



(19) **UA** (11) **21 986** (13) **U**  
(51)МПК

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12)

(21), (22) Заявка: u200611642, 06.11.2006

(24) Дата начала действия патента: 10.04.2007

(46) Дата публикации: 15.04.2007 A 01 N 4 / 00  
20070101CFI20070115RHUA

(72) Изобретатель:

Зеленина Галина Артемовна, UA,  
Игнатова Светлана Александровна, UA

(73) Патентовладелец:

ЮЖНЫЙ BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР В  
РАСТЕНИЕВОДСТВЕ УААН, UA

(54) СПОСОБ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *ARNICA CHAMISSONIS LESS.SSP. FOLIOSA* (NUTT.)  
MAGUIRE

(57)

Способ клонального микроразмножения *Arnica chamissonis Less. ssp. foliosa* (Nutt.) Maguire включает регенерацию микропобегов стебельными эксплантатами. Донорские растения выращивают из семян. Культивирование эксплантатов и укоренение регенерантов осуществляют на модифицированных питательных средах MS.

Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2007, N 4, 15.04.2007. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.

U A 2 1 9 8 6 U

U A 2 1 9 8 6 U



(19) **UA** (11) **21 986** (13) **U**

(51) Int. Cl.

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF  
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL  
PROPERTY

(12)

(21), (22) Application: u200611642, 06.11.2006

(24) Effective date for property rights: 10.04.2007

(46) Publication date: 15.04.2007A01H 4/00  
20070101CFI20070115RHUA

(72) Inventor:

Zelenina Halyna Artemivna, UA,  
Ihnatova Svitlana Oleksandrivna, UA

(73) Proprietor:

SOUTHERN BIOTECHNOLOGICAL CENTER IN  
PLANT SCIENCE OF UAAS, UA

(54) METHOD OF CLONAL MICROPROPAGATING OF ARNICA CHAMISSONIS LESS.SSP. FOLIOSA (NUTT.)  
MAGUIRE

(57)

A method of clonal micropropagation of *Arnica chamissonis* Less. ssp. *foliosa* (Nutt.) Maguire includes the regeneration of microshoots by stem explants. Donor plants are grown from seed. Cultivating the explants and rooting of regenerants is carried out on modified MS

nutrient media.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2007, N 4, 15.04.2007. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

U  
A  
2  
1  
9  
8  
6  
U

U  
A  
2  
1  
9  
8  
6  
U



(19) **UA** (11) **21 986** (13) **U**  
(51)МПК

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12)

(21), (22) Дані стосовно заявки:  
u200611642, 06.11.2006

(24) Дата набуття чинності: 10.04.2007

(46) Публікація відомостей про видачу патенту  
(декларційного патенту): 15.04.2007A01H 4/00  
20070101CFI20070115RHUA

(72) Винахідник(и):  
Зеленіна Галина Артемівна, UA,  
Ігнатова Світлана Олександрівна, UA

(73) Власник(и):  
ПІВДЕННИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР У  
РОСЛИННИЦТВІ УААН, UA

(54) СПОСІБ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОПОЗМНОЖЕННЯ *ARNICA CHAMISSONIS LESS.SSP. FOLIOSA (NUTT.)*  
*MAGUIRE*

(57)

Спосіб клонального мікророзмноження *Arnica chamissonis Less. ssp. foliosa (Nutt.) Maguire* включає регенерацію мікропагонів стебловими

експлантатами. Донорські рослини вирощують з насіння. Культивування експлантів та вкорінення регенерантів здійснюють на модифікованих живильних середовищах МС.

U  
A  
2  
1  
9  
8  
6  
U

U  
A  
2  
1  
9  
8  
6  
U

## Опис винаходу

Корисна модель належить біотехнології і може бути використана для масового отримання садивного матеріалу цінної лікарської рослини арніки листяної *Arnica chamissonis* Less. ssp. *foliosa* (Nutt.) Maguire (родина Asteraceae).

Створення багаторічних промислових плантацій арніки листяної, інтродуцента з Північної Америки, дозволить задовольнити потребу в лікарській сировині (Flores Arnicae). До недавнього часу ця потреба задовольнялась шляхом експлуатації рослинних ресурсів *Arnica montana* L., які тепер витощені та вид занесено до Червоної книги. Сучасний стан проблеми ускладнюється тим, що культивування цього рідкісного виду неможливе поза зоною природного зростання. Інтродукційні випробування арніки листяної на півдні України дали позитивні результати. В зв'язку з вищевикладеним для підвищення коефіцієнту розмноження арніки листяної необхідно розробити спосіб її клонального мікророзмноження.

Найбільш близьким до запропонованого способу є процедура, розроблена для клонального мікророзмноження рослин спорідненого виду *Arnica montana* [Ніколайчук В.І., Надь Б.Б., Куртин Н.П. Деякі результати клонального мікророзмноження арніки гірської //Наук, вісник Ужгородського державного університету. Сер. Біологія. – 1995. – Вип.2. – С.81-83]. Паростки *Arnica montana* у фазі двох сім'ядолей культивують *in vitro* на живильних середовищах Мурасиге и Скута з додаванням цитокінінів та ауксинів для збільшення кількості точок росту.

Даний винахід вибрано як найближчий аналог. До недоліків цього способу слід віднести відносно невелику ефективність отримання асептичного донорного матеріалу та коефіцієнт розмноження *in vitro* (1:7).

З метою усунення вказаних недоліків пропонується вперше розроблений спосіб клонального мікророзмноження арніки листяної, який дає змогу досягти більш високого коефіцієнту розмноження *in vitro* (1:27) та знизити рівень контамінації донорного матеріалу.

Поставлена задача вирішується тим, що для попередньої активації формування меристематичних зон в тканинах донорних рослин в якості експлантів для клонального мікророзмноження використовують сегменти стебла ювенільних рослин, вирощених з насіння *in vitro* на живильному середовищі Мурасиге та Скута з доданням 2мг/л БАП.

Відмінними від найближчого аналога ознаками у корисній моделі, що заявляється, є:

- спосіб вирощування донорних рослин;
- використання в якості експлантів стеблових сегментів;
- модифікація складу живильного середовища, проведена з використанням методу математичного планування експерименту.

Спосіб забезпечує високу ефективність клонального мікророзмноження та отримання однорідного за темпами розвитку і вмістом арніфоліну садивного матеріалу арніки листяної.

Спосіб здійснюється таким чином.

1. Вирощування донорних рослин арніки листяної. Зріле насіння арніки листяної в асептичних умовах залити 15-% розчином перекису водню на 15хв. Злити стерілізуючий агент і двократно промити насіння стерильною водою. В умовах ламінар-боксу висадити насіння на поверхню агаризованого живильного середовища Мурасиге і Скута з додання 2мг/л БАП. Утримувати культуральні ємності з насінням протягом трьох діб у темряві в умовах термостату при 25°C. Протягом 30 діб вирощувати паростки з насіння при 22 °С, освітленні 2-3тис.лк, відносній вологості повітря 70%. Отримані ювенільні рослини використовувати в якості донорів експлантів для подальшого клонального мікророзмноження.

2. Клональне мікророзмноження арніки листяної. З донорних рослин виділити вузлові сегменти стебла та висадити експланти на модифіковане живильне середовище МС доповнене 3мг/л БАП, в якому концентрація нітрату амонію зменшена до 1г/л, мезо-інозит та комплекс вітамінів виключені. На середовищі даного складу протягом 30 діб відбувалася регенерація експлантами чисельних мікропагонів.

3. Вкорінення регенерантів *in vitro*. Отримані пучки мікропагонів розділяли в асептичних умовах та окремі мікропагони висаджували базальною частиною в агаризоване модифіковане живильне середовище МС з половинною концентрацією мінеральних солей та доданням 1г/л активованого вугілля. Протягом 30 діб відбувається 100-% вкорінення мікропагонів.

Приклади конкретного використання запропонованого способу.

Приклад 1. Проводили клональне мікророзмноження рослин арніки листяної. Вузлові сегменти стебла культивували на модифікованому живильному середовищі МС та протягом 30 діб отримували в середньому 7-8 мікропагонів на експлант, при цьому коефіцієнт розмноження *in vitro* складав 1:27.

Приклад 2. В якості вихідного рослинного матеріалу для клонального мікророзмноження використовували зріле насіння арніки листяної. При цьому, по-перше, ефективність поверхневої стерилізації вихідного матеріалу складала майже 90%. По-друге, при пророщуванні насіння на живильному середовищі МС з доданням 2мг/л БАП його схожість збільшилась в 1,8 рази в порівнянні з лабораторною. По-третє, при вирощуванні донорних рослин *in vitro* з насіння на середовищі того самого складу ефективність клонального мікророзмноження підвищилась в 1,8 рази в порівнянні з використанням донорних рослин, вирощених на безгормональному середовищі МС.

## Формула винаходу

Спосіб клонального мікророзмноження *Arnica chamissonis* Less. ssp. *foliosa* (Nutt.) Maguire включає регенерацію мікропагонів стебловими експлантами, який відрізняється тим, що донорські рослини вирощують з насіння, культивування експлантів та вкорінення регенерантів здійснюють на модифікованих живильних середовищах МС.

5

Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2007, N 4, 15.04.2007. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

U  
A  
2  
1  
9  
8  
6  
U

U  
A  
2  
1  
9  
8  
6  
U