

Корисна модель належить до галузі біотехнології рослин, зокрема стосується методів підготовки та адаптації рослин-регенерантів, отриманих у культурі *in vitro*, до нестерильних умов відкритого ґрунту (етап акліматизації). Корисна модель може бути використана в сільськогосподарській біотехнології для розмноження цінних сортів льону звичайного, довгунця (*Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum*).

З калюсу можна отримувати генетично змінені рослини-регенеранти, які можуть генотипово і фенотипово суттєво відрізнятись від своїх вихідних форм і стати цінним селекційним матеріалом. Завершальний етап біотехнологічного циклу переведення рослин-регенерантів із контрольованих стерильних умов *in vitro* до нестерильного середовища *ex vitro* (субстрату, теплиці або відкритого ґрунту) - є найбільш критичним моментом у системі клонального мікророзмноження та клітинної селекції. Складність цього переходу зумовлена глибокими анатомо-морфологічними та фізіологічними змінами, яких зазнають рослини під час тривалого культивування в умовах високої вологості, обмеженого газообміну та гетеротрофного живлення.

У рослин-регенерантів, сформованих *in vitro*, часто спостерігається недорозвиненість продигового апарату, тонка кутикула та слабка диференціація тканин листка, що при перенесенні у відкрите середовище призводить до інтенсивної транспірації та швидкого зневоднення. Більше того, перехід від гетеротрофного до автотрофного живлення вимагає миттєвої активації фотосинтетичного апарату та формування функціонально активної кореневої системи. Нездатність рослини швидко адаптуватися до цих стресових чинників часто стає причиною високої легальності цінних селекційних генотипів.

Особливого значення проблема адаптації набуває при роботі з *Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum*, який є луб'яною культурою і характеризується специфічною архітектонікою стебла та високою чутливістю до водного дефіциту. Існуючі протоколи адаптації для олійних форм льону часто демонструють низьку ефективність щодо льону-довгунця через його унікальні потреби в мінеральному живленні та специфічну реакцію на фітогормональну регуляцію.

Таким чином, існує об'єктивна потреба у розробці спеціалізованого способу адаптації регенерантів *Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum*, який би базувався на комплексному впливі антистресових компонентів та регуляторів росту, який би покращував цей процес.

Відомим є спосіб культивування *in vitro* тканин тютюну на живильному середовищі Мурасіге і Скуга, яке містить основні солі (5 макроелементів), мінорні солі (9 мікроелементів), хелат Феруму, вітаміни та органічні речовини (мезоінозит, нікотинову кислоту, піридоксин, тіамін, гліцин), сахарозу, агар, (Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol.15, Iss. 3. P. 473-497. DOI: 10.1111/j. 1399-3054.1962.tb08052.x).

Як найближчий аналог вибраний відомий спосіб і склад використаного для культивування живильного середовища є універсальними і можуть бути застосованими для культивування *Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum*, зокрема адаптації пагонів до умов *ex vitro*. Недоліками відомого способу є те, що за використання повнокомпонентного живильного середовища висока концентрація мінеральних солей на етапі вкорінення часто гальмує розвиток корневих волосків, створює надлишковий осмотичний тиск та формує стебло льону звичайного, як луб'яної культури, зі слабкою механічною функцією, у результаті загибель рослин після пересаджування в субстрат сягає 60-80 %. Живильне середовище потребує модифікації свого складу для покращення коренеутворення (ризогенезу) і підготовки даного біологічного виду та різновиду до умов *ex vitro*.

Відомий спосіб за сукупністю суттєвих ознак і результатом, що досягається, є найбільш близьким до корисної моделі.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити на новий спосіб, який був би більш, придатним для індукції ризогенезу *Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum* в умовах *in vitro*, для зміцнення механічної функції стебла і підвищення стійкості рослин до акліматизації у субстраті, який би покращував процес та результат культивування, підвищував частку виживання рослин за умов модифікації неорганічної складової живильного середовища, додавання фітогормонів екзогенного походження, антиоксидантів і метаболічних стимуляторів.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі адаптації льону звичайного (*Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum*) до умов *ex vitro*, який включає культивування асептичних рослин-регенерантів на агаризованому живильному середовищі з наступним перенесенням у субстрат, згідно з корисною моделлю, на етапі культивування використовують живильне середовище з половинною концентрацією мінеральних і органічних складових за прописом Мурасіге і Скуга, яке додатково містить, мг/л: 0,0125 - 24-епібрасинолід, 0,25 - індол-3-масляної кислоти, 6,1 - калію метасилікату ($K_2SiO_3 \cdot 5H_2O$), 7,5 - аскорбінової кислоти, та 2,5 - бурштинової кислоти.

Технічний результат досягається завдяки синергічній дії компонентів модифікованого середовища:

1) зменшення вдвічі концентрації солей середовища Мурасіге і Скуга стимулює пагін (експлант) до активного пошуку поживних речовин, що прискорює формуванню коренів;

2) 24-епібрасинолід у концентрації 0,0125 мг/л виступає як потужний імуномодулятор та

стимулятор поділу клітин, який навіть у наднизьких концентраціях активує експресію генів, відповідальних за перехід клітин з фази спокою у фазу поділу, посилюючи дію інших фітогормонів, активує адаптивний потенціал, сприяє потовщенню клітинних стінок та накопиченню захисних білків;

3) індол-3-масляна кислота у концентрації 0,25 мг/л безпосередньо індукує ризогенез у льону звичайного;

4) калію метасилікат ($K_2SiO_3 \cdot 5H_2O$) у концентрації 6,1 мг/л у достатній мірі забезпечує формування товстих вторинних оболонок клітин елементарних луб'яних волокон, що посилює механічну функцію стебла, зменшує випаровування води та підвищує стійкість до грибних інфекцій, а також виявляє антиоксидантні властивості;

5) аскорбінова кислота (7,5 мг/л) та бурштинова кислота (2,5 мг/л): стабілізують дихальний цикл клітини та захищають фотосинтетичний апарат від світлового стресу при переході до умов *ex vitro*.

Відмінні від найближчого аналога нові суттєві ознаки при взаємодії з відомими дозволяють отримувати новий результат.

Приклад конкретного виконання:

Етап 1 - підготовка експлантів та живильного середовища. Пагони льону звичайного (висотою 3-5 см), що регенерували з калюсів, в асептичних умовах переносять на стерильне агаризоване живильне середовище, що містить 1/2 концентрації мінеральних і органічних складових за прописом Мурасіге і Скуга, до складу якого додатково вводять 0,0125 мг/л 24-епібрасинолід, 0,25 мг/л індол-3-масляної кислоти, 6,1 мг/л калій метасилікату ($K_2SiO_3 \cdot 5H_2O$), 7,5 мг/л аскорбінової кислоти і 2,5 мг/л бурштинової кислоти. Вуглеводний склад живильного середовища представлений сахарозою з концентрацією 15 г/л.

Етап 2 - культивування рослин-регенерантів. Пагони культивують в пробірках довжиною 20 мм і діаметром 2 мм близько 21 доби (до формування добре розвинених коренів) за фотоперіоду 16 год., інтенсивності освітлення 2500 лк, відносної вологості повітря 60-80 %, температури 24-26 °С.

Етап 3 - перенесення *ex vitro*. Рослини обережно виймають з пробірок за допомогою пінцета, видаляють залишки агаризованого живильного середовища шляхом промивання коренів у дистильованій воді та висаджують в суміш торфу та перліту (1:1).

За використання запропонованого складу частота ризогенезу склала 99,4 %, що на 64,4 % вище, порівняно з прототипом. На 21-у добу культивування висота пагонів становила 10,2 мм, що на 4,0 мм вище, порівняно з контрольним варіантом (без фітогормонів). Частка рослин, адаптованих *in vivo*, склала 64,0 %, що на 42,6 % вище за прототип. Стебла льону звичайного характеризувалися жорсткістю і були стійкими до вилягання (табл.).

Таблица

Вплив фітогормонального складника живильного середовища на адаптацію *Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum* до умов *ex vitro*

Фітогормональний складник	Частота ризогенезу, шт.	Висота пагонів, мм	Частка рослин, адаптованих <i>in vivo</i> , %
	$\bar{x} + S_{\bar{x}}$	$\bar{x} + S_{\bar{x}}$	$\bar{x} + S_{\bar{x}}$
Середовище без гормонів	35,0±0,88	6,2±0,50	21,4±0,99
0 мг/л 24-EBL, 0,25 м/л IBA	79,1±1,02	7,1±0,35	48,0±0,96
0,0125 мг/л 24-EBL, 0,25 м/л IBA	99,4±0,90	10,2±1,22	64,0±1,24
0,025 мг/л 24-EBL, 0,25 м/л IBA	98,3±0,87	8,5±0,43	60,5±1,20
0,05 мг/л 24-EBL, 0,25 м/л IBA	96,6±0,98	6,4±0,43	50,0±1,10

Примітка. 24-EBL-24-епібрасинолід, IBA - індол-3-масляна кислота.

Корисна модель підвищує ефективність адаптацію *Linum usitatissimum* L. *convar. elongatum* до умов *ex vitro*.