



(51) МПК

A01H 4/00 (2006.01)*A01G 7/00* (2006.01)*A01G 23/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012153026/13, 07.12.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.12.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.12.2012

(45) Опубликовано: 10.05.2014 Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2080780 C1, 10.06.1997. CN
101803571 A, 18.08.2010; . SU 1581741 A1,
30.07.1990; . SU 1752284 A1, 07.08.1992; . RU
2457669 C2, 10.08.2012

Адрес для переписки:

394087, г.Воронеж, ул. Тимирязева, 8, ВГЛТА,
патентный отдел

(72) Автор(ы):

Сиволапов Владимир Алексеевич (RU),

Сиволапов Алексей Иванович (RU),

Табацкая Татьяна Михайловна (RU),

Благодарова Татьяна Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
профессионального образования
"Воронежская государственная
лесотехническая академия" (RU)

(54) СПОСОБ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ОЛЬХИ ЧЕРНОЙ IN VITRO

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии растений, в частности к микрклональному размножению in vitro. В способе культивируют каллусные культуры из стерильных эксплантов стеблевых сегментов, листьев, листовых черешков. Используют базовые питательные среды Мурасиге-Скуга, Вуди Плант Медимум с содержанием и соотношением регуляторов роста: 6-бензиламинопури - 0,2-1,5

мг/л, α -нафтилуксусная кислота - 0,2-0,5 мг/л, индолилмасляная кислота - 2 мг/л. Далее проводят адаптацию при освещенности 2000 люкс и питательном режиме регенерантов в теплице с получением посадочного материала для лесных культур. Способ позволяет получать посадочный материал с высокими наследственными свойствами. 2 табл.

RU 2 515 385 C1

RU 2 515 385 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 515 385**⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.

A01H 4/00 (2006.01)

A01G 7/00 (2006.01)

A01G 23/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2012153026/13, 07.12.2012**

(24) Effective date for property rights:
07.12.2012

Priority:

(22) Date of filing: **07.12.2012**

(45) Date of publication: **10.05.2014** Bull. № 13

Mail address:

**394087, g.Voronezh, ul. Timirjazeva, 8, VGLTA,
patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Sivolapov Vladimir Alekseevich (RU),
Sivolapov Aleksej Ivanovich (RU),
Tabatskaja Tat'jana Mihajlovna (RU),
Blagodarova Tat'jana Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovanija "Voronezhskaja
gosudarstvennaja lesotekhnicheskaja akademija"
(RU)**

(54) **METHOD OF MICROCLONAL REPRODUCTION OF BLACK ALDER IN VITRO**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnologies.

SUBSTANCE: in the method they cultivate callus cultures from sterile explants of stem segments, leaves, leaf stakes. Basic nutrient media are used, such as Murasige-Skuga and Woody Plant Medium with content and ratio of growth regulators: 6-benzylaminopurine - 0.2-1.5 mg/l, α -naphthyl acetic acid - 0.2-0.5 mg/l, in-

dolebutyric acid - 2 mg/l. Further adaptation is carried out with light of 2000 lux and nutrient mode of regenerants in a greenhouse with production of planting material for forest cultures.

EFFECT: method makes it possible to produce planting material with high inherited properties.
2 tbl

RU 2 515 385 C1

RU 2 515 385 C1

Изобретение относится к области биотехнологии растений.

Ольха черная (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) перспективна для лесного хозяйства страны, она способна выдерживать длительное затопление и произрастать на переувлажненных экотопах там, где другие древесные породы расти не могут, способна произрастать на бедных и бесплодных сухих почвах (гравий, песок) с близко залегающими грунтовыми водами, способна обогащать почву азотом через опад и корневые выделения (до 780 кг/га за 5 лет). Благодаря этому качеству черная ольха при совместных посадках с более ценными породами оказывает на них положительное влияние. Уникальна биосферная роль ольхи черной в болотной экосистеме, что делает ее привлекательной для экологов, лесоводов, селекционеров. Незаменима она при разработке моделей устойчивого и ускоренного повышения продуктивности насаждений, при плантационном лесоводстве для ускоренного получения древесины.

В связи с важностью выращивания селекционных форм и сортов ольхи черной существует необходимость получения посадочного материала с высокими наследственными свойствами. В уровне техники не выявлен способ решения поставленной задачи.

Предлагаемое изобретение решает задачу создания наиболее эффективного способа размножения ольхи черной - микроклональное размножение *in vitro*.

Сущность изобретения заключается в следующем.

Способ микроклонального размножения ольхи черной *in vitro* включает культивирование каллусных культур из стерильных эксплантов стеблевых сегментов, листьев, листовых черешков, используя базовые питательные среды Мурасиге-Скуга (MS), Вуди Планта Медиум (WPM) с содержанием и соотношением регуляторов роста: 6-бензиламинопурина (6-БАП) - 0,2÷1,5 мг/л, α -нафтилуксусная кислота (НУК) - 0,2÷0,5 мг/л, индолилмасляная кислота (ИМК) - 2 мг/л, и дальнейшей адаптацией при освещенности 2000 люкс и питательном режиме регенерантов в теплице, и получением посадочного материала для лесных культур.

Осуществляют способ следующим образом.

Для каллусных культур эксплантами служат стеблевые сегменты без почек, листья, листовые черешки.

В качестве базовых сред используют MS или WPM и их модификации с различным содержанием и соотношением регуляторов роста (6-БАП, ИУК, НУК, ИМК). При прямой регенерации используют 6-БАП (0,2-1,5 мг/л), индукции множества почек и побегов - 6-БАП в сочетании с НУК (0,2-0,5 мг/л). Каллусные культуры получают с помощью ИМК (2 мг/л) в сочетании с 6-БАП (0,2-0,5 мг/л). Исключение ИМК в дальнейшем и увеличение концентрации 6-БАП до 1 мг/л используют для получения морфогенных каллусных культур. Для пролиферации каллуса ольхи черной в питательную среду вносят ИМК (2 мг/л) в сочетании с 6-БАП (0,2-0,5 мг/л). Развитие, удлинение побегов достигается согласно следующим приемам: солевой состав питательной среды разбавляют в 2-3 раза, дополняют ее активированным углем (10-20 г/л), обрабатывают базальные концы побегов раствором ИМК (25 мг/л в течение 10-15 минут).

Адаптационный этап развития регенерированного материала предусматривает следующие варианты:

1 - лабораторный (открытые пробирки в течение 3-5 дней, затем высаживают в грунт стаканчики, доращивают в микротеплице с последующей высадкой в открытый грунт).

2 - прямая высадка в открытый грунт с использованием временного укрытия (пленочные микротеплицы).

В первом варианте экологические условия контролируемые (t 25-26°C, освещенность 2000 люкс при 16-часовом фотопериоде); во втором - естественные условия освещения и температуры. Повышенная влажность достигается поливом и пленочным укрытием.

Эффективность каллусогенеза разных органов ольхи на питательной среде MS+ИМК (2 мг/л) отражена в таблице 1.

Таблица 1				
Экспланты	Эффективность каллусогенеза			
	Количество культур		Темп каллусогенеза (сутки)	Объем ткани (см ³)
	общее	С каллусом, %		
Ольха черная				
стеблевые сегменты	15	100	21	1,5-2
черешки	10	40,0	30	следы
листья	11	9,9	30	следы

В таблице 2 отражена эффективность морфогенеза у культур различного происхождения (калусные, стеблевые сегменты) на среде WPM в зависимости от содержания БАП мг/мм:

Таблица 2				
БАП мг/мм	Ольха черная			
	калусная культура		почки	
	общее количество		общее количество	
0,1	5	-	10	-
0,2	5	-	10	-
0,5	6	1/16,6	10	4/40,0
0,6	5	2/40,0	10	7/70,0
1,0	5	-	10	2/20,0
1,5	5	-	10	-
2,0	-	-	10	-

Продолжительность жизни морфогенных культур ольхи по сравнению с другими листовыми (береза) значительно ниже и ограничена 2-3 неделями.

Для их сохранения необходимо повторное рекультивирование. В противном случае независимо от происхождения в культурах отмечен интенсивный рост каллусной ткани, как правило, подавляющий развитие побега.

Формула изобретения

Способ микроклонального размножения ольхи черной *in vitro*, включающий культивирование каллусных культур из стерильных эксплантов стеблевых сегментов, листьев, листовых черешков, используя базовые питательные среды Мурасиге-Скуга, Вуди Планта Медиум с содержанием и соотношением регуляторов роста: 6-бензиламинопурина - 0,2-1,5 мг/л, α -нафтилуксусная кислота - 0,2-0,5 мг/л, индолилмасляная кислота - 2 мг/л, и дальнейшей адаптацией при освещенности 2000 люкс и питательном режиме регенерантов в теплице, и получением посадочного материала для лесных культур.