



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **160822** (13) **U**
(51) МПК (2025.01)
A01G 29/00
A01G 24/12 (2018.01)
A01G 24/20 (2018.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2024 04797	(72) Винахідник(и): Грицак Людмила Русланівна (UA), Бойко Денис Анатолійович (UA), Дробик Надія Михайлівна (UA), Прокоп'як Мар'яна Зіновіївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.10.2024	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 16.10.2025	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 15.10.2025, Бюл.№ 42	(73) Володілець (володільці): ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА, вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027 (UA)

(54) СПОСІБ РЕГУЛЮВАННЯ РОСТУ МІКРОКЛОНАЛЬНО РОЗМНОЖЕНИХ РОСЛИН ТИРЛИЧУ ЖОВТОГО (*GENTIANA LUTEA* L.) НА ЕТАПІ ЕХ VITRO

(57) Реферат:

Спосіб регулювання ростових процесів мікроклонально розмножених рослин *Gentiana lutea* L. на етапі їх адаптації до умов ex vitro відрізняється тим, що корені рослин початково обробляють розчином суспензії мікроорганізмів *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 $1,5-2 \times 10^8$ КУО/г препарату і *Bacillus subtilis* IMB B-7023 $8,5-9 \times 10^8$ КУО/г препарату, рослини переносять в умови ex vitro на живильне середовище Мурасіге-Скуга зі зміненим макроелементним складом, відповідно до хімічного складу ґрунтів оселищ виду, мг/л:

(NH ₄) ₂ SO ₄	25,95-26,05
KNO ₃	1,05-1,15
KH ₂ PO ₄ ×2H ₂ O	3,55-3,65
K ₂ SO ₄	14,75-14,85
KCl	12,65-12,75
MgSO ₄ ×7H ₂ O	30,65-30,75
CaCl ₂ ×6H ₂ O	34,75-34,85
KI	0,405-0,425
H ₃ BO ₃	3,05-3,25
MnSO ₄ ×4H ₂ O	11,0-11,2
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	4,2-4,4
Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O	0,115-0,135
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0,0115-0,0135
CoSO ₄ ×6H ₂ O	0,0115-0,0135
Na ₂ EDTA×2H ₂ O	18,55-18,75
FeSO ₄ ×7H ₂ O	13,8-14,0,

і культивують упродовж 30 діб.

UA 160822 U

UA 160822 U

Корисна модель належить до галузі біотехнології, фізіології та екології рослин і може бути використана одночасно для покращення росту та зниження трансплантаційного шоку мікроклонально розмножених *in vitro* рослин тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) в умовах *ex vitro*.

Результати цих досліджень послужать основою для розроблення технології підвищення адаптивного потенціалу отриманих біотехнологічними методами рослин *G. lutea* 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 використання такого посадкового матеріалу у проектах із відновлення популяцій є обмеженим. Це зумовлено тим, що адаптація мікроклонально розмножених рослин до умов *ex vitro*, а відтак - до умов *in situ* є найскладнішими етапами, на яких летальність особин може досягати 75 % [Грицак, Дробик, 2019; Mathur et al., 2008]. Це спричинено не лише структурно-функціональними змінами рослин під впливом специфічних умов *in vitro*, але й трансплантаційним шоком, спричиненим невідповідністю елементного складу субстрату для росту рослин у нових умовах природним едафічним потребам видів.

Аналіз літературних джерел показав, що від мінерального живлення рослин залежить не лише приріст їх біомаси та накопичення сухої речовини, але й синтез вторинних метаболітів [Isah, 2019]. Тому, можна припустити, що відмінність елементного складу живильного середовища для культивування рослин *in vitro*, від мінерального живлення в умовах природи, позначиться на перебігу їхніх метаболічних процесів і на синтезі вторинних метаболітів. Доведено, що зміна концентрації вторинних метаболітів, у свою чергу, позначається на стресостійкості рослин до дефіциту вологи, надмірної інсоляції, перепадів температури тощо [Isah, 2019]. Тому, культивування та адаптація рослин *in vitro* *G. lutea* до умов *ex vitro* без врахування хімічного складу ґрунтів його оселищ та, відповідно, едафічних потреб цього виду є чинником, що сповільнює ріст особин та послаблює їх адаптивний потенціал до умов *ex vitro* та *in situ*. Відомо, що на стадії адаптації мікроклонованих рослин до умов *ex vitro* часто виникає проблема втрати великої кількості рослин, що пов'язано з їх інфікуванням патогенною мікрофлорою. З літератури відомо, що інокуляція ризосфери таких рослин потенційно корисними мікроорганізмами може позитивно вплинути на габітус адаптованих рослин і на їх приживлюваність [Титаренко та ін., 2023].

Відомий спосіб стимулювання росту, укорінення рослин *in vitro* *G. lutea* з подальшою їх адаптацією до умов *ex vitro* передбачав використання двоетапної технології [Майорова та ін., 2013]. Спочатку рослини культивували в умовах *in vitro* на живильному середовищі на основі Мурасіге-Скуга (МС), у складі якого було зменшено концентрацію NH_4NO_3 , замінено джерело карбону зі сахарози на низькомолекулярний маніт, а також використано як підтримуючий субстрат агар у поєднанні з перлітом. Тривалість періоду культивування за таких умов становила 30 діб. На другому етапі рослини переносили у водопровідну воду для стимулювання процесу ризогенезу. Цей етап тривав 90 діб [Майорова та ін., 2013].

Недоліками цього способу є: 1) значна тривалість (120 діб) процесу отримання посадкового матеріалу; 2) через погіршення якості води з центральних джерел водопостачання упродовж останніх 5-6 років за її використання життєвість рослин знижується; 3) сповільнений ризогенез - корені утворювалися у рослин на 30-60 доби культивування; частка укорінених рослин на 30 добу становила 34 %, на 60 добу - 38 %, а на 120 добу - 94 %. Тому ця технологія є трудомісткою і низько рентабельною для отримання посадкового матеріалу, адаптованого до умов *ex vitro*.

В основу пропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб регуляції ростових процесів культивованих *in vitro* рослин *G. lutea* на основі оптимізації макроелементного складу живильного середовища Мурасіге-Скуга відповідно до хімічного складу ґрунту з природних місць росту, який покращить ріст надземної частини та кореневої системи за перенесення рослин *in vitro* в умови *ex vitro*, дозволить розробити ефективнішу технологію їх адаптації до умов *ex vitro* і зменшить тривалість процесу отримання посадкового матеріалу.

Поставлена задача вирішується тим, що згідно зі способом регуляції ростових процесів мікроклонально розмножених рослин *Gentiana lutea* L. на етапі їх адаптації до умов *ex vitro*, згідно з корисною моделлю, корені рослин початково обробляють розчином суспензії мікроорганізмів *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 $1,5 \cdot 2 \cdot 10^8$ КУО/г препарат і *Bacillus subtilis* IMB B-7023 $8,5 \cdot 9 \cdot 10^8$ КУО/г препарату, рослини переносять в умови *ex vitro* на живильне

середовище Мурасіге-Скуга із зміненим макроелементним складом, відповідно до хімічного складу ґрунтів оселищ виду, мг/л:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	25,95-26,05
KNO_3	1,05-1,15
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	3,55-3,65
K_2SO_4	14,75-14,85
KCl	12,65-12,75
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	30,65-30,75
$\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	34,75-34,85
KI	0,405-0,425
H_3BO_3	3,05-3,25
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	11,0-11,2
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	4,2-4,4,

і культивують упродовж 30 діб.

- 5 Спосіб регуляції ростових процесів мікроклонально розмножених рослин тирличу жовтого в умовах *ex vitro* зміною макроелементного складу живильного середовища МС, причому, згідно із корисною моделлю його склад змінюють відповідно до вмісту елементів у ґрунті з природних місць росту, яке містить хімічні сполуки у такій кількості, мг/л:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	25,95-26,05
KNO_3	1,05-1,15
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	3,55-3,65
K_2SO_4	14,75-14,85
KCl	12,65-12,75
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	30,65-30,75
$\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	34,75-34,85
KI	0,405-0,425
H_3BO_3	3,05-3,25
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	11,0-11,2
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	4,2-4,4
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,115-0,135
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,0115-0,0135
$\text{CoSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,0115-0,0135
$\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$	18,55-18,75
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	13,8-14,0,

рН живильного середовища доводять до 4,9. Приготовлене живильне середовище розливають по 500 мл у прозорі пластикові контейнери з кришками об'ємом 1000 мл. У кожний із контейнерів кладуть пінополістиролові прокладки товщиною 10-15 мм з вирізаними отворами (діаметром 20 мм) для корінців, що дозволяє рослинам утримуватися "на плаву".

Спосіб здійснюється таким чином.

- 15 Укорінені *in vitro* рослини тирличу жовтого переносять у прозорі пластикові контейнери з підготовленим оптимізованим живильним середовищем. Для уникнення інфікування патогенною мікрофлорою рослини обробляють розчином суспензії мікроорганізмів *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 $1,5-2 \times 10^8$ КУО/г препарату [Курдиш, Бега, 2006] і *Bacillus subtilis* IMB B-7023 $8,5-9 \times 10^8$ КУО/г препарату [Курдиш, Рой, 2003], переносять в умови *ex vitro* на оптимізований живильний субстрат і культивують упродовж 30 діб за температури 18-19 °С 16-годинного світлового дня, інтенсивності світлового потоку в області фотосинтетично активної радіації (ФАР) 100 Вт/м², співвідношення ламп холодного білого світла (ЛХБ): фітоламп (ФЛ) = 0,7: 1 та співвідношення хвиль синього (Ес): зеленого (Ез): червоного (Еч) діапазонів, % = 25:27:48. Заміну живильного середовища проводять через кожні 5-7 діб.

- 25 Авторами експериментально встановлено оптимальне поєднання хімічних сполук та їхній вміст (мг/л), визначений на основі аналізу складу ґрунту з природних місць росту, а також доцільність застосування розчину суспензії мікроорганізмів *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 $1,5-2 \times 10^8$ КУО/г препарату [Курдиш, Бега, 2006] і *Bacillus subtilis* IMB B-7023 $8,5-9 \times 10^8$ КУО/г препарату [Курдиш, Рой, 2003] для уникнення інфікування патогенною мікрофлорою і покращення ростових процесів у мікроклонально розмножених рослин *G. lutea* в умовах *ex vitro*.

- 30 Оптимізація макроелементного складу живильного середовища МС дозволяє одночасно покращити приріст біомаси рослин, розвиток листової поверхні та стимулювати інтенсивніший ріст кореневої системи за короткий проміжок часу. Це зменшує трудомісткість процесу одержання високожиттєздатного посадкового матеріалу, а також його собівартість.

Використання іншого елементного складу живильного середовища не дозволить отримати позитивних результатів.

Приклад 1

Готували оптимізоване за макроелементним складом живильне середовище МС, рН якого доводили до 4,9. Розливали живильне середовище по 500 мл у прозорі пластикові контейнери. Укорінені в умовах *in vitro* 3-3,5 місячні мікроклонально розмножені рослини *G. lutea* обробляли розчином суспензії мікроорганізмів *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 $1,5 \cdot 2 \cdot 10^8$ КУО/г препарату [Курдиш, Бега, 2006] і *Bacillus subtilis* IMB B-7023 $8,5 \cdot 9 \cdot 10^8$ КУО/г препарату [Курдиш, Рой, 2003], переносили в умови *ex vitro* на цей живильний субстрат і культивували їх 30 діб за температури 18-19 °С за 16-годинного світлового періоду. Культивування проводили за таких світлових умов: джерело штучного освітлення - лампи ЛХБ і ФЛ; кількість ламп на площі 2,4 м² - 18 шт.; співвідношення ламп - 0,7:1; освітленість - 3000 лк; інтенсивність світлового потоку в області ФАР - 100 Вт/м²; спектральний склад - Ес:Ез:Еч, % = 25:27:48.

Культивовані на цьому оптимізованому середовищі рослини вже на 30 добу мали сформовану розетку листків і добре розвинену кореневу систему. Порівняно з особинами контрольного варіанту, де як субстрат використовували криничну воду, у рослин з оптимізованого середовища на 30 добу показники приросту загальної фітомаси були вищими на 17,6-20,6 %, краще розвивалися листкова поверхня та коренева система (табл. 1, 2). Порівняно з відомим способом [Майорова та ін., 2013], нові додаткові та бічні корені починали утворюватися вже на 4 добу культивування; ефективніше формувалася розетка листків, що супроводжувалося зменшенням приросту довжини міжвузлів на 23 %.

Отже, запропонований спосіб регуляції росту мікроклонально розмножених рослин *G. lutea* на етапі *ex vitro* шляхом оптимізації елементного складу живильного середовища, порівняно із відомим способом, дозволяє: 1) покращити динаміку приросту фітомаси рослин і розвиток листкової поверхні, що підвищує якість рослинного матеріалу; 2) стимулювати інтенсивне утворення бічних і додаткових коренів вже на 4 добу росту у 100 % рослин, що забезпечує краще засвоєння поживних речовин і вищу життєздатність особин; 3) високий вміст амонійної форми у складі живильного середовища зменшує ризик інфікування рослин в умовах *ex vitro*, *in situ* та підвищує їхню стійкість до заморозків за перенесення у природні місця росту виду, що полегшуватиме процес приживання рослин в умовах *in situ*; 4) у 4 рази скорочує час культивування рослин, що знижує матеріальні затрати та підвищує рентабельність робіт з отримання посадкового матеріалу. Оброблення мікроклонально розмножених рослин розчином бактеріальної суспензії, яка містить композицію штамів бактерій *Bacillus subtilis* та *Azotobacter vinelandii*, забезпечує: 1) високу щільність інокульованої мікрофлори на поверхні кореневої системи, що пригнічує розвиток широкого спектра фітопатогенних бактерій і грибів та стимулює фітоімунітет; 2) поліпшення азотного та фосфорного живлення рослин і приросту їх біомаси завдяки здатності *A. vinelandii* фіксувати молекулярний азот з повітря, переводити його в мінеральні форми та синтезувати біологічно активні речовини фітогормональної природи. Формування габітусу рослин, подібного до рослин з природи, потужніший розвиток листкової поверхні та кореневої системи вже на 30 добу культивування є ознакою вищої життєздатності отриманого посадкового матеріалу, порівняно з відомим способом [Майорова та ін., 2013], що позначається й на адаптивному потенціалі рослин не лише в умовах *ex vitro*, але й *in situ*.

Таблиця 1

Динаміка параметрів надземної частини рослин *Gentiana lutea* L. за культивування в умовах прикладу 1 і контролю* упродовж 30 діб (n=30, $\bar{x} \pm SD$)

Популяція	Дослідні варіанти	Доби культивування	Кількість новоутворених листків, шт.	Довжина листка, см	Ширина листка, см	Висота пагона, см
г. Шешул-Павлик (хр. Чорногора)	контроль	0	2,4±0,9	3,6±0,7	0,85±0,08	3,3±0,5
		30		3,8±0,27	0,93±0,08	3,9±0,56
	приріст, %			5,5	9,4	18,2
	приклад 1	0	3,1±1,05	3,6±0,9	0,9±0,11	3,1±0,77
		30		4,4±0,27	0,99±0,08	4,1±0,89
	приріст, %			22,2	10,0	32,3
	ефект стимулюючої, %		129,2	403,0	106,4	177,5

Таблиця 1 (продовження)

Популяція	Дослідні варіанти	Доби культивування	Кількість новоутворених листків, шт.	Довжина листка, см	Ширина листка, см	Висота пагона, см
г. Пожижевська (хр. Чорногора)	контроль	0	3,0±0,6	3,29±0,1	0,98±0,06	2,8±0,67
		30		3,31±0,2	0,96±0,09	3,0±0,81
	приріст, %			0,6	-8,5	7,1
	приклад 1	0	3,6±0,9	3,5±0,34	0,99±0,06	3,0±0,33
		30		3,7±0,42	1,05±0,06	3,6±0,58
	приріст, %			5,7	6,1	20,0
	ефект стимулюючої, %		120,0	950,0	610,0	281,7

Примітка. * - у контрольному варіанті як живильний субстрат використовували криничну воду.

Таблиця 2

Динаміка приросту фітомаси та параметрів кореневої системи рослин *Gentiana lutea* L. за культивування в умовах прикладу 1 і контролю* упродовж 30 діб (n=30, x±SD)

Популяція	Дослідні варіанти	Доби культивування	Загальна фітомаса, г	Довжина коренів, см	Кількість додаткових коренів, см
г. Шешул-Павлик (хр. Чорногора)	контроль	0	1,16±0,09	7,7±1,1	2,3±0,23
		30	1,57±0,19	8,1±1,3	8,4±2,69
	приріст, %		35,3	5,2	265,2
	приклад 1	0	1,21±0,20	7,8±1,6	2,2±0,42
		30	2,15±0,13	12,7±1,9	17,4±2,69
	приріст, %		77,7	62,8	690,9
	ефект стимулюючої, %		220,1	1207,8	260,5
г. Пожижевська (хр. Чорногора)	контроль	0	1,32±0,17	6,6±0,1	2,7±0,45
		30	1,74±0,31	9,0±1,56	9,1±2,57
	ефект стимулюючої, %		31,8	36,4	237,0
	приклад 1	0	1,38±0,22	6,4±0,96	2,6±0,51
		30	2,29±0,29	14,0±1,87	18,1±2,57
	приріст, %		65,9	118,7	596,1
	ефект стимулюючої, %		207,2	326,1	251,5

Примітка. * - у контрольному варіанті як живильний субстрат використовували криничну воду.

Джерела інформації:

- 5 Грицак Л.Р., Дробик Н. М. Розробка технології збереження високогірних видів роду *Gentiana* L. із використанням стратегії "Quasi" in situ та методів біотехнології. Екологічні науки. 2019. № 25. С. 169-176.
- 10 Курдиш І.К., Бега З.Т. Штам бактерій *Azotobacter vinelandii* для одержання бактеріального добрива для рослинництва: пат. 72856 Україна. № U200407524; заявл. 21.06.2004; опубл. 15.08.2006, Бюл. № 8.
3. Курдиш І.К., Рой А.О. Штам *Bacillus subtilis* IMB B-7023 для одержання бактеріального препарату для рослинництва: пат. 54923 Україна. № u200106593; заявл. 14.06.2001; опубл. 17.03.2003, Бюл. № 3.
- 15 4. Майорова О.Ю., Грицак Л.Р., Мельник В.М., Дробик Н.М., Кунах В.А. Спосіб укорінення in vitro та адаптації до умов ex vitro рослин тирличу жовтого *Gentiana lutea* L.: пат. № 85377 Україна. № u 2013 11328; заявл. 24.09.2013; опубл. 11.11.2013, Бюл. № 21.
5. Титаренко Н.В., Теслюк Н.І., Іваниця В.О. Вплив актинобактерій на адаптацію до умов ex vitro та ріст мікроклонованих рослин *Rubus fruticosus* L. Мікробіологія і біотехнологія. 2023. № 1. С. 18-41. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2023.1\(57\).276078](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2023.1(57).276078).

6. Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха. Київ: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.

7. Ярошко М. Перетворення азоту у ґрунті і його значення для росту рослин. Агроном. 2013. URL: <https://www.agronom.com.ua/peretvorennya-azotu-u-grunti-i-jogo-zna/> (дата звернення: 30.08.2024).

8. Isah T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. 2019. Vol. 52. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>.

9. Mathur A., Mathur A.K., Verma P., Yadav Sh., Gupta M.L., Darokar M.P. Biological hardening and genetic fidelity testing of micro-cloned progeny of *Chlorophytum borivillianum*. African Journal of Biotechnology. 2008. Vol. 7 (8). P. 1046-1053.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб регулювання ростових процесів мікроклонально розмножених рослин *Gentiana lutea* L. на етапі їх адаптації до умов *ex vitro*, який **відрізняється** тим, що корені рослин початково обробляють розчином суспензії мікроорганізмів *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 $1,5 \cdot 10^8$ КУО/г препарату і *Bacillus subtilis* IMB B-7023 $8,5 \cdot 10^8$ КУО/г препарату, рослини переносять в умови *ex vitro* на живильне середовище Мурасіге-Скуга зі зміненим макроелементним складом, відповідно до хімічного складу ґрунтів оселищ виду, мг/л:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	25,95-26,05
KNO_3	1,05-1,15
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	3,55-3,65
K_2SO_4	14,75-14,85
KCl	12,65-12,75
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	30,65-30,75
$\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	34,75-34,85
KI	0,405-0,425
H_3BO_3	3,05-3,25
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	11,0-11,2
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	4,2-4,4
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,115-0,135
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,0115-0,0135
$\text{CoSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,0115-0,0135
$\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$	18,55-18,75
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	13,8-14,0,

і культивують упродовж 30 діб.