



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **143090** (13) **U**

(51) МПК (2020.01)

A01H 4/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2020 00584</p> <p>(22) Дата подання заявки: 31.01.2020</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2020</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2020, Бюл.№ 13</p>	<p>(72) Винахідник(и): Карпук Леся Михайлівна (UA), Павліченко Андрій Андрійович (UA), Вишневська Леся Василівна (UA), Кононенко Лідія Михайлівна (UA), Войтовська Вікторія Іванівна (UA), Сторожик Лариса Іванівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, площа Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ РИЖІЮ ЯРОГО В УМОВАХ IN VITRO

(57) Реферат:

Спосіб отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах in vitro включає стерилізацію матеріалу, отримання життєздатних і стерильних проростків, використання живильних середовищ за прописом Мурасіге і Скуга для розмноження та укорінення, використання ауксинів і цитокинінів, умови культивування - температура 24±2 °С та довжина фотоперіоду 16 годин. В стерильну культуру вводять насіння рижію ярого, яке стерилізують 1,5 % гіпохлоритом натрію за експозиції 5-7 хвилин, для розмноження у середовище додають бензиламінопурин (БАП) - 0,8 мг/л і цукрозу - 30,0 г/л, для укорінення - нафтилоцтову кислоту (НОК) - 0,5 мг/л та індолілоцтову кислоту (ІОК) - 0,3 мг/л і 30 г/л цукрози, проводять пересаджування рослин у ґрунт на 14 добу.

UA 143090 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства і може бути використана в сільськогосподарській біотехнології, рослинництві, селекції, зокрема для розмноження і отримання розсади цінних селекційних матеріалів.

5 Значну частку серед поновлюваних моторних палив складає біодизель, який виробляється в основному з ріпакової олії. Інтерес до біопалива спонукав дослідників критично оцінити альтернативні джерела сировини для виробництва біодизелю. Один із способів подолати попит на олії є використання неїстівних олійних рослин. Серед таких культур особливий інтерес представляє рижій посівний *Camelina sativa*, який вирощують майже в усіх областях України. Останнім часом, саме рижій розглядають як об'єкт для виробництва біодизелю, оскільки він є перспективною та дешевою олійною культурою. До того ж властивості *C. Sativa* для виробництва біодизелю вже добре досліджено. Вміст олії в його насінні складає приблизно 38 – 43 %, а переважна частина вмісту жирних кислот (> 90 %) представлена ненасиченими жирними кислотами, включаючи значну кількість С 20 : 0 ейкозадієнової кислоти, котра порівняно рідко зустрічається в рослинній олії, а також ліноленову (36,2 - 39,4 %), олеїнову (12,8 - 14,7 %), лінолеву (16,3 - 17,2 %) та ейкозенову (14 - 15,5 %) кислоти. Традиційно покращення певних господарських характеристик олійних культур досягається шляхом селекції або ж з використанням біотехнологічних підходів.

20 Найближчим аналогом корисної моделі є клональне мікророзмноження рижію ярого (Любченко І.О., Любченко А.І. Модифікація живильних середовищ для мікроклонального розмноження рижію ярого Новітні агротехнології: теорія та практика: тези доповідей Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 95-річчю Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН (м. Київ, 11 липня 2017 р.) / Нац. акад. аграр. наук України, ІБК ІЦБ. Вінниця: Нілан - ЛТД, 2016. - С. 210 - 211). У відомому способі експлантами слугували апікальні меристеми проростків рижію ярого сорту "Степовий 1". Стерилізацією експлантів, при введенні в культуру, проводили 1,0 %-им розчином перманганату калію за експозиції 10 хв. Біоматеріал культивували за інтенсивності освітлення 4 кЛк, температурному режимі 24-25 °С та відносній вологості повітря 75 %. Використовували базове живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга. Модифікували його регуляторами росту ауксинової (ІОК) та цитокінінової (6-БАП) природи в різних концентраціях та співвідношеннях. Критеріями ефективності середовища були коефіцієнт розмноження, інтенсивність наростання біомаси та морфологічні характеристики клонів. Залежно від складу живильного середовища та вмісту в ньому регуляторів росту за один пасаж (25 - 30 діб) з одного експланту утворювався рослинний конгломерат масою 59 - 516 мг з трьох-дев'яти новоутворених пагонів висотою 2,5 - 9,3 см. Найвищий коефіцієнт розмноження відмічено на живильному середовищі Мурасіге - Скуга за модифікації ІОК та 6-БАП у концентраціях 1,0 мг/л.

35 Відомий і пропонувані способи розмноження рижію ярого мають спільні ознаки: стерилізація матеріалу, отримання життєздатних і стерильних проростків, живильні середовища для розмноження та укорінення, використання ауксинів і цитокінінів, умови культивування - температура 24 ± 2 °С та довжина фотоперіоду 16 годин.

40 Однак, відомий спосіб мікророзмноження рижію ярого не дає дозволяє отримати достатньої кількості стерильних і життєздатних проростків, високого коефіцієнта розмноження і ризогенезу та потребує довшого терміну культивування рослин до пересадки у ґрунт.

45 В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах *in vitro*, що дозволить вводити насіння рижію ярого і отримати високий відсоток не тільки стерильного, але і життєздатного матеріалу, модифікувати склад живильних середовищ для розмноження і укорінення, підбираючи оптимальні концентрації цитокінінів і ауксинів, збільшити коефіцієнт розмноження, пришвидшити пересаджування рослин у ґрунт.

50 Поставлена задача вирішується тим, що в способі отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах *in vitro*, що включає стерилізацію матеріалу, отримання життєздатних і стерильних проростків, використання живильних середовищ за прописом Мурасіге і Скуга для розмноження та укорінення, використання ауксинів і цитокінінів, умови культивування - температура 24 ± 2 °С та довжина фотоперіоду 16 годин, згідно з корисною моделлю, в стерильну культуру вводять насіння рижію ярого, яке стерилізують 1,5 % гіпохлоритом натрію за експозиції 5 - 7 хвилин, для розмноження у середовище додають бензиламінопурін (БАП) - 0,8 мг/л і цукрозу - 30,0 г/л, для укорінення - нафтилоцтову кислоту (НОК) - 0,5 мг/л та індолілоцтову кислоту (ІОК) - 0,3 мг/л і 30 г/л цукрози, проводять пересаджування рослин у ґрунт на 14 добу.

60 У відомому способі експлантами слугували апікальні меристеми проростків рижію ярого сорту "Степовий 1". Стерилізацією проводили 1,0 %-им розчином перманганату калію за експозиції 10 хв. Культивування відбувалось за інтенсивності освітлення 4 кЛк, температурному

- режимі 24-25 °С та відносній вологості повітря 75 %. Для розмноження і ризогенезу використовували базове живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга з модифікаціями ІОК та 6 - БАП у концентраціях 1,0 мг/л. Коефіцієнт розмноження 3-9 пагонів. Придатність рослин до пересаджування у ґрунт 21 доба. У запропонованому способі як експланти використовують насіння рижію ярого, яке промивають дистильованою водою і стерилізують 1,5 % гіпохлоритом натрію за експозиції 5 - 7 хвилин, що дозволяє отримати 91 % життєздатного і стерильного матеріалу. Для розмноження і укорінення використовують базове живильне середовище Мурасіге і Скуга з доданням БАП - 0,8 мг/л і цукрози - 30,0 г/л та НОК - 0,5 мг/л і ІОК - 0,3 мг/л. Розроблені модифікації забезпечують коефіцієнт розмноження 14 штук і відсоток укорінення - 87,0 %. Культивування проводять за температури 24 ± 2 °С та довжини фотоперіоду 16 годин. Рослини можливо пересаджувати у ґрунт на 14 добу.
- Новими відмінними від найближчого аналога ознаками є:
- введення в стерильну культуру насіння рижію ярого;
 - використання для стерилізації 1,5 % гіпохлориту натрію;
 - експозиція 5 - 7 хвилин;
 - додавання у середовище для розмноження БАП - 0,8 мг/л та цукрози 30,0 г/л;
 - використання цукрози;
 - для укорінення рослин використання НОК - 0,5 мг/л та ІОК - 0,3 мг/л;
 - пересаджування рослин у ґрунт на 14 добу.
- Відмінні від прототипу ознаки при взаємодії з відомими дозволяють вводити насіння рижію ярого, отримати високий вихід стерильних і життєздатних матеріалів, модифікувати склад живильного середовища з мінеральною основою Мурасіге і Скуга для розмноження і укорінення, підібрати оптимальні концентрації цитокінінів і ауксинів, збільшити коефіцієнт розмноження, пришвидшити пересаджування рослин у ґрунт.
- Ефективність нового способу отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах *in vitro* вивчали на таких матеріалах: Зевс, Міраж, Престиж, Славутич.
- Дослідження вказують, що використання як експлантів насіння рижію ярого і стерилізації 1,5 % гіпохлориту натрію за експозиції 5 - 7 хвилин, забезпечує стерильність матеріалу на 91 %. Доцільним виявилось зменшення концентрації при розмноженні БАП - 0,8 мг/л та ведення вуглеводів в якості цукрози - 30 г/л. Додавання для ризогенезу до живильного середовища НОК - 0,5 мг/л і ІОК - 0,3 мг/л забезпечує укорінення у 87,0 % рослин. Важливим слід відмітити, що цукрозу - 30,0 г/л потрібно вводити у середовище і для укорінення матеріалу. Придатність рослин до пересаджування у ґрунт можливо на 14 добу. Коефіцієнт розмноження за розроблюваного способу становить 14 штук.
- Спосіб отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах *in vitro* здійснюється таким чином: як експланти використовують насіння рижію ярого, яке промивають дистильованою водою і стерилізують 1,5 % гіпохлоритом натрію за експозиції 5 - 7 хвилин, що дозволяє отримати 91 % життєздатного і стерильного матеріалу. Для розмноження використовують базове живильне середовище Мурасіге і Скуга з доданням БАП - 0,8 мг/л і цукрози - 30,0 г/л і Ризогенез проводять із модифікаціями НОК - 0,5 мг/л і ІОК - 0,3 мг/л та цукрози - 30,0 г/л. Дані модифікації забезпечують коефіцієнт розмноження 14 штук і відсоток укорінення - 87,0 %. Культивування проводять за температури 24 ± 2 °С та довжини фотоперіоду 16 годин. Рослини можливо пересаджувати у ґрунт на 14 добу (табл. 1).

Таблиця 1

Показники ефективності використання запропонованого способу отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах in vitro

Показники	Відомий спосіб	Запропонований спосіб
Стерилізація	1,0 % розчин перман-ганату калію	1,5 % гіпохлорит натрію
Експозиція, хв.	10	5 - 7
Експлант	апикальні меристеми проростків	насіння
Стерильність експлантів, %	27	91
Мінеральна основа середовища для розмноження і укорінення	MS	MS
БАП мг/л	1,0	0,8
ІОК мг/л	1,0	0,3
НОК мг/л		0,5
Коефіцієнт розмноження, піт.	3 - 9	14
Укорінення, %	62	87,0
Цукроза, г/л	-	30,0
Довжина фотоперіоду, годин	16,0	16,0
Температура культивування, °С	24 ± 2	24 ± 2
Придатність рослин до пересаджування у ґрунт, доба	21	14

5 Технічний результат. Впровадження запропонованої корисної моделі дає можливість вводити насіння рижію ярого і отримати високий відсоток не тільки стерильного, але і життєздатного матеріалу, модифікувати склад живильних середовищ для розмноження і укорінення, підібрати оптимальні концентрації цитокінінів і ауксинів, збільшити коефіцієнт розмноження, пришвидшити пересаджування рослин у ґрунт.

10 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб отримання рослин-регенерантів рижію ярого в умовах in vitro, що включає стерилізацію матеріалу, отримання життєздатних і стерильних проростків, використання живильних середовищ за прописом Мурасіге і Скуга для розмноження та укорінення, використання ауксинів і цитокінінів, умови культивування - температура 24±2 °С та довжина фотоперіоду 16 годин, який **відрізняється** тим, що в стерильну культуру вводять насіння рижію ярого, яке стерилізують 1,5 % гіпохлоритом натрію за експозиції 5-7 хвилин, для розмноження у середовище додають бензиламінопурин (БАП) - 0,8 мг/л і цукрозу - 30,0 г/л, для укорінення - нафтилоцтову кислоту (НОК) - 0,5 мг/л та індолілоцтову кислоту (ІОК) - 0,3 мг/л і 30 г/л цукрози, проводять пересаджування рослин у ґрунт на 14 добу.

20

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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