

Descriere:

Invenția se referă la agricultura și poate fi utilizată în biotehnologie pentru obținerea semințelor artificiale din celulele calusului de *Panax ginseng* (C.A. Meyer).

Este cunoscut procedeul de obținere a embrioizilor somatici viabili de *ginseng* din protoplaști. Dezavantajul acestui procedeu constă în posibilitatea limitată a celulelor, cultivate *in vitro*, de a da embrioizi viabili (până la doi ani de cultivare) și în dificultățile metodice, ce țin de obținerea protoplaștilor [1].

Se mai cunoaște procedeul de obținere a embrioizilor somatici din celulele calusului diferitelor specii de *Panax*, care include obținerea celulelor calusului și menținerea lor pe mediu Murashige-Skoog în decurs de 12-18 luni la întuneric, transplantarea lor la fiecare 6-7 săptămâni pe mediu Murashige-Skoog, ce conține suplimentar zaharoză (3%), mezoinozită (80 mg/l), calciu pantotenat (5 mg/l), tiamină (0,4 mg/l), acid sorbic (10 mg/l), acid α -naftilacetic (2 mg/l) și chinetină (0,5 mg/l), izolarea structurilor embrionare formate din țesutul calusului și transferarea lor pe mediu simplu zaharozo-mineral Murashige-Skoog cu expunere la lumină la temperatura camerei de 26°C ó2ú.

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că perioada de manifestare a capacității calusului de a forma embrioizi somatici (un an și jumătate) este scurtă și generarea plantelor întregi din embrioizii obținuți este imposibilă. Cu toate că a fost testată influența mai multor factori fizici și chimici, embrioizii piereau peste 14 luni după apariție; toate tentativele de a regenera plante întregi din mugurii de reînnoire și din embrioizii somatici activați au eșuat. Dezavantajele menționate pot fi înlăturate cu ajutorul procedurii propus.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în obținerea embrioizilor somatici din celulele calusului de *Panax ginseng* (C.A. Meyer), cultivate *in vitro* un timp nelimitat, și obținerea din ei a unor plante viabile.

Esența invenției constă în aceea că se propune un procedeu de obținere a embrioizilor somatici, care include obținerea calusului din explantele rădăcinilor de *Panax ginseng* (C.A. Meyer) și menținerea viabilității lui pe mediul Murashige-Skoog cu adaos de substanțe biologic active prin transplantare peste fiecare 4-5 săptămâni de cultivare pe mediu proaspăt, transferarea calusului pe mediu, care conține suplimentar în calitate de factor stimulator al embriogenezei epibrasinolidă în concentrație de 10^{-6} - 10^{-5} %, cultivarea calusului timp de 40-60 de zile cu o fotoperioadă de 16 ore lumină și 8 ore întuneric, transferarea lui pe mediul Murashige-Skoog, ce conține 1/2 și 1/3 doze de macro- și microelemente corespunzător, fără substanțe biologic active, pe care după 75-90 de zile de cultivare apar embrioizi somatici.

Rezultatul tehnic al invenției constă în menținerea nelimitată a capacității calusului de *Panax ginseng* de a forma embrioizi somatici capabili de a genera plante viabile.

Avantajele:

posibilitatea de a obține embrioizi somatici din celulele calusului de *Panax ginseng*, menținute *in vitro* un timp nelimitat (cel puțin 15 ani);

posibilitatea de a lărgi spectrul schimbărilor genetice datorită variabilității somaclonale a celulelor, menținute *in vitro* un timp îndelungat;

simplicitatea și prețul de cost relativ redus al procedurii propus de obținere a embrioizilor somatici;

posibilitatea de a obține din embrioizii somatici plante viabile.

Exemplu de realizare a invenției

Calusul de *Panax ginseng* (C.A. Meyer) a fost obținut din explantul rădăcinilor de proveniență coreeană în anul 1971.

Cultivarea și menținerea calusului se efectua pe mediul Murashige-Skoog în întuneric, la temperatura de 24-26°C. Peste fiecare 4-5 săptămâni calusul era transplantat pe mediu de nutriție proaspăt. La mediul Murashige-Skoog se adăuga (în mg/l) mezoinozită - 100; tiamină-HCl - 0,1; acid nicotinic - 0,5; piridoxină-HCl - 0,5; glicină - 20; zaharoză - 30000 și agar - 8000. În calitate de regulatori ai creșterii la mediul nutritiv se adăuga 1,0 mg/l de acid α -naftilacetic și 0,5 mg/l de chinetină. Înainte de autoclavare pH-ul mediului se reglează până la 5,8. În aceste condiții viabilitatea calusului se menține până în prezent.

Pentru inducerea embriogenezei somatice a fost utilizată epibrasinolida, fitohormon natural, reprezentant al clasei brasinosteroidilor, care se adăuga la mediul de cultivare în condiții sterile îndată după autoclavare. Peste 40-60 de zile de cultivare la lumină cu fotoperioada de 16 ore lumină și 8 ore întuneric calusul era transplantat pe mediu proaspăt Murashige-Skoog, fără vitamine și hormoni, cu doza de 1/2 de macroelemente și 1/3 de microelemente, pe care peste 70-90 de zile apar embrioizi somatici. Ei au apărut pe calusul care a fost în prealabil cultivat pe mediu, conținând 10^{-6} - 10^{-5} % de epibrasinolidă. Calusul care a fost cultivat pe mediul lipsit de epibrasinolidă nu forma embrioizi somatici. Pentru inducerea embrioizilor somatici a fost absolut necesară lumina. La întuneric embrioizii somatici nu se formau. Transplantarea embrioizilor separați pe mediu proaspăt Murashige-Skoog fără vitamine și regulatori de creștere și cu doze de 1/2 de macroelemente și 1/3 de microelemente asigura obținerea plantulelor, care supraviețuiau după transplantarea în sol.