



MD 3638 F1 2008.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3638** ⁽¹³⁾ **F1**
(51) Int. Cl.: *A01H 1/04* (2006.01)
A01H 1/02 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
(21) Nr. depozit: a 2008 0033 (22) Data depozit: 2008.02.11	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.07.31, BOPI nr. 7/2008
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: SULTANOVICI Tatiana, MD; CRAVCENCO Anatol, MD; TODERAȘ Lidia, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase
(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la agricultură, în particular la metodele de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase.

Metoda, conform invenției, include cultivarea plantelor în condiții de temperatură optimă, castrarea mugurilor floralii de culoare galben-verzuie, polenizarea artificială peste 3 zile după castrare, cultivarea plantelor peste 10 zile după polenizarea artificială la temperatura de 6°C noaptea și de 9°C ziua timp de 10 zile, și transferarea plantelor în condiții de temperatură optimă. Peste 25 de zile după polenizarea artificială se efectuează colec-

2

tarea fructelor imature, sterilizarea lor, izolarea din fructe a embrionilor, amplasarea lor pe mediu nutritiv și determinarea procentului de embrioni germinați.

Rezultatul constă în diminuarea timpului de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase și sporirea autenticității selecției lor.

Revendicări: 1

MD 3638 F1 2008.07.31

3

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, în particular la metodele de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase.

- 5 Cea mai apropiată soluție pentru diagnosticarea genotipurilor rezistente la temperaturi joase este metoda care se bazează pe capacitatea germinării semințelor în condiții de temperaturi joase [1]. Însă această metodă presupune selectarea genotipurilor rezistente la etapa semințelor mature care posedă un șir de mecanisme fiziologice de protecție de temperaturile stresante, care le protejează de influența factorilor stresogeni, și care influențează esențial asupra gradului de rezistență, însă nu asigură o selecție eficientă.

- 10 Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea eficacității procesului de selectare a genotipurilor rezistente în urma acțiunii factorului termic la etapa de embriogeneză, precum și în reducerea perioadei de obținere a populațiilor rezistente.

- 15 Esența invenției constă în aceea că metoda include cultivarea plantelor în condiții de temperatură optimă, castrarea mugurilor florali de culoare galben-verzuie, polenizarea artificială peste 3 zile după castrare, cultivarea plantelor peste 10 zile după polenizarea artificială la temperatura de 6°C noaptea și de 9°C ziua timp de 10 zile, și transferarea plantelor în condiții de temperatură optimă. Peste 25 de zile după polenizarea artificială se efectuează colectarea fructelor imature, sterilizarea lor, izolarea din fructe a embrionilor, amplasarea lor pe mediu nutritiv și determinarea procentului de embrioni germinați.

- 20 Rezultatul constă în diminuarea timpului de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase și sporirea autenticității selecției lor.

Exemplu de realizare a invenției

- 25 Pentru selectarea genotipurilor rezistente la temperaturi joase au fost utilizați hibrizii interspecifici F₁ Mo500 x *S.pennellii* și Mo 628 x *Lycopersicon hirsutum* gl. Plantele au fost cultivate în vase de vegetație în condiții optimale de temperatură (18...25°C noapte-zi). Castrarea s-a efectuat la etapa mugurilor florali de culoare galben-verzuie, cu polenizarea lor ulterioară peste trei zile. Plantele experimentale peste zece zile după polenizare au fost transferate pe o durată de zece zile în camera cu climă artificială cu regim termic de 6...9°C (noapte-zi). După expirarea termenului dat aceste plante din nou au fost instalate și cultivate în condiții optimale (18...25°C noapte-zi). Plantele din varianta

- 30 martor pe tot parcursul experienței au fost cultivate în condiții optimale (18...25°C noapte-zi).

- Embrionii fiecărui genotip din ambele variante au fost izolați peste 25 zile după polenizare. Pentru această manipulare au fost colectate fructe imature și au fost sterilizate timp de 5 minute cu etanol (96%), apoi au fost prelucrate la flacăra arzătorului cu alcool și plasate în cupe Petri sterile. Izolarea embrionilor s-a efectuat în câmpul de vedere al microscopului MBS-9 cu ajutorul

- 35 instrumentelor speciale în condiții aseptice.
- Embrionii izolați se amplasează în flacoane speciale pentru cultivare pe mediu nutritiv steril agarizat. Cultivarea embrionilor s-a efectuat pe mediu nutritiv cunoscut Murashige-Scoog. Mediul nutritiv pentru cultivarea embrionilor conține următoarele ingrediente, mg/l:

nitrat de amoniu	1640,0...1650,0
clorură de calciu dehidrat	430,0...435,0
etilen diamintetraacetat de natriu	37,2...37,3
sulfat de fier heptahidrat	27,7...27,8
nitrat de potasiu	1890,0...1900,0
sulfat de magneziu heptahidrat	365,0...370,0
fosfat de potasiu monosubstituit	165,0...170,0
sulfat de zinc heptahidrat	8,6...8,7
acid boric	6,0...6,1
sulfat de mangan heptahidrat	22,1...22,3
sulfat de cupru pentahidrat	0,024...0,025
clorură de cobalt	0,024...0,025
molibdat de sodiu dehidrat	0,24...0,25
iodură de potasiu	0,80...0,81
mezoinozită	100,0...105,0
acid nicotinic	0,49...0,50
piridoxină HCl	0,49...0,5
tiamină HCl	0,08...0,09
zaharoză	27000,0...28000,0
agar-agar	6500,0...7000,0
apă	până la 11.

MD 3638 F1 2008.07.31

4

Rezistența populațiilor se determină după procentul de germinare a embrionilor pe mediul nutritiv.

Pentru evaluarea comparativă selecția genotipurilor rezistente la temperaturi joase s-a efectuat de asemenea și după metoda cunoscută [1]. În acest scop o parte de semințe mature din varianta martor și probă au fost amplasate în cupe Petri și puse la germinare în termostaț cu regim 22...25°C, timp de 24 ore, după acest termen au fost amplasate în termostaț cu regim termic 12°C pe 17 zile, pe parcursul acestui termen a fost înregistrată cantitatea de semințe germinate.

Încolțirea semințelor s-a determinat după raportul cantității de semințe germinate la temperatura de 12°C față de acest indice la temperatura de 22...25°C. Rezultatele obținute demonstrează că, în conformitate cu invenția, influența temperaturilor joase la etapa embriogenezei sporește frecvența de eliminare *in vitro* a embrionilor nerezistenți la ambele combinații hibride. Astfel, viabilitatea embrionilor hibridului F1 Mo500 x *S.pennellii* în varianta martor constituie 11,4%, iar în varianta probă 19,9%. La hibridul F1 Mo 628 x *L.hirsutum* aceste indicii sunt echivalente cu 19,6 și 38,5% corespunzător.

Pentru a demonstra autenticitatea selecției efectuate la etapa de embriogeneză a fost evaluată la temperaturi joase a populațiilor segregante F3. În acest scop plantele obținute în condiții *in vitro* au fost transferate în vase de vegetație cu sol și cultivate până la fructificare. Semințele obținute au fost semănate în lăzi și cultivate în condiții de temperaturi optime (18...25°C). La etapa de 4...5 frunze adevărate aceste plante au fost transferate în camera cu climă artificială cu regim termic 12...14°C (noapte-ză) pe o durată de trei săptămâni. Evaluarea rezistenței populațiilor la temperaturi joase s-a efectuat prin distribuirea valorilor indicelui masa plantelor pe fondul de temperaturi joase (tabel).

Tabelul

Influența selecției embrionilor asupra variabilității frecvenței și spectrului după masa plantelor în populațiile hibride F3

Hibridul	Clase de plante, masa (g)	Numărul de plante, %	
Mo500 x <i>S.pennellii</i>	0,1...0,5	71±2,62	51±2,35
	0,6...0,9	23±2,43	21±1,92
	1,0...1,2	6±1,65	11±1,47
	1,3...2,1	-	17±1,77
Mo628 x <i>L.hirsutum</i>	0,1...0,5	61±2,18	53±2,04
	0,6...0,9	14±1,55	11±1,28
	1,0...1,2	11±1,40	15±1,46
	1,3...2,1	14±1,55	21±1,66

Populațiile din varianta probă cultivate pe fondul temperaturilor joase se caracterizează prin majorarea frecvenței plantelor cu masa mai mare. Acest fapt se datorează selecției genotipurilor rezistente la temperaturi joase la etapa formării, dezvoltării și creșterii embrionilor. Totodată cota de influență a plantelor cu masa mică se micșorează autentic corespunzător. În același timp în componența populațiilor selectate a fost depistată mărirea masei medii a plantelor cu valori maxime care lipsesc în control.

Astfel, acțiunea temperaturilor joase la etapa embriogenezei contribuie la selectarea genotipurilor rezistente, fapt care provoacă sporirea rezistenței la temperaturi joase în populațiile hibride F3.

Așadar, metoda propusă permite de a selecta genotipuri rezistente de tomate la etapa embriogenezei, fapt ce contribuie la obținerea semințelor F3 în același an, reduce durata și intensifică procesul ameliorării. Conform tehnologiei tradiționale în primul an de vegetație este necesar de a cultiva plante F2, de a obține semințe și de a selecta după metoda cunoscută genotipurile cu rezistență sporită. Pe parcursul anului doi din genotipurile selectate se obțin semințe F3, care pot fi utilizate în ameliorare.

MD 3638 F1 2008.07.31

5

(57) Revendicări:

- 5 Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase care include cultivarea plantelor în condiții de temperatură optimă, castrarea mugurilor florală de culoare galben-verzuie, polenizarea artificială peste trei zile după castrare, cultivarea plantelor peste 10 zile după polenizarea artificială la temperatura de 6°C noaptea și de 9°C ziua, timp de 10 zile, transferarea plantelor în condiții de temperatură optimă, peste 25 zile după polenizarea artificială se efectuează
- 10 colectarea fructelor imature, sterilizarea lor, izolarea din fructe a embrionilor, amplasarea lor pe mediu nutritiv și determinarea procentului de embrioni germinați.

15

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 3374 G2 2008.04.30

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

GORDIENCO Maria

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2008 0033	(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2008.02.11	(86) Cerere internațională PCT:
Prioritatea invocată : (31) nr.: 32) data : 33) țara : (51) : Int.Cl: A01H 1/04 (2006.01) A01H 1/02 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul : Metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD Termeni caracteristici: genotipurile de tomate, rezistente la temperaturi joase	
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.	
(MD, EA, SU, inclusiv și colecția „nepublică”) MD Perioada: 1993-2008.02.11 EA Perioada: 1996-2008.02.11 SU Perioada: 1972-1993 ESP@CENET - WORLDWIDE (WO, EP, CH, DE, GB, FR, US, JP...)	
II. Documente considerate ca relevante MD 3374 G2 2008.04.30	
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente
A	1. RU 2226818 C1 2004.04.20
A	2. В.С. Смирнова, И.В.Гаранько « Диагностика холодостойкости образцов культурного томата» Методические указания, Ленинград 1990 с.24
A	3. MD 3374 G2 200804.30
☐ Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II	
☐ 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	2008.05.21
Examinatorul	GORDIENCO Maria

