



MD 2012 F1 2002.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 2012<sup>(13)</sup> F1  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup>: G 01 N 33/48;  
A 01 G 7/00

(12) BREVET DE INVENȚIE

| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi<br>revocată în termen de 6 luni de la data publicării                                                                                                                                        |                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Nr. depozit: a 2001 0033<br>(22) Data depozit: 2001.02.06                                                                                                                                                                                       | (45) Data publicării hotărârii de<br>acordare a brevetului:<br>2002.09.30, BOPI nr. 09/2002 |
| (71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA,<br>MD<br>(72) Inventatori: LUPAȘCU Galina, MD; SOCHIRCĂ Angela, MD<br>(73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA,<br>MD |                                                                                             |

(54) Metodă de apreciere a rezistenței soiurilor de mazăre la fuzarioza  
radiculară

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la agricultură, și anume la  
citogenetica plantelor și poate fi utilizată la  
aprecierea rezistenței soiurilor de mazăre la  
fuzarioza radiculară.

Esența invenției constă în faptul că aprecierea  
rezistenței soiurilor de mazăre la fuzarioza radi-  
culară se efectuează prin testarea după modificarea  
frecvenței aberațiilor cromozomice în celulele  
meiotice ale mugurilor floralii de mazăre. Se  
consideră rezistente la fuzarioza radiculară soiurile

2  
5 de mazăre la care procentul frecvenței aberațiilor  
cromozomice în celulele infectate este de 2,0...2,3  
ori mai mare decât în cele neinfectate.

10 Rezultatul invenției constă în sporirea veridi-  
cității aprecierii rezistenței soiurilor de mazăre la  
fuzarioza radiculară.

Revendicări: 1

Cea mai apropiată soluție de invenția propusă apreciază gradul de rezistență prin testarea lăbilității unor parametri citogenetici în celulele meristematice în prezența fitotoxinelor. În acest scop, s-au stabilit activitatea mitotică și indicele fazic în rădăcinile soiului de mazăre cu sensibilitate medie Verde 1, la acțiunea FC de *F. oxysporum*. După cum reiese din tab. 1, FC nu a reprimat activitatea mitotică, precum era de așteptat, ci, dimpotrivă, a stimulat-o cu circa 11% (probabil datorită unei cantități considerabile de substanțe biologice active din FC), deși majoritatea celulelor în acest caz nu erau la cele mai active etape

## MD 2012 F1 2002.09.30

4

mitotice - metafază (M), anafază (A) sau telofază (T), ci abia la începutul mitozei - în profază (P). Totodată, s-a constatat că nivelul mutațional în varianta martor și cea cu FC a fost la același nivel (tab. 2). Cu alte cuvinte, aprecierea rezistenței soiurilor de mazăre la fuzarioza radiculară prin determinarea activității mitotice și nivelului mutațional în celulele meristematice ale rădăcinilor nu asigură rezultate sigure și univoce.

5

Tabelul 1

Activitatea mitotică și indicele fazic în rădăcinile soiului de mazăre Verde 1 la acțiunea FC de *F. oxysporum*

| Varianta | Numărul total de celule studiate | Numărul de celule în mitoză | Activitatea mitotică, | Frecvența (%) în: |      |      |     |
|----------|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------|------|------|-----|
|          |                                  |                             |                       | P                 | M    | A    | T   |
| Martor   | 11825                            | 1665                        | 14,7±0,3              | 50,8              | 26,0 | 14,5 | 8,7 |
| FC       | 13181                            | 3373                        | 25,6±0,4*             | 62,2              | 18,7 | 9,3  | 5,8 |

\* - deosebire distinctă de martor la nivelul de 5%;

P – profază, M – metafază, A – anafază, T – telofază

Tabelul 2

Nivelul mutațional și spectrul aberațiilor cromozomice în rădăcinile soiului de mazăre Verde 1 induse de FC de *F. oxysporum*

10

| Varianta | Numărul de celule studiate în anafază-telofază | Numărul de celule cu aberații | Nivelul mutațional, % | Tipurile de aberații, % |                   |             |
|----------|------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------|-------------|
|          |                                                |                               |                       | Cromozomi dispersați    | Punți cromatidice | Alte tipuri |
| Martor   | 203                                            | 14                            | 6,9±1,8               | -                       | 92,9              | 7,1         |
| FC       | 436                                            | 30                            | 6,9±1,2               | 6,7                     | 93,3              | -           |

Tabelul 3

Nivelul aberațiilor cromozomice în celulele meiotice de mazăre la acțiunea ciupercii *F. oxysporum* în diferite condiții de mediu

| Soiul                | Varianta | Numărul de celule studiate | Numărul de celule normale | Numărul de celule cu aberații | Frecvența aberațiilor, % | De câte ori în raport cu martorul |
|----------------------|----------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| a. 1995              |          |                            |                           |                               |                          |                                   |
| Smaragd (S)          | Martor   | 2605                       | 2256                      | 73                            | 2,8                      |                                   |
|                      | Infecție | 2055                       | 1386                      | 669                           | 32,6                     | 11,6                              |
| Iujno-Ucrainschi (R) | Martor   | 2816                       | 2753                      | 63                            | 2,2                      |                                   |
|                      | Infecție | 1723                       | 1635                      | 88                            | 5,1                      | 2,3                               |
| a. 1997 – termenul 1 |          |                            |                           |                               |                          |                                   |
| Smaragd              | Martor   | 1781                       | 1768                      | 13                            | 0,7                      |                                   |
|                      | Infecție | 544                        | 521                       | 23                            | 4,2                      | 5,8                               |
| Iujno-Ucrainschi     | Martor   | 863                        | 832                       | 31                            | 3,7                      |                                   |
|                      | Infecție | 601                        | 552                       | 49                            | 8,2                      | 2,2                               |
| a. 1997 – termenul 2 |          |                            |                           |                               |                          |                                   |
| Smaragd              | Martor   | 742                        | 717                       | 25                            | 3,5                      |                                   |
|                      | Infecție | 836                        | 727                       | 109                           | 15,0                     | 4,3                               |
| Iujno-Ucrainschi     | Martor   | 816                        | 774                       | 42                            | 5,2                      |                                   |
|                      | Infecție | 1235                       | 1106                      | 129                           | 10,5                     | 2,0                               |

S - sensibil; R - rezistent

15

Tabelul 4

Spectrul aberațiilor cromozomice în celulele meiotice de mazăre la acțiunea ciupercii *F. oxysporum* în diferite condiții de mediu

| Soiul | Varianta | Numărul total de | Fragmente solitare, % | Fragmente duble, % | Cromozomi dispersați, | Cromozomi retardați, % | Punți cromatidice, | Alte tipuri de aberații, |
|-------|----------|------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
|-------|----------|------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|

## MD 2012 F1 2002.09.30

5

|                      |   | aberații |      |     | %    |      | %    | %    |
|----------------------|---|----------|------|-----|------|------|------|------|
| a. 1995              |   |          |      |     |      |      |      |      |
| Smaragd              | M | 73       | 30,1 | 2,7 | 49,3 | 0,0  | 15,1 | 2,7  |
|                      | I | 669      | 49,6 | 3,0 | 8,5  | 0,3  | 38,0 | 0,6  |
| Iujno-Ucrainschi     | M | 63       | 26,1 | 0,0 | 13,0 | 17,4 | 43,5 | 0,0  |
|                      | I | 88       | 27,3 | 2,3 | 27,3 | 9,1  | 34,1 | 0,0  |
| a. 1997 – termenul 1 |   |          |      |     |      |      |      |      |
| Smaragd              | M | 13       | -    | -   | 30,8 | 23,1 | 46,1 | -    |
|                      | I | 23       | 4,3  | -   | 34,8 | 34,8 | 13,0 | 13,0 |
| Iujno-Ucrainschi     | M | 31       | 6,4  | -   | 12,9 | 54,8 | 25,8 | -    |
|                      | I | 49       | 4,1  | -   | 16,3 | 28,6 | 51,0 | -    |
| a. 1997 – termenul 2 |   |          |      |     |      |      |      |      |
| Smaragd              | M | 25       | 16,0 | -   | -    | 28,0 | 56,0 | -    |
|                      | I | 109      | 24,8 | 2,7 | 17,4 | 37,6 | 13,8 | 3,7  |
| Iujno-Ucrainschi     | M | 42       | -    | -   | 21,4 | 38,1 | 40,5 | -    |
|                      | I | 129      | 2,3  | -   | 13,9 | 26,4 | 57,4 | -    |

M – martor; I - infecție

- Deoarece frecvența aberațiilor cromozomice în meioză este un indiciu sensibil la acțiunea factorilor stresogeni de mediu, s-a procedat la cercetarea acestora în celulele meiotice la soiuri cu rezistență diferită la fuzarioza radiculară pe fond de infecție cu inoculul *F. oxysporum*: Smaragd (sensibil) și Iujno-Ucrainschi (rezistent). Pentru cercetarea meiozei au fost utilizați muguri floriali tineri de mazăre, fixați după Carnua, iar preparatele s-au colorat cu acetocarmin. Froiturile au fost cercetate la microscopul МВН-1, la mărirea 10×40. După cum rezultă din datele prezentate în tab. 3 la acțiunea infecției de *F. oxysporum* în diferite condiții de mediu (care influențează în mare măsură activitatea ciupercii) la soiul sensibil Smaragd incidența aberațiilor cromozomice a crescut de 11,6, 5,8 și 4,3 ori, iar la soiul rezistent Iujno-Ucrainschi – de 2,3, 2,2 și 2,0 ori în comparație cu martorul, corespunzător, în anii 1995 și 1997 (termenele 1 și 2 de semănare). Cu alte cuvinte, la soiul rezistent stabilitatea aparatului cromozomice, manifestată prin frecvența aberațiilor cromozomice, este mult mai pronunțată decât la soiul sensibil. Totodată, se remarcă că cele mai labile aberații cromozomice la acțiunea ciupercii *F. oxysporum* sunt aberațiile de tip cromozomi dispersați, cromozomi retardați și punți cromatidice (tab. 4).
- Datele obținute ne permit să tragem concluzia că frecvența scăzută a aberațiilor cromozomice în celulele meiotice de mazăre la acțiunea ciupercii *F. oxysporum* (de 2,0...2,3 ori mai sporită în raport cu martorul) poate servi în calitate de parametru test al rezistenței acestei culturi la fuzarioza radiculară.

## MD 2012 F1 2002.09.30

6

### (57) Revendicare:

- Metodă de apreciere a rezistenței soiurilor de mazăre la fuzarioza radiculară ce include testarea după modificarea parametrilor citogenetici sub acțiunea fitotoxinei, **caracterizată prin aceea că** în calitate de fitotoxină se utilizează *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Snyd. Et Hans., iar testarea se efectuează după modificarea frecvenței aberațiilor cromozomice în celulele meiotice ale mugurilor floralii, totodată se consideră rezistente la fuzarioza radiculară soiurile de mazăre la care procentul frecvenței aberațiilor cromozomice în celulele infectate este de 2,0...2,3 ori mai mare decât în cele neinfectate.

10

### (56) Referințe bibliografice:

1. Вэдэнеску С.Н. Технологические и селекционные способы защиты овощного гороха от фузариозных заболеваний в условиях промышленного овощеводства Молдавии.//Автореф. дис....канд. с.-х. наук. Минская обл., Самохваловичи, 1984, с. 20
2. Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев, Наукова думка, 1982, с. 325

Şef Secție:

GUŞAN Ala

Examinator:

BANTAŞ Valentina

Redactor:

LOZOVANU Maria

## RAPORT DE DOCUMENTARE

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Nr. depozit: a 2001 0033                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | (85) Data fazei naționale PCT:                                                                                                                                                                                                                                               |
| (22) Data depozit: 2001.02.06                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | (86) Cerere internațională PCT:                                                                                                                                                                                                                                              |
| Prioritatea invocată :<br>(31) nr.:            32) data :            33) țara :<br>(51) <sup>7</sup> : G 01 N 33/48; A 01 G 7/00<br>Alți indici de clasificare:<br><b>Titlul</b> : Metodă de apreciere a rezistenței soiurilor de mazăre la fuzarioza radiculară.<br>(71) Solicitantul : Institutul de Genetică al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD<br>Termeni caracteristici : |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Int. Cl. <sup>7</sup> : G 01 N 33/48; A 01 G 7/00<br>(MD) 1994 - 2002<br>(EA) 1996-2001<br>SU din fond BRIT                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| II. Documente considerate ca relevante                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Categoria*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente                                                                                                                                                                                               |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Numărul revendicării vizate                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| * categoriile speciale ale documentelor consultate:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | P - document publicat înainte de data depozitului național reglementat dar după data priorității invocate                                                                                                                                                                    |
| A - document care definește statutul general al tehnicii                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | T - document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care conține baza invenției                                                    |
| E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data                                                                                                                                                                                                                                                                                             | X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă                                                                                                                                                    |
| L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la data publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres ( se va indica motivul)                                                                                                                                                                                                                    | Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă cand documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate |
| O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă                                                                                                                                                                                                                                                                                                | & - document care face parte din aceeași familie de documente                                                                                                                                                                                                                |
| Data efectuării de documentare 2002.06.06                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Examinatorul Bantaș Valentina                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                              |



## RAPORT DE DOCUMENTARE

| Informația referitoare la brevete paralele             |                 | (21) Nr depozit: |                 |
|--------------------------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| Date de identificare ale documentelor citate în raport | Data publicării | Brevete paralele | Data publicării |
| 1                                                      | 2               | 3                | 4               |
|                                                        |                 |                  |                 |