



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **593**

(51) **МПК(2012) А 01**
Н 4/00

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

2

(21) 1300780

(22) 20.03.2013

(46) Бюл.92, 2013

(71) Султонова М.С. (ТJ); Нимаджонова К. (ТJ);
Алиев К. (ТJ).

(72) Султонова М.С. (ТJ); Нимаджонова К. (ТJ);
Алиев К. (ТJ).

(73) Султонова М.С. (ТJ); Нимаджонова К. (ТJ);
Алиев К. (ТJ).

(54) **СПОСОБ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО
РАЗМНОЖЕНИЯ СЕКВОЙДЕНДРОНА
ГИГАНТСКОГО (SEQUOIA DENDRON
GIGANTUM)**

(57) Изобретение относится к биотехнологии сельскохозяйственных растений, в частности, к способу микроклонального размножения и может быть использовано в лесоводстве и деко-

ративном садоводстве при размножении саженцев декоративных растений для озеленения.

Способ микроклонального размножения секвойдендрона гигантского в условиях *in vitro* заключается в том, что в период активной вегетации у взрослых растений производят черенкование из апикальных побегов, длиной 0,8-1 см. Черенки поэтапно стерилизуют раствором меркулхлорида и этиловым спиртом и промывают автоклавированной водой. Приготавливают питательную среду Мурашига Скуга (МС) с добавлением глицина и фитогармонов. Питательную среду разливают в пробирки, после остывания высаживают стерилизованные черенки секвойдендрона гигантского и размещают в светотрон с искусственным освещением. Черенки трижды пересаживают на новую питательную среду.

Изобретение относится к биотехнологии сельскохозяйственных растений, в частности, к способу микроклонального размножения и может быть использовано в лесоводстве и декоративном садоводстве при размножении саженцев декоративных растений для озеленения.

В результате патентного поиска по микроклональному размножению секвойдендрона гигантского аналогов заявляемого изобретения не выявлено.

Цель изобретения: поиск и разработка перспективного способа микроклонального размножения секвойдендрона гигантского *in vitro*.

Апикальные побеги взрослых растений секвойдендрона длиной 0,8-1 см изолируются из взрослых растений весной в период вегетации.

Для стерилизации черенки выдерживались в растворе меркулхлорида 0,1% - 15 минут, после чего промывались автоклавированной водой 3 раза по 5 минут. Далее черенки обрабатывались 70%-ным этиловым спиртом 15 секунд, затем промывались автоклавированной водой 2 раза по 2 минуты. Стерилизация проводилась в условиях ламинар-бокса.

Таким образом была достигнута 100% стерилизация черенков секвойдендрона.

Для выращивания черенков с целью ризогенеза в условиях *in vitro* была приготовлена искусственная питательная среда. За основу среды была использована питательная среда Мурасига Скуга (МС) (таблица № 1).

К данной питательной среде был добавлен глицин - 2 мг/л и ряд фитогормонов в разной концентрации, в частности: кинетин - 0,1 г/л, нафтилуксусная кислота (НУК) - 2 мг/л, поливинилпиридол (ПВП) - 1 г/л, реакция

питательной среды была (рН - 5,8) (таблица № 2).

Питательная среда разливалась в пробирке, после застывания среды на них высаживались стерилизованные черенки секвойдендрона гигантского. Пробирки помещались в светотрон с искусственным освещением.

Черенки, высаженные в искусственную питательную среду трижды пересаживались на новую питательную среду МС выше указанного состава. Первая пересадка проводилась через 2 недели, вторая - через 38 дней, третья - через 40 дней после второй пересадки.

Дважды проводилось черенкование микропобегов от первичного эксплантата. Вторичные микропобеги оказались способным и к корнеобразованию, как указано в таблице №3.

В результате через 100 дней после неоднократного пересаживания у черенков наблюдался ризогенез, т.е. образовались мощные корневые системы (фиг.).

Работа проводилась в лаборатории Института биотехнологии Таджикского аграрного университета имени Ш. Шохтемур и лаборатории молекулярной биологии Института ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ.

Использование изобретения позволяет повысить эффективность способа вегетативного размножения секвойдендрона гигантского в течении всего календарного года.

Полученные предлагаемым способом размножения укоренённые черенки секвойдендрона гигантского могут быть использованы во всех лесных питомниках для выращивания саженцев рекомендуемых для озеленения и декоративного оформления фасадов зданий, парков, садов и других зон отдыха.

Формула изобретения

Способ микроклонального размножения секвойдендрона гигантского (*Sequoiadendron giganteum*), заключающийся в том, что черенки растений секвойдендрона гигантского стерилизуют раствором 0,1% меркулхлорида в течение 15 мин. Промывают автоклавированной водой 3 раза по 5 минут, обрабатывают 70%-ным этиловым спиртом в течение 15 секунд. Промывают автоклавированной водой 2 раза по 2 мин. Готовят искусственную питательную среду на основе питательной среды Мурасига Скуга, к

которой добавляют глицин - 2 мг/л, и фитогормонов в концентрациях: кинетин - 0,1 г/л, нафтилуксусная кислота (НУК) - 2 мг/л, поливинилпиридол (ПВП) - 1 г/л питательную среду разливают в пробирки, после застывания среды высаживают стерилизованные черенки. Помещают в светотрон, трижды пересаживают в новую питательную среду Мурасига Скуга: первую пересадку проводят через 2 недели, 2-ю - через 38 дней, 3-ю - через 40 дней, дважды проводят черенкование микропобегов от первичного эксплантата.

**Способ микроклонального размножения секвойядендрона
гигантского
(*Sequoiadendron giganteum*)**

Таблица № 1

**Состав вновь разработанной питательной среды Мурасига-Скуга для
выращивания секвойядендрона гигантского.**

Наименование реактивов	Концентрация на 1л раствора	Состав маточного раствора	Концентрация г/л
Агар-агар	6 г	NH_4NO_2	16.5
Сахароза	20 г	KNO_3	19.0
Макросоли	100 мл	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.4
Макросоли-1	10 мл	KH_2PO_4	1.7
Микросоли-2	1 мл	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.7
Fe-хелат	5 мл		
Витамины:	10 мл		
Состав витаминов:	г/л воды	Микросоли 1:	
Тиамин	0.1	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.43
Пиридоксин	0.05	H_3BO_3	0.31
Никотин	0.1	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.115
Аскорбиновая кислота	0.1	Микросоли 2:	
		$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
		$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
		Na_2MoO_4	0.25
		KJ	0.83

**Способ микроклонального размножения секвойядендрона
гигантского
(*Sequoiadendron giganteum*)**

Таблица № 2

**Физиологически активные вещества добавленные к питательной
среде МС**

Наименование веществ	Концентрация мл/л раствора
Глицин (2,0 мг/л)	1,0
Кинетин (2 мг/л)	0,2
Нафтилуксусная кислота (НУК) (1 г/л)	0,5
Поливинилпиримидол (ПВП) (1 г/л)	1

Таблица №3

Повторность и последовательность пересадки черенков в питательной среде.

Дата посадки	Повторности	Повторности
31.05.12	12	12
14.06.12	I-ая пересадка, наблюдается верхушечный рост	
24.07.12	II-ая пересадка на р-р МС I вар., наблюдается верхушечный рост	
	10	8
4.09.12	III-я пересадка на р-р МС I вар., наблюдается верхушечный рост	
	9	4
	Черенкование микропобегов от первичного эксплантанта всего 18 (на МС I вар)	
18.09.12	9	4
	Вторичные микропобеги (18) верхушечный рост и начало ризогенеза	

Способ микроклонального размножения секвойядендрона гигантского (*Sequoiadendron giganteum*)



Компьютерный набор: Фатхуллаева М.С.

Заказ

Тираж

Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ
734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а.