



MD 2385 G2 2004.02.29

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **2385** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) **Int. Cl.⁷**: C 12 N 1/14 ;
(C 12 N 1/14,
C 12 R 1:77)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2003 0091 (22) Data depozit: 2003.03.28	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.02.29, BOPI nr. 2/2004
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventori: LUPAȘCU Galina, MD; SAȘCO Elena, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) **Mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium oxysporum* Schlecht
Snyd. et Hans.**

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la selecția plantelor, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium* sp.

Mediul nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium oxysporum* Schlecht Snyd. et Hans. conține, g/L: azotat de potasiu 2,00, dihidrogenofosfat de potasiu 1,00, sulfat de magneziu 0,50, clorură de

2
5 potasiu 0,50, sulfat de fier 0,01, zaharoză 20,00, α -leucină 0,0001...0,001 și apă distilată până la 1 L.

Rezultatul constă în stimularea sintezei metaboliților toxici de către ciuperca *Fusarium oxysporum*.

Revendicări: 1

10

MD 2385 G2 2004.02.29

MD 2385 G2 2004.02.29

3

Descriere:

Invenția se referă la selecția plantelor, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium sp.*

5 Este cunoscut mediul nutritiv lichid Cszapek pentru cultivarea ciupercilor *Fusarium sp.* (care include, mg/L: azotat de potasiu KNO_3 – 2000, monofosfat de potasiu KH_2PO_4 –1000, sulfat de magneziu MgSO_4 – 500, clorură de potasiu KCl – 500, sulfat de fier FeSO_4 – 10, zaharoză – 20000, apă distilată până la 1 L) utilizat în scopul obținerii filtratului de cultură [1] ca factor de selecție pentru rezistența la fuzarioză. Însă aplicarea largă a filtratelor de cultură, pe baza mediului nutritiv Cszapek, pentru selectarea genotipurilor rezistente este limitată destul de frecvent de toxicitatea slabă a acestora, din care cauză este necesară testarea unui număr mare de izolate *Fusarium* pentru detectarea celor mai eficiente.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea toxicității filtratelor de cultură *Fusarium*.

15 Esența invenției constă în aceea că mediul nutritiv lichid conține, g/L: azotat de potasiu KNO_3 – 2,00; dihidrogenofosfat de potasiu KH_2PO_4 – 1,00; MgSO_4 – 0,50; KCl – 0,50; FeSO_4 – 0,01; zaharoză – 20,00; aminoacidul α -leucină – 0,0001...0,001, apă distilată până la 1 L.

Rezultatul invenției constă în stimularea sintezei metaboliților toxici de către ciuperca *F. oxysporum*.

Exemplu. În experiență au fost utilizate semințe de grâu de soiul Odeschi 117.

20 Pentru prepararea mediului nutritiv obișnuit (Cszapek) s-au dizolvat în apă distilată, mg/L: KNO_3 – 2000; KH_2PO_4 – 1000; MgSO_4 – 500; KCl – 500; FeSO_4 – 10; zaharoză – 20000, apă – restul până la 1 L.

25 Pentru prepararea mediului nutritiv propus s-a utilizat mediul nutritiv lichid Cszapek suplimentat cu α -leucină în concentrații de 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 mg/L. Mediile date au fost sterilizate în autoclave timp de 20 min la 0,5 atm. În condiții aseptice în mediile date a fost introdus miceliul ciupercii *F. oxysporum*, provocatoare a putregaiului de rădăcină (manifestat prin diminuarea capacității de germinație și inhibarea creșterii plantelor). Ciuperca a fost cultivată în termostat la temperatura de 22...24°C timp de 21 de zile (Методы экспериментальной микологии, Киев, Наукова думка, 1982, c. 296), astfel obținându-se FC al ciupercii *F.oxysporum*. Apoi FC a fost separat de miceliul ciupercii prin hârtie de filtru.

30 Semințele de grâu au fost muiate pe 18 h în apă distilată (martor), în FC *F. oxysporum* obținut în mod obișnuit pe mediul nutritiv Cszapek (cea mai apropiată soluție) și în FC *F. oxysporum* obținut pe mediul nutritiv Cszapek cu adăugarea α -leucinei în concentrații de 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 mg/L. În continuare semințele au fost clătite cu apă de robinet, după care s-au cultivat timp de 6 zile în vase Petri pe hârtie de filtru umețată cu apă. În calitate de parametri ai creșterii și dezvoltării au servit cei mai sensibili indici la acțiunea ciupercilor *Fusarium*: capacitatea de germinație a semințelor (%) și lungimea rădăcinii embrionare (mm). Datele obținute sunt prezentate în tabel. După cum rezultă, FC al ciupercii *F. oxysporum*, obținut în mod obișnuit a provocat inhibarea capacității de germinație cu 6,1%, iar creșterea rădăcinii embrionare cu 13,3%. La tratarea semințelor cu FC obținut pe bază de mediu suplimentat cu α -leucină în concentrații de 0,1...1,0 mg/L, s-a constatat cea mai pronunțată reprimare a indicilor menționați. Astfel, capacitatea de germinație a diminuat cu 16,2...17,0%, iar lungimea rădăcinii cu 21,1...21,5%, aceste date având suport statistic la compararea cu FC obținut în baza mediului obișnuit.

Tabel

45

Influența mediului nutritiv pentru cultivarea ciupercii *F. oxysporum* suplimentat cu α -leucină asupra unor indici de creștere ai plantelor de grâu

Nr.	Varianta, mg/L	Germinația, %		Lungimea rădăcinii, mm	
		$\bar{x} \pm m$,	% față de martor	$\bar{x} \pm m$,	% față de martor
1.	Martor (H_2O)	64,2 \pm 2,6	100,0	127,2 \pm 3,8	100,0
2.	FC <i>F.oxysporum</i>	60,3 \pm 2,2	93,9	110,3 \pm 3,7*	86,7
3.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 10	57,5 \pm 5,2	89,6	110,5 \pm 3,7*	86,9
4.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 1	53,3 \pm 0,8* ^v	83,0	99,9 \pm 4,5* ^v	78,5
5.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 0,1	53,8 \pm 1,0* ^v	83,8	100,4 \pm 3,3* ^v	78,9
6.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 0,01	55,8 \pm 2,2*	87,0	110,5 \pm 3,6*	86,9
7.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 0,001	56,7 \pm 0,8	88,3	114,9 \pm 3,4	90,3

MD 2385 G2 2004.02.29

4

* – deosebire autentică de martor la nivelul $p < 0,05$;

^v – deosebire autentică de FC *F. oxysporum* la nivelul $p < 0,05$.

5 Din cele prezentate rezultă că noul mediu, obținut prin suplimentarea mediului nutritiv Cszapek cu aminoacidul α -leucină în concentrațiile 0,1-1,0 mg/L, asigură obținerea unui mediu nutritiv pentru cultivarea *F. oxysporum* cu o toxicitate mai pronunțată pentru plantulele de grâu, ceea ce poate fi explicat prin stimularea producerii toxinelor de către ciuperca *F. oxysporum* la adăugarea aminoacidului α -leucină în mediul Cszapek. Deci, noul mediu nutritiv asigură obținerea unui factor de selecție mai eficient pentru rezistența plantelor de grâu la fuzarioză.

10

(57) Revendicare:

15 1. Mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium oxysporum* Schlecht Snyder et Hans., care conține azotat de potasiu, dihidrogenofosfat de potasiu, sulfat de magneziu, clorură de potasiu, sulfat de fier, zaharoză, apă distilată, **caracterizat prin aceea că** conține suplimentar α -leucină, ingredientele fiind luate în următorul raport, g/L:

20	azotat de potasiu	2,00
	dihidrogenofosfat de potasiu	1,00
	sulfat de magneziu	0,50
	clorură de potasiu	0,50
	sulfat de fier	0,01
	zaharoză	20,00
25	α -leucină	0,0001...0,001
	apă distilată	până la 1 L.

(56) Referințe bibliografice:

1. Билай В. И. Фузариин. Киев, Наукова думка, 1977, p. 228

Director Departament
Invenții:

CRECETOV Veaceslav

Examinator:

GUȘAN Ala

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2003 0091		(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2003.03.28		(86) Cerere internațională PCT:
<p>Prioritatea invocată :</p> <p>(31) nr.: 32) data : 33) țara :</p> <p>(51)⁷ : C 12 N 1/14 //(C 12 N 1/14, C 12 R 1:77)</p> <p>Alți indici de clasificare:</p> <p>Titlul : Mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht Snyd.et Hans.</p> <p>(71) Solicitantul : INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p> <p>Termeni caracteristici : mediu nutritiv, <i>Fusarium oxysporum</i>, leucină</p>		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))		
MD 1993 - 2003, EA 1996 - 2003, SU 1070 - 1991		
Int. Cl. ⁷ C 12 N 1/14 //(C 12 N 1/14, C 12 R 1:77)		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	Билай В. И. Фузариин. Киев, Наукова думка, 1977, p. 228	1
<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 de depozit dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data de depozit 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 determinarea datei 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 finalizării documentării		08.12.2003
Examinatorul		Ala Gușan

RAPORT DE DOCUMENTARE

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