культивованих in vitro рослин тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) зміною режиму освітлення включає мультиплікацію пагонів, їх вкорінення та ріст отриманих рослин в умовах in vitro за інтенсивності світлового потоку в області ФАР 25-100 Вт/м<sup>2</sup>, різного співвідношення джерел штучного освітлення (ЛД, ЛХБ, ФЛ) та різного співвідношення хвиль синього (Ес), зеленого (Ез) та червоного (Еч) діапазонів. Початкове культивування адвентивних пагонів тирличу жовтого здійснюють у живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л кінетину, з рівнем рН=5,5 при температурі 19 °С за 16-годинного світлового дня, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 44 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношенні ЛД:ЛХБ=1:1 та співвідношенні Ес:Ез:Еч діапазонів = 37,35 %:42,35 %:20,3 % протягом 90 діб. Наступне культивування пагонів проводять у живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л кінетину, з рівнем рН=5,5 при температурі 19 °С, 16-годинному світловому періоді за використання різного співвідношення ламп ЛХБ та ФЛ, освітленості 3000 лк, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 85 або 100 Вт/м<sup>2</sup> та різного співвідношення хвиль Ес:Ез:Еч протягом 90 діб.

UA 142639 U



Корисна модель належить до галузі біотехнології, фізіології та екології рослин і може бути використана одночасно для підвищення продуктивності мультиплікації *in vitro* пагонів *Gentiana lutea* L. на живильних середовищах, їх вкорінення та для підвищення адаптаційного потенціалу культивованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro*.

5 Результати цих досліджень послужать основою для оптимізації світлового режиму вирощування *in vitro* рослин *G. lutea* та розроблення схеми підвищення їхнього адаптаційного потенціалу до природних умов росту.

*G. lutea* належить до рідкісних, лікарських видів, що знаходяться на межі зникнення зі складу високогірної флори Українських Карпат [Червона книга, 2009]. Збереження цього виду залежить від низки активних заходів, у тому числі й використання штучно отриманого посадкового матеріалу в умовах *in vitro* для відновлення та стабілізації його природних популяцій. Проте відомо, що у культурі *in vitro* рослини перебувають в умовах, що відрізняються від природних за багатьма фізико-хімічними параметрами. Це призводить до виникнення у рослин структурно-функціональних змін, які ускладнюють процес їх адаптації до умов *ex vitro* та *in situ* [Mathur et al., 2008]. Тривале культивування рослин *in vitro* із застосуванням екзогенних регуляторів росту знижує їх продуктивність і може спричинити соматональні варіації. Вирішити ці проблеми дозволяє максимальне наближення ключових параметрів штучного абіотичного середовища до природних умов росту видів, зокрема, це стосується світлового режиму. Від інтенсивності світла та його якісного складу залежить не лише продуктивність рослин *in vitro*, але й спрямованість їх метаболічних реакцій і реалізація специфічних програм морфогенезу. Тому, оптимізуючи світлові умови, можна цілеспрямовано впливати на ростові процеси рослин *in vitro* та підвищення їх адаптаційного потенціалу до умов *ex vitro*.

До недавнього часу культивування рослин *in vitro* здійснювали за використання незначного асортименту штучних джерел освітлення із низьким коефіцієнтом корисної дії в області фотосинтетично активної радіації (ФАР), зокрема, й люмінесцентних ламп денного світла (ЛД). Сучасний розвиток світлотехніки дозволяє використовувати для світлоккультури рослин й інші типи люмінесцентних ламп: холодного білого світла Lumilux 36W 840 (ЛХБ, "OSRAM" (Німеччина), фітоламп Fluora L36W/77 G13 (ФЛ, "OSRAM" (Німеччина), які характеризуються вищою інтенсивністю світлового потоку та спектральним складом в області ФАР, порівняно із ЛД.

Відомий спосіб стимулювання мікроклонального розмноження *G. lutea* в умовах *in vitro* на живильному середовищі МС/2 (середовище МС [Murashige & Skoog, 1962] з половинним вмістом макро- і мікросолей) із збільшеною удвічі (440 мг/л) концентрацією  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , доповненому 0,1 мг/л кінетику (Кін) і 0,05 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) за 16-годинний світловий день та використання ламп ЛД ("General Electric", Hungary), які забезпечували низький рівень освітлення - 1800 лк. За таких умов у перерахунку на один живець утворювалося 4,2 адвентивних пагонів [Спосіб мікроклонального розмноження, 2007]. Подальше їх укорінення відбувалося на живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти.

Найбільш близьким до пропонуваного є спосіб, за якого ріст отриманих адвентивних пагонів та їх укорінення *in vitro* відбувався у живильному середовищі МС/2, без зміни концентрації  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , доповненому 0,1 мг/л Кін, за використання ламп ЛД та освітленості 1800 лк. Наступне поетапне зменшення концентрації  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , заміни джерела карбону зі сахарози на низькомолекулярний маніт у складі живильного середовища, а також використання як підтримуючого субстрату агару у поєднанні з перлітом сприяло не лише ефективнішому вкоріненню мікроклонально розмножених рослин виду *G. lutea*, але й покращувало їхню адаптацію до умов *ex vitro* [Спосіб укорінення, 2013] та забезпечувало високий (до 51 %) відсоток їхнього приживання у природі на першому році життя [Mayorova et al., 2015].

Недоліками цих способів є: 1) стимулювання утворення адвентивних пагонів передбачає необхідність використання одночасно двох дороговартісних регуляторів росту (Кін, БАП), більших концентрації  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , що зумовлює меншу рентабельність процесу мультиплікації *in vitro* пагонів *G. lutea*; 2) отримані в таких умовах біотехнологічні рослини мали нехарактерний для інтактних рослин габітус, зокрема: видовжені міжвузля, значно витягнуті стебла з дрібними, тонкими, довгочерешковими листками. Такі морфологічні ознаки зазвичай спостерігаються у рослин за недостатньої інтенсивності світлового потоку в області ФАР або за неоптимального спектрального складу світла, що, можливо, стало причиною значного зменшення показників виживання особин (до 15 %) в умовах природи упродовж наступних 2 років.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб регуляції мікроклонального розмноження, росту та вкорінення культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* зміною режиму освітлення, який би зменшив матеріальні затрати на мультиплікацію та

отримання *in vitro* посадкового матеріалу і дозволив розробити ефективнішу технологію адаптації рослин *in vitro* до умов *ex vitro*.

Поставлена задача вирішується способом регуляції мікроклонального розмноження, росту та вкорінення культивованих *in vitro* рослин тирличу жовтого зміною режиму освітлення, який  
5  
включає мультиплікацію нагонів, їх вкорінення та ріст отриманих рослин в умовах *in vitro* за інтенсивності світлового потоку в області ФАР 25-100 Вт/м<sup>2</sup>, різного співвідношення джерел штучного освітлення (ЛД, ЛХБ, ФЛ) та різного співвідношення хвиль синього (Ес), зеленого (Ез) та червоного (Еч) діапазонів, причому, згідно з корисною моделлю, готують живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін; рН живильного середовища доводять до 5,5.  
10  
Приготовлене живильне середовище розливають по 7-8 мл у пробірки з мітками із фільтрувального паперу, автоклавують протягом 15 хвилин при тиску в одну атмосферу та охолоджують до кімнатної температури.

Спосіб здійснюється таким чином.

Адвентивні пагони тирличу жовтого з пазушними бруньками у асептичних умовах розрізають на фрагменти довжиною 1,5-2,5 см з 2-3 парами листків, висаджують у пробірки з підготовленим живильним середовищем та культивують їх протягом 90 діб при температурі 19 °С за 16-годинного світлового дня, інтенсивності світлового потоку в області фотосинтетично активної радіації (ФАР) 44 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношення ламп денного світла (ЛД): холодного білого світла (ЛХБ) = 1: 1 та співвідношення хвиль синього (Ес): зеленого (Ез): червоного (Еч) діапазонів = 37,35 %:  
15  
42,35 %: 20,3 % для стимулювання одночасно процесів росту, вкорінення рослин і розвитку з пазушних бруньок бічних пагонів.

Після цього, в асептичних умовах рослини, а також утворені адвентивні пагони розрізають на фрагменти довжиною 1,5-2,5 см з 2-3 парами листків, висаджують їх у пробірки на свіжоприготовлене середовище аналогічного складу та, відповідно:

25  
або повторюють цикл культивування за тих же світлових умов (див. вище) для збільшення продуктивності мультиплікації адвентивних пагонів;

або здійснюють культивування протягом 90 діб при температурі 19 °С, 16-годинному світловому періоді за використання лише ламп ЛХБ, освітленості 3000 лк, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 85 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношення хвиль в області ФАР - Ес: Ез: Еч =  
30  
33,0 %: 42,0 %: 25,0 % для стимулювання вкорінення та тривалого підтримання росту рослин тирличу жовтого *in vitro* із збереженням їх високої життєздатності.

або для стимулювання вкорінення, покращення ростових процесів та підвищення адаптаційного потенціалу культивованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro* здійснюють вирощування фрагментів довжиною 1,5-2,5 см з 2-3 парами листків рослин за використання  
35  
ламп ЛХБ та фітолампами у співвідношенні 0,7: 1,0, освітленості 3000 лк, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 100 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношення хвиль в області ФАР Ес:Ез:Еч = 25 %:27 %:48 % для стимулювання вкорінення, покращення ростових процесів та підвищення адаптаційного потенціалу культивованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro*.

40  
Авторами експериментально встановлені оптимальні інтенсивності світлового потоку, співвідношення ламп ЛД до ЛХБ та ФЛ і співвідношення хвиль Ес, Ез та Еч діапазонів для стимулювання мультиплікації пагонів, їх вкорінення та покращення ростових процесів у культивованих *in vitro* рослин *G. lutea*.

45  
Зміна світлового режиму не лише покращує ростові процеси, але й дозволяє одночасно стимулювати на живильних середовищах зі зниженим вмістом регуляторів росту вкорінення рослин та розвиток із їх пазушних бруньок бічних пагонів, що зменшує як трудомісткість процесу одержання посадкового матеріалу так і його собівартість.

Використання інших світлових режимів не дозволить отримати позитивних результатів.

Приклади конкретного використання запропонованого способу.

50  
Приклад 1. Готували живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін; рН середовища доводили до 5,5. Розливали живильне середовище по 7-8 мл у пробірки з мітками із фільтрувального паперу, автоклаували його протягом 15 хвилин при тиску в одну атмосферу та охолоджували до кімнатної температури. 3-3,5 місячні отримані мікроклональним розмноженням пагони *G. lutea* розрізали в асептичних умовах на фрагменти довжиною 1,5-2,0 см із 2-3 парами листків, висаджували у пробірки з приготовленим живильним середовищем та  
55  
культивували 90 діб при температурі 19 °С за 16-годинного світлового періоду. Культивування проводили за таких світлових умов: джерело штучного освітлення - лампи ЛД, ЛХБ; кількість ламп на площі 2,4 м - 18 шт.; співвідношення ламп - 1: 1; освітленість - 3000 лк; інтенсивність світлового потоку в області ФАР - 44 Вт/м<sup>2</sup>; спектральний склад - Ес:Ез:Еч=37,35 %:42,35 %:20,3 %.

Через 14-25 діб відбувалося укорінення живців, а через 21-30 діб із пазушних бруньок розвивалися бічні пагони. Частка укорінених рослин на 30 добу становила 72 %, а на 90 добу - 100 %. Ефективність укорінення, порівняно із відомим способом [Спосіб укорінення, 2013], є вищою у 2,2 рази на 30 добу культивування, та на 10,6 % - на 90 добу.

5 Формування бічних пагонів відбувалося у 76 % живців, кількість бічних пагонів у перерахунку на один висаджений живець складала 3,9 шт., що лише на 7,1 % є менше порівняно із відомим способом мікроклонального розмноження [Спосіб мікроклонального розмноження, 2007].

10 Паралельно було досліджено інші ростові параметри рослин за світлового режиму культивування відомого способу [Спосіб укорінення, 2013], а саме: за 16-годинного світлового дня, освітленості 1800 лк, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 25 Вт/м<sup>2</sup>, спектрального складу: Ес:Ез:Еч = 42 %:43 %:15 %.

15 Через 90 діб культивування рослин за оптимізованого світлового режиму зменшуються у 1,6 разу висота стебел та у 1,9 разу довжина міжвузлів, що свідчить про кращий стан рослин, оскільки *G. lutea* є напіврозетковим видом. У природі нижні листки його особин формують розетку, а міжвузля утворюються лише на генеративних пагонах [Прокопів, 2012]. Порівняно із відомим способом, за оптимізованих світлових умов значно покращуються й інші ростові параметри, а саме: збільшується біомаса кореня, надземної частини та листків, площа листової поверхні (табл. 1).

20 Така зміна світлового режиму культивування стимулює як розвиток пазушних бруньок на живцях *G. lutea* без додаткового використання регулятора росту БАП і збільшених концентрацій CaCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O, так і укорінення пагонів. Завдяки формуванню кореневої системи збільшується поглинання мінеральних солей із живильного середовища, що й покращує ростові параметри рослин.

25 Приклад 2. Готували живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін; рН середовища доводили до 5,5. Розливали живильне середовище по 7-8 мл у пробірки з мітками із фільтрувального паперу, автоклаували його протягом 15 хвилин при тиску в одну атмосферу та охолоджували до кімнатної температури. Отримані мікроклональним розмноженням пагони, рослини *G. lutea*, розрізали у асептичних умовах на фрагменти довжиною 1,5-2 см, висаджували у пробірки із живильним середовищем та культивували їх протягом 90 діб при температурі 19 °С за 16-годинним світловим періодом. Культивування проводили за таких світлових умов: джерело штучного освітлення - лампи ЛХБ; кількість ламп на площі 2,4 м<sup>2</sup>-26 шт.; освітленість - 3000 лк; інтенсивність світлового потоку в області ФАР - 85 Вт/м<sup>2</sup>; спектральний склад - Ес:Ез:Еч=33,0 %:42,0 %:25,0 %.

35 Через 10-18 діб відбувалося як укорінення живців, так й розвиток нових пар листків. Частка укорінених рослин на 30 добу становила 100 %. Такі світлові умови не стимулюють мікроклональне розмноження, однак значно покращують, порівняно із відомим способом, ростові процеси рослин (табл. 2). Через 90 діб культивування загальна біомаса рослин, порівняно із відомим способом, зростає у понад 5 разів, а біомаса кореня та листків - більше ніж у 9 разів. При цьому висота пагона зменшується у 2,2 разу, а довжина міжвузлів - у 3,8 разу.

40 Проте, розетка листків, подібна до рослин з природи, у даних умовах освітлення не формується. Завдяки наявності міжвузлів рослини можна живцювати. Тому такий світловий режим дозволяє за необхідності тривалий час підтримувати ріст *in vitro* рослин *G. lutea* із збереженням їх високої життєздатності.

45 Приклад 3. Готували живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін; рН середовища доводили до 5,5. Розливали живильне середовище по 7-8 мл у пробірки з мітками із фільтрувального паперу, автоклаували його протягом 15 хвилин при тиску в одну атмосферу та охолоджували до кімнатної температури. Отримані адвентивні пагони та рослини *G. lutea* розрізали у асептичних умовах на фрагменти довжиною 1,5-2 см, висаджували у пробірки із живильним середовищем та культивували їх протягом 90 діб при температурі 19 °С за 16-годинного світлового періоду. Культивування проводили за таких світлових умов: джерело штучного освітлення - лампи ЛХБ, ФЛ; кількість ламп на площі 2,4 м<sup>2</sup>-18 шт.; співвідношення ламп = 0,7:1; освітленість - 3000 лк; інтенсивність світлового потоку в області ФАР - 100 Вт/м<sup>2</sup>; спектральний склад - Ес:Ез:Еч=25 %:27 %:48 %.

55 Утворення коренів за таких світлових умов відбувалося на 9-16 добу, у цей же період починали розвиватися нові листки. До 30 доби усі пагони були укорінені. Як і у прикладі 2, така оптимізація світлового режиму культивування не стимулювала розвиток адвентивних пагонів, однак значно покращувала, порівняно як з відомим способом, так і прикладом 2, ростові процеси, що відображається на значеннях показників загальної біомаси рослин, сирі маси коренів, надземної частини, листків, а також площі листової поверхні (табл. 3). Міжвузля у рослин залишаються лише на вихідних фрагментах живців, у апікальній частині сформованого

пагона утворюється розетка листків без чітко виражених міжвузлів. За габітусом рослини *in vitro* за таких світлових умов культивування є подібними до рослин з природи.

Відсутність міжвузлів у сформованих пагонах унеможливує процес їх живцювання. Однак, інтенсивний розвиток кореневої системи, значне збільшення площі листової поверхні, подібність габітусу культивованих *in vitro* рослин до рослин з природи, свідчить про їх високий адаптаційний потенціал до умов *ex vitro*. Тому такі світлові умови рекомендуються нами на заключних етапах культивування рослин *in vitro* перед перенесенням їх в умови *ex vitro*.

Таким чином, запропонований спосіб регуляції мікроклонального розмноження, росту та вкорінення культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* зміною режиму освітлення дозволяє: 1) здійснити ефективну мультиплікацію пагонів без додаткового використання регулятора росту БАП та підвищених концентрацій  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  у складі живильного середовища, що одночасно забезпечує зменшення можливих соматоклональних змін культивованих *in vitro* рослин і зниження матеріальних затрат, порівняно із відомим способом; 2) стимулювати укорінення рослин одночасно із розвитком адвентивних пагонів, що збільшує надходження поживних сполук із живильного середовища до надземної частини рослин, покращує динаміку ростових процесів рослин та, відповідно, якість мультиплікованого рослинного матеріалу; 3) цілеспрямовано впливати на ефективність мікроклонального розмноження, ріст та укорінення пагонів *G. lutea in vitro*, залежно від поставленої дослідником задачі, та підвищити адаптаційний потенціал рослин *in vitro* до умов *ex vitro*.

Джерела інформації:

1. Пат. 21499 Україна МПК 2006) С12N 5/00, А01Н 4/00, С12N 5/04. Спосіб мікроклонального розмноження видів тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) та тирличу безстеблового (*Gentiana acaulis* L.) / Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Грицак Л.Р., Леськова О.М., Кунах В.А.; заявники і патентовласники Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка. - № u 2006 10671; заявл. 09.10.2006; опубл. 15.03.2007, Бюл. № 3.

2. Пат. 85377 Україна, МПК (2013) С12 N 5/00, 5/04; А01 Н 4/00. Спосіб укорінення *in vitro* та адаптації до умов *ex vitro* рослин тирличу жовтого *Gentiana lutea* L. / Майорова О.Ю., Грицак Л.Р., Мельник В.М., Дробик Н.М., Кунах В.А.; заявники і патентовласники Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка. - № u201311328; заявл. 24.09.2013; опубл. 11.11.2013, Бюл. № 21.

3. Прокопів А.І. Структурна організація пагонових систем *Gentiana* L. / А.І. Прокопів // *Modern Phytomorphology*. - 2012. - 1. - С. 149-152.

4. Червона книга України. Рослинний світ / [за ред. Я.П. Дідуха]. - К.: Глобалконсалтинг, 2009. - 900 с.

5. Mayorova, O. Yu., Hrytsak, L. R., & Drobyk, N. M. (2015). Adaptation of *Gentiana lutea* L. plants obtained *in vitro* to *ex vitro* and *in situ* condition. *Biotechnologia Acta*, 8(6), 77-86. doi:10.15407/biotech.8.06.077.

6. Mathur A. Biological hardening and genetic fidelity testing of micro-cloned progeny of *Chlorophytum borivilianum* / Archana Mathur, Ajay Kumar Mathur\*, Priyanka Verma, Shrawan Yadav, Moti Lai Gupta and Mahendra P. Darokar // *African Journal of Biotechnology*. - 2008. - Vol. 7 (8). - P. 1046-1053.

7. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. plant*. - 1962. - V. 15. - P. 473-497.

45

Таблиця 1

Зміна ростових параметрів рослин *in vitro* *G. lutea* через 90 діб культивування в умовах світлового режиму відомого способу та прикладу 1 (n=30, x±SD)

Параметри	Світловий режим відомого способу	Оптимізований світловий режим (приклад 1)	Ефект стимуляції, %
Кількість листків у перерахунку на 1 пагін, шт.	10,6±1,9	12,4±1,6	117,0
Кількість адвентивних пагонів у розрахунку на 1 живець, шт.	-	3,9±0,5	390,0
Висота одного стебла, см	9,1±2,1	5,6±0,7*	162,5
Довжина міжвузля, см	1,7±0,1	0,9±0,1*	188,9
Сира маса кореня, мг	12,1±1,3	45,3±7,3	374,4
Сира маса надземної частини, мг	87,4±10,8	253,7±41,3	290,3
Загальна сира маса рослин, мг	99,4±12,1	299,0±48,6	300,8
Сира маса листків, мг	31,8±4,8	111,3±5,9	350,0
Площа листової поверхні, см <sup>2</sup>	2,7±0,4	8,0±1,2	296,3
Площа одного листка, см <sup>2</sup>	0,26±0,03	0,64±0,06	246,2
Відношення біомаси надземної частини до біомаси кореня	7,24±0,18	5,59±0,11*	129,5

Примітка. \* - зниження значень показників цих ростових процесів свідчить про кращий стан рослин.

Таблиця 2

Зміна ростових параметрів рослин *in vitro* *G. lutea* за культивування в умовах світлового режиму відомого способу та прикладу 2 (n=30, x±SD)

Параметри	Світловий режим відомого способу	Оптимізований світловий режим (приклад 2)	Ефект стимуляції, %
Кількість листків у перерахунку на 1 пагін, шт.	10,6±1,9	17,6±2,6	166,0
Кількість адвентивних пагонів у розрахунку на 1 живець, шт.	-	-	-
Висота стебла, см	9,1±2,1	4,1±0,65*	221,9
Довжина міжвузля, см	1,7±0,1	0,45±0,1*	377,7
Сира маса кореня, мг	12,1±1,3	114,0±20,2	942,1
Сира маса надземної частини, мг	87,4±10,8	386,0±46,4	441,6
Загальна сира маса рослин, мг	99,4±12,1	500,0±60,1	503,0
Сира маса листків, мг	31,8±4,8	288,9±33,8	908,5
Площа листової поверхні, , см <sup>2</sup>	2,7±0,4	13,1±2,11	485,2
Площа одного листка, см <sup>2</sup>	0,26±0,03	0,74±0,03	284,6
Відношення біомаси надземної частини до біомаси кореня	7,24±0,18	3,4±0,53*	212,9

Примітка. \* - зниження значень показників цих ростових процесів свідчить про кращий стан рослин.



Таблиця 3

Зміна ростових параметрів рослин *in vitro* *G. lutea* через 90 діб культивування в умовах світлового режиму відомого способу та прикладу 3 (n=30, x±SD)

Параметри	Світловий режим відомого способу	Оптимізований світловий режим (приклад 3)	Ефект стимуляції, %
Кількість листків у перерахунку на 1 пагін, шт.	10,6±1,9	16,6±4,2	156,6
Кількість адвентивних пагонів у розрахунку на 1 живець, шт.	-	-	-
Висота стебла, см	9,1±2,1	2,8±0,7*	325,0
Довжина міжвузля, см	1,7±0,1	розетка листків	**
Сира маса кореня, мг	12,1±1,3	153,6±27,5	1268,4
Сира маса надземної частини, мг	87,4±10,8	397,2±66,0	454,46
Загальна сира маса рослин, мг	99,4±12,1	546,8±57,1	550,1
Сира маса листків, мг	31,8±4,8	311,0±53,7	978,0
Площа листової поверхні, см <sup>2</sup>	2,7±0,4	14,82±3,2	2548,88
Площа одного листка, см	0,26±0,03	0,9±0,08	346,2
Відношення біомаси надземної частини до біомаси кореня	7,24±0,18	2,6±0,59*	278,5

Примітки: \* - зниження значень показників цих ростових процесів свідчить кращий стан рослин; \*\* - ефект стимуляції росту стебла у % відсутній, оскільки за умов оптимізованого світлового режиму (приклад 3) формується розетка листків, характерна для рослин *G. lutea* з природи.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб регуляції мікроклонального розмноження, росту та вкорінення культивованих *in vitro* рослин тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) зміною режиму освітлення, що включає мультиплікацію пагонів, їх вкорінення та ріст отриманих рослин в умовах *in vitro* за інтенсивності світлового потоку в області ФАР 25-100 Вт/м<sup>2</sup>, різного співвідношення джерел штучного освітлення (ЛД, ЛХБ, ФЛ) та різного співвідношення хвиль синього (Ес), зеленого (Ез) та червоного (Еч) діапазонів, який **відрізняється** тим, що початкове культивування адвентивних пагонів тирличу жовтого здійснюють у живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л кінетину, з рівнем рН=5,5 при температурі 19 °С за 16-годинного світлового дня, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 44 Вт/м<sup>2</sup>, співвідношенні ЛД:ЛХБ=1:1 та співвідношенні Ес:Ез:Еч діапазонів = 37,35 %:42,35 %:20,3 % протягом 90 діб та наступне культивування пагонів проводять у живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л кінетину, з рівнем рН=5,5 при температурі 19 °С, 16-годинному світловому періоді за використання різного співвідношення ламп ЛХБ та ФЛ, освітленості 3000 лк, інтенсивності світлового потоку в області ФАР 85 або 100 Вт/м<sup>2</sup> та різного співвідношення хвиль Ес:Ез:Еч протягом 90 діб.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601