



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **131033** (13) **U**
(51) МПК (2018.01)
A01H 15/00
C12N 1/14 (2006.01)
A01G 18/20 (2018.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2018 05634</p> <p>(22) Дата подання заявки: 21.05.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.01.2019</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.01.2019, Бюл.№ 1</p>	<p>(72) Винахідник(и): Скорейко Алла Миколаївна (UA), Андрійчук Тетяна Олександрівна (UA), Гунчак Володимир Михайлович (UA), Соломійчук Михайло Петрович (UA), Кирик Микола Миколайович (UA), Ванзар Оксана Миколаївна (UA), Гунчак Михайло Володимирович (UA), Немченко Олександр Миколайович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): УКРАЇНСЬКА НАУКОВО-ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ КАРАНТИНУ РОСЛИН ІЗР НААН, с. Бояни, Новоселицький р-н, Чернівецька обл., 60321 (UA)</p>
---	--

(54) СПОСІБ ЗБЕРІГАННЯ КУЛЬТУР ФІТОПАТОГЕННИХ ГРИБІВ - VENTURIA INAEQUALIS (COOCE) WINT., MARSSONINA JUGLANDIS P.

(57) Реферат:

Спосіб зберігання культур фітопатогенних грибів *Venturia inaequalis* (Cooce) Wint, *Marssonina juglandis* P. включає зберігання грибів у гідрогелі. Як гідрогель використовується речовина, яка представляє собою зшитий полімер калієвої та амонійної солей акрилової кислоти (розмір часток гідрогелю - більше 2,5 мм; рН=6), що дозволяє зберігати в ній культури упродовж тривалого часу *Venturia inaequalis* (Cooce) Wint - 36 місяців, *Marssonina juglandis* P. - 24 місяці, без пересіву та втрати патогенності.

UA 131033 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема до способів зберігання культур фітопатогенних грибів. Мікроскопічні гриби слід підтримувати в чистій культурі і життєздатному стані під час проведення досліджень.

До основних способів зберігання культур фітопатогенних грибів, які використовуються в сучасній фітопатології належать: зберігання культур за періодичних пересівів; зберігання культур під шаром мінерального масла.

Способи, що вирішуються в прототипах, полягають у перенесенні культури через певні проміжки часу в пробірки зі скошеним свіжим агаровим середовищем з наступним покриттям її маслом, яке перешкоджає доступу атмосферного кисню та сприяє кращому антиоксидантному захисту.

Способи-прототипи мають такі недоліки:

1. Культури грибів за частих пересівів втрачають свою патогенність;
2. Короткий термін зберігання культури;
3. Ризик забруднення та втрата культури;
4. Трудомісткість та затрата на реактиви;
5. Недосконала розробка протоколів закладання грибів на зберігання.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб зберігання культури фітопатогенних грибів.

Поставлена задача вирішується тим, що у запропонованому способі пропонується використання гідрогелю, який дозволяє зберігати культури фітопатогенних грибів (*Venturia inaequalis* (Coose) Wint, *Marssonina juglandis* P.) упродовж більш тривалого часу - термін зберігання в гідрогелі складає 24 місяці для *Marssonina juglandis* P. та 36 місяців для *Venturia inaequalis* (Coose) Wint. без пересіву та втрати патогенності.

Приклади здійснення способів

Приклад 1 (аналог).

Метод зберігання культур за періодичних пересівів.

Чисту культуру отримуємо шляхом перенесення окремої колонії на свіже живильне середовище. Штрихи на поверхню живильного середовища наносимо по діаметру чашки Петрі або пробірки зигзагоподібною лінією, або двома-трьома короткими паралельними штрихами [1].

Для зменшення висихання культур використовуємо пробірки з кришками, що закручуються, резинові пробки або звичайні ватно-марлеві пробки [3-5]. Частоту пересівів для кожного виду грибів визначають експериментальним шляхом, що для різних культур складає від одного до трьох тижнів (додаток 1, табл.1). Після кожного пересіву культуру перевіряють на чистоту і періодично проводять перевірку для виявлення будь-яких змін у фенотипічних властивостях грибів [6, 8].

Приклад 2 (прототип).

Зберігання під мінеральним маслом.

Відомий спосіб тривалого зберігання штамів мікроорганізмів на твердих живильних середовищах під шаром мінерального масла. В основі вказаного способу лежить обмеження доступу атмосферного кисню до мікроорганізмів, що знижує рівень обміну речовин і дозволяє зберігати багато штамів без пересіву впродовж тривалого часу [1, 2]. Культури фітопатогенних грибів вирощують на оптимальному живильному середовищі і заливають стерильним вазеліновим маслом. Шар масла, товщиною 0,5-1,0 см, сповільнює швидкість процесів обміну грибів і оберігає поверхню середовища від висихання. Покриті маслом культури зберігають в холодильнику впродовж шести-восьми місяців (додаток 1, табл.).

Приклад 3 (спосіб, що заявляється).

Тривале зберігання фітопатогенних грибів проводиться у гідрогелі, що представляє собою зшитий полімер калієвої та амонійної солей акрилової кислоти (розмір часток гідрогелю - більше 2,5 мм; рН=6) [9, 10].

Гідрогелеві культури для зберігання фітопатогенних грибів (*Venturia inaequalis* (Coose) Wint., *Marssonina juglandis* P.) готують наступним чином. Культури грибів вирощують на рідкому живильному середовищі Чапека за температури 20-25 °С упродовж двох тижнів. [1, 7]. Гідрогелевий матеріал поміщають у колби з культурою грибів до набухання (термін експозиції складає одну годину) за температури 18-20 °С. Після цього гідрогелеві кульки поміщають у стерильні чашки Петрі. Останні поміщують в ексикатор, що містить п'ятиокис фосфору і вакуумують до висихання. Висохлий матеріал гідрогелю переносять у стерильні пробірки з кришками, що закручуються і зберігають у холодильнику за температури 5-8 °С.

Термін зберігання в гідрогелі складає 24 місяці для *Marssonina juglandis* P. та 36 місяців для *Venturia inaequalis* (Coose) Wint. (додаток 1, табл.1). По мірі необхідності мікроорганізми, що

зберігалися реактивують і далі інокують ними пробірки, що містять відповідні живильні середовища.

Джерела інформації:

1. Кирай З и др. Методы фитопатологии / З. Кирай и др. - М.: Колос, 1974. - С. 178-182.
2. Промышленная микробиология. /Под ред. Н.С. Егорова. - М., 1989. - С. 149-167.
3. Герна Р. Хранение микроорганизмов //Методы общей бактериологии: пер. с англ. /Р. Герна: под ред. Ф. Герхардта [и др.]: М.: Мир, 1983. - С. 512-534.
4. Сидякина Т.М. Консервация микроорганизмов /Т.М. Сидякина. - Пущино: ОНТИ НЦБИ, 1985. - 63 с.
5. Фатеева М.В. Методы хранения коллекционных культур дрожжей /М.Ф. Фатеева //Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов. - М.: Наука, 1967. - С. 55-90.
6. Троицкая Е.Н. Сравнение методов культуры штаммов *Vac. Thurienginsis var. galleriae* I Е.Н. Троицкая // Прикладная биохимия и микробиология. - 1979. - Т. 15. - № 3. - С. 402-408.
7. Федорова Р.Н. Парша яблони. - Л.: Колос, 1977. - 64 с.
8. Heckly R.J. Reservation of microorganisms /R.J. Heckly //Adv. appl. microbial. Head, press. Inc. - 1978. - Vol. 24. - P. 1-53.
9. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://www.tdsinger.ru/harakteristiki/>
10. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://edgel.ru/article/1000014/>

Таблиця

Терміни зберігання фітопатогенних грибів

Збудники грибних хвороб	Аналог (періодичні пересіви)	Прототип (зберігання під мінеральним маслом)	Спосіб, що заявляється
<i>Venturia inaequalis</i> (Coose) Wint.	7-21 днів	8 місяців	36 місяців
<i>Marssonina juglandis</i> P.	7-21 днів	6 місяців	24 місяці

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб зберігання культур фітопатогенних грибів *Venturia inaequalis* (Coose) Wint, *Marssonina juglandis* P., що включає зберігання грибів у гідрогелі, який **відрізняється** тим, що як гідрогель використовується речовина, яка представляє собою зшитий полімер калієвої та амонійної солей акрилової кислоти (розмір часток гідрогелю - більше 2,5 мм; рН=6), що дозволяє зберігати в ній культури *Venturia inaequalis* (Coose) Wint, *Marssonina juglandis* P. упродовж тривалого часу, який для *Marssonina juglandis* P. становить 24 місяці та для *Venturia inaequalis* (Coose) Wint. - 36 місяців без пересіву та втрати патогенності.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601