MD 56 Z 2009.08.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 56 (13) Z
(51) Int. Cl.: *A01H 1/04* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENŢIE DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2009 0044
(22) Data depozit: 2009.03.31

(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
2009.08.31, BOPI nr. 8/2009

(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ŞI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ŞTIINŢE A MOLDOVEI, MD

(72) Inventatori: SALTANOVICI Tatiana, MD; CRAVCENCO Anatol, MD; JACOTĂ Anatol, MD

(73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ ŞI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ŞTIINŢE A MOLDOVEI, MD

(54) Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la salinizare

(57) Rezumat:

1

Invenţia se referă la agricultură, în particular la metodele de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la salinizare.

Metoda, conform invenţiei, include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, cultivarea la temperatura de 27°C timp de 3 ore, a unei părţi de polen martor pe un mediu nutritiv, conţinând, în g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5…0,7
apă distilată	restul,

şi a altei părţi de polen de probă pe un mediu nutritiv, conţinând, în g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5...0,7
clorură de natriu	0,245...0,255
apă distilată	restul,

determinarea viabilităţii polenului la martor şi la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare

2

de polen germinate şi numărul total de grăuncioare analizate, exprimate in procente; determinarea lungimii tuburilor polinice cu ajutorul ocular-micrometrului; calcularea indicilor de rezistenţă a polenului prin raportul viabilităţii polenului la probă către martor, exprimaţi în procente; şi a indicilor de rezistenţă a tuburilor polinice prin raportul lungimii tuburilor polinice la probă către martor, exprimaţi în procente; şi calcularea indicilor de rezistenţă medie integrală a genotipurilor la salinizare, exprimaţi prin semisuma indicilor de rezistenţă a polenului şi a tuburilor polinice, totodată se selectează genotipurile, la care indicii de rezistenţă la salinizare sunt mai mari.

Revendicări: 1

.

MD 56 Z 2009.08.31

Descriere:

Invenţia se referă la agricultură, în particular la metodele de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la salinizare.

Este cunoscută metoda de estimare a rezistenţei tomatelor la salinizare după germinarea seminţelor pe soluţii saline, care constă în determinarea germinării seminţelor pe fondul de salinizare şi care poate fi recomandată pentru stabilirea rezistenţei materialului ameliorativ. Această metodă include cultivarea seminţelor pe soluţie cu clorură de natriu cu concentraţia 0,92% pe fondul termic de 22°C timp de 10 zile şi numărarea zilnică a seminţelor germinate. Rezistenţa mostrelor se stabileşte prin raportul numărului de seminţe germinate în varianta martor (pe apă distilată) faţă de acest indiciu în experienţă (pe soluţie cu clorură de natriu) [1]. Însă această metodă este destul de îndelungată şi anevoioasă. În afară de aceasta, ea nu permite de a stabili în mod deplin rezistenţa genotipurilor, deoarece nu caracterizează reacţia lor la etapa reproductivă, deşi anume la această perioadă plantele sunt foarte sensibile la acţiunea salinizării. În consecinţă, evaluarea rezistenţei polenului pe mediul, care modelează influenţa salinizării, permite în mod rapid şi deplin de a estima rezistenţa şi pe această bază a selecta genotipurile valoroase.

Problema pe care o rezolvă invenţia constă în creşterea nivelului de autenticitate a estimării rezistenţei genotipurilor la salinizare pe baza utilizării unui indiciu de rezistenţă medie integrală.

Esenţa invenţiei constă în aceea că metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la salinizare, conform invenţiei, include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, cultivarea la temperatura de 27°C timp de 3 ore, a unei părţi de polen martor pe un mediu nutritiv, conţinând, în g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5…0,7
apă distilată	restul,

şi a altei părţi de polen de probă pe un mediu nutritiv, conţinând, în g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5...0,7
clorură de natriu	0,245...0,255
apă distilată	restul,

determinarea viabilităţii polenului la martor şi la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate şi numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente; determinarea lungimii tuburilor polinice cu ajutorul ocular-micrometrului; calcularea indicilor de rezistenţă a polenului prin raportul viabilităţii polenului la probă către martor, exprimaţi în procente; şi a indicilor de rezistenţă a tuburilor polinice prin raportul lungimii tuburilor polinice la probă către martor, exprimaţi în procente; şi calcularea indicilor de rezistenţă medie integrală a genotipurilor la salinizare, exprimaţi prin semisuma indicilor de rezistenţă a polenului şi a tuburilor polinice, totodată se selectează genotipurile, la care indicii de rezistenţă la salinizare sunt mai mari.

Rezultatul constă în posibilitatea estimării rezistenţei la salinizare a genotipurilor de tomate la etapa de polen matur, ce permite diferenţierea genotipurilor pe baza unui indiciu de rezistenţă medie integrală, care îmbină rezistenţa polenului şi tuburilor polinice, ce la final îmbunătăţeşte calitatea şi autenticitatea evaluării şi permite includerea genotipurilor valoroase în procesul de hibridare şi selecţie în acelaşi an, sporind astfel procesul ameliorativ.

Exemplu de realizare a invenţiei

În scopul estimării mostrelor de tomate după rezistenţa la salinizare au fost utilizate 8 genotipuri: soiul *Ceros* - 70; speciile spontane: *Lycopersicon hirsutum* gl., *Lycopersicon cheesmanii*, *Lycopersicon chilenzi*, *Lycopersicon peruvianum*; varietăţile semiculturale: *Lycopersicon esculentum var. succenturiatum*, *Lycopersicon esculentum var. pruniformae*, *Lycopersicon esculentum var. recemigerum*. Plantele au fost cultivate în condiţii de câmp până la înflorire. La fiecare genotip de pe 15…20 de plante au fost colectate flori complet deschise, apoi au fost separate anterele, care se amplasează în pachete de hârtie pergament pentru uscarea uşoară în condiţii de temperatură 25…26°C timp de 6 ore. După expirarea termenului dat polenul a fost izolat din antere prin scuturarea mecanică şi semănat pe două variante de medii nutritive: martor şi probă, care modelează condiţii de salinizare.

Mediile nutritive pentru cultivarea polenului au conţinut următoarele ingrediente, g/L:

Mediul 1	zaharoză	145
Martor	acid boric	0,5
	apă distilată	restul (până la 1000 mL).
Mediul 2	zaharoză	145
Probă	acid boric	0,5
	clorură de natriu	0,245
	apă distilată	restul (până la 1000 mL).

Polenul din ambele variante (martor şi probă) a fost semănat într-o picătură de mediu nutritiv pe sticle portobiect, care au fost amplasate in cupe Petri pe strat de hartie de filtru umed, apoi au fost transferate in termostat cu regim termic de 27°C cu durata de 3 ore. În fiecare variantă au fost analizate

nu mai puţin de 600 grăuncioare de polen. Analiza preparatelor s-a efectuat la microscop, fiind determinaţi următorii indici:

1) viabilitatea polenului prin raportul dintre numărul grăuncioarelor de polen germinate şi numărul grăuncioarelor de polen analizate;

2) lungimea tuburilor polinice (TP) in diviziuni ale ocular-micrometrului.

Pentru estimarea rezistenţei genotipurilor au fost utilizaţi 2 indici: rezistenţa polenului (R) şi rezistenţa tuburilor polinice (R1), care s-au calculat după formulele:

$$R = \frac{P}{M} x100\%,$$

unde R - rezistenţa polenului;

P - viabilitatea polenului în varianta probă;

M - viabilitatea polenului in varianta martor.

$$R1 = \frac{P1}{M1} x100\%,$$

unde *R1* - rezistenţa tuburilor polinice;

P1 - lungimea tuburilor polinice în varianta probă;

M1 - lungimea tuburilor polinice in varianta martor.

In scopul calculării rezistenţei medii integrale (R2) sumăm valorile stabilite R şi R1, iar suma o divizăm la doi. Indicele stabilit R2 permite de a estima şi diferenţia genotipurile în mod mai exact şi deplin (tabelul).

Tabel

Genotipul	Varianta	Viabilitatea polenului, %	Rezistenţa polenului, %, R	Lungimea TP (diviz.oc.-micr.)	Rezistenţa TP, %, R1	Rezistenţa medie integrală, %, R2
Soiul *Ceros*-70	martor	36,1±1,83		9,7±0,60		
	probă	22,4±1,76	62,0±1,80	2,7±0,67	27,8±0,67	44,7±1,24*
Lycopersicon hirsutum gl.	martor	49,1±1,70		3,6±0,22		
	probă	22,8±1,45	46,4±1,57	1,5±0,15	41,7±0,19	44,3±0,88*
Lycopersicon cheesmanii	martor	83,9±1,60		6,3±0,22		
	probă	42,8±1,34	51,0±1,32	2,0±0,17	31,7±0,20	41,3±0,76*
Lycopersicon chilenzi	martor	65,4±1,94		9,7±0,38		
	probă	27,0±1,78	41,3±1,86	3,7±0,51	38,1±0,55	39,7±1,20*
Lycopersicon esculentum var. succenturiatum	martor	55,8±1,48		7,9±0,45		
	probă	18,4±1,45	33,0±1,47	3,2±0,27	40,5±0,36	36,7±0,81**
Lycopersicon peruvianum	martor	34,8±1,68		8,6±0,25		
	probă	10,7±1,55	30,7±1,62	3,4±0,40	39,5±0,33	35,1±0,98**
Lycopersicon esculentum var. pruniformae	martor	63,4±1,88		6,3±0,41		
	probă	20,2±1,37	31,9±1,63	1,5±0,17	23,8±0,26	27,8±0,95***
Lycopersicon esculentum var. racemigerum	martor	66,4±1,55		7,5±0,19		
	probă	18,3±1,50	27,6±1,53	1,5±0,24	20,0±0,22	23,8±0,88***

* - deosebirile între genotipurile date şi celelalte sunt autentice la nivel de R<0,05

** - deosebirile între genotipurile date şi celelalte sunt autentice la nivel de R<0,05

*** - deosebirile intre genotipurile date şi celelalte sunt autentice la nivel de R<0,01

Rezultatele obţinute au demonstrat că, conform invenţiei, cultivarea polenului pe mediul selectiv cu clorură de natriu şi prelucrarea statistică a valorilor de rezistenţă a polenului şi tuburilor polinice permit diferenţierea autentică a genotipurilor de tomate după rezistenţa la salinizare pe baza rezistenţei medii integrale. Conform datelor obţinute, rezistenţă maximală la acţiunea salinizării au demonstrat soiul *Ceros*-70, speciile spontane: *Lycopersicon hirsutum* gl., *Lycopersicon cheesmanii*, *Lycopersicon chilenzi*; apoi s-au evidenţiat 2 genotipuri cu un nivel de rezistenţă mai mic: *Lycopersicon esculentum var. succenturiatum* şi *Lycopersicon peruvianum*. Varietăţile semiculturale *Lycopersicon esculentum var. pruniformae* şi mai ales *Lycopersicon esculentum var. racemigerum* au avut cel mai mic nivel de rezistenţă.

(57) Revendicări:

Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la salinizare, care include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, cultivarea la temperatura de 27°C, timp de 3 ore, a unei părţi de polen martor pe un mediu nutritiv, conţinând, în g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5…0,7
apă distilată	restul,

şi a altei părţi de polen de probă pe un mediu nutritiv, conţinând, în g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5...0,7
clorură de natriu	0,245...0,255
apă distilată	restul,

determinarea viabilităţii polenului la martor şi la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate şi numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente; determinarea lungimii tuburilor polinice cu ajutorul ocular-micrometrului; calcularea indicilor de rezistenţă a polenului prin raportul viabilităţii polenului la probă către martor, exprimaţi în procente; şi a indicilor de rezistenţă a tuburilor polinice prin raportul lungimii tuburilor polinice la probă către martor, exprimaţi în procente; şi calcularea indicilor de rezistenţă medie integrală a genotipurilor la salinizare, exprimaţi prin semi-suma indicilor de rezistenţă a polenului şi a tuburilor polinice, totodată se selectează genotipurile, la care indicii de rezistenţă la salinizare sunt mai mari.

(56) Referinţe bibliografice:

1. Определение солеустойчивости овощных культур по прорастанию семян в солевых растворах. Методические указания. Ленинград, 1986, 15 с.

Şef Secţie: COLESNIC Inesa

Examinator: GORDIENCO Maria

Redactor: CANŢER Svetlana

736 / FC / 05.0 / A / 4 / I /

RAPORT DE DOCUMENTARE

pentru cerere de brevet de invenție de scurtă durată conform art.52(2) a Legii nr. 50/2008

(21) Nr. depozit: s 2009 0044	(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2009.03.31	(86) Cerere internațională PCT:

Prioritatea invocată:
(31) nr.: 32) data: 33) țara:
(51) IPC: **Int. Cl.:** ***A01H 1/04*** (2006.01)
Alți indici de clasificare:
Titlul: Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la salinizare
(71) Solicitantul: INSTITUTUL DE GENETICĂ ŞI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ŞTIINŢE A MOLDOVEI, MD

I. Condiția de unitate a invenției ☐ **satisface** ☐ **nu satisface. Notă:**

II. Minimul de documente consultate: MD, EA

III. Domeniul de documentare:
Indicii IPC (ultima redacție): ***A01H 1/04*** (2006.01)
Termeni caracteristici
română: cuvinte-cheie, sinonime: selectare a genotipurilor; salinizare; viabilității polenului
rusă: отбор генотипов; засоление; жизнеспособность пыльцы
engleză: selection genotypes; salinization

IV. Documente considerate a fi relevante

Categoria	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Relevant față de revendicarea nr.
A	1. Определение солеустойчивости овощных культур по прорастанию семян в солевых растворах. Методические указания. Ленинград, 1986, 15 с.	1
A	2. Влияние гомо-и гетерозиготного состояния мутантных генов томата на количественные признаки (Lycopersicon esculentum Mill)-autoreferat al tezei de doctor în ştiinţe biologice Tăranu Lilia, **regăsit în Internet** 2008.02.28 http://www.old.nkj.ru/cgi/naukad1ee.html?08 0311 0...	1

Categorii de documente citate

A - document care defineşte stadiul anterior in general	**O -** document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere etc.
X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă	**P** - document publicat inainte de data de depozit dar după data priorității invocate
Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceiaşi natură	**T -** document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care fundamentează invenția
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după această dată	**D** – Document menționat in descrierea cererii de brevet

Data finalizării documentării 2009.06.19

Examinatorul, GORDIENCO Maria