



MD 819 Z 2015.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **819** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *A01C 1/06* (2006.01)
A01C 1/08 (2006.01)
A01N 43/08 (2006.01)
C07H 17/04 (2006.01)
C07D 311/94 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2014 0029 (22) Data depozit: 2014.03.07	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.10.31, BOPI nr. 10/2014
(71) Solicitanți: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: MAȘCENCO Natalia, MD; LUPAȘCU Galina, MD; GUREV Angela, MD; BARBA Alic, MD; GORINCIOI Elena, MD; GAVZER Svetlana, MD (73) Titulari: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Procedeu de tratare a grâului de toamnă contra *Fusarium oxysporum*

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la agricultură, și anume la un procedeu de tratare a grâului de toamnă contra *Fusarium oxysporum*.

Procedeul, conform invenției, prevede înmuiera semințelor de grâu înainte de

2
semănat în decurs de 4 ore în soluție apoasă de 10^{-5} ... 10^{-3} % de extract sumar de glicozide iridoidice din plantele *Linaria genistifolia* L. Mill, obținut prin extragere cu metanol.

Revendicări: 1

MD 819 Z 2015.05.31

(54) Process for treating winter wheat against *Fusarium oxysporum*

(57) Abstract:

1
The invention relates to agriculture, namely to a process for treating winter wheat against *Fusarium oxysporum*.

The process, according to the invention, provides soaking of wheat seeds before sowing

2
for 4 hours in 10^{-5} ... 10^{-3} % aqueous solution of total extract of iridoid glycosides from *Linaria genistifolia* L. Mill plants, obtained by methanol extraction.

Claims: 1

(54) Способ обработки озимой пшеницы против *Fusarium oxysporum*

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к сельскому хозяйству, а именно к способу обработки озимой пшеницы против *Fusarium oxysporum*.

Способ, согласно изобретению, предусматривает замачивание семян пшеницы перед посевом в течение 4 часов

2
в 10^{-5} ... 10^{-3} % - ном водном растворе суммарного экстракта иридо-идных гликозидов из растений *Linaria genistifolia* L. Mill, полученного путем экстракции метанолом.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, și anume la un procedeu de tratare a grâului de toamnă contra *Fusarium oxysporum*.

5 Soluția cea mai apropiată de procedeu revendicat constă în tratarea boabelor de grâu cu soluții apoase de glicozide steroidice sumare (GSS) din *Trigonella foenum-graecum* L. [1].

Eficacitatea acestui procedeu este relativ joasă.

Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că GSS din *T. foenum-graecum* se obțin doar din semințe, din care motiv randamentul de obținere a acestora este destul de mic. În afară de
10 aceasta, plantele de *T. foenum-graecum* nu au o răspândire largă, astfel accesibilitatea materiei prime fiind destul de limitată.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea rezistenței plantelor de grâu de toamnă la *F. oxysporum* și lărgirea sortimentului de substanțe biologic active naturale, cu acțiune fungicidă, inofensive pentru mediul ambiant și organismele vii.

15 Se propune un procedeu de sporire a rezistenței plantelor de grâu de toamnă la *F. oxysporum* prin tratarea boabelor înainte de semănat cu substanțe biologic active pentru stimularea germinației și a creșterii rădăcinilor, totodată în calitate de substanță biologic activă de origine naturală se utilizează glicozidele iridoidice sumare (GIS) din planta *Linaria genistifolia* L. Mill.

Procedeu de tratare a grâului de toamnă contra *Fusarium oxysporum* prevede înmuierea
20 semințelor de grâu înainte de semănat în decurs de 4 ore în soluție apoasă de 10^{-5} ... 10^{-3} % de extract sumar de glicozide iridoidice din plantele *Linaria genistifolia* L. Mill, obținut prin extragere cu metanol.

Rezultatul invenției constă în sporea rezistenței grâului de toamnă la putregaiul de rădăcină prin tratarea semințelor de grâu înainte de semănat.

25 Procedeu contribuie la sporirea nivelului de germinație a boabelor și la majorarea lungimii rădăcinii embrionare cu 35,0% și, respectiv, 30,4%, comparativ cu varianta cu filtratul de cultură (FC) *F. oxysporum*.

Metodă de obținere a glicozidelor iridoidice

Glicozidele iridoidice sumare din *L. genistifolia* s-au obținut în modul următor: masa vegetală
30 de plantă (partea aeriană) uscată, în cantitate de 300 g, a fost mărunțită și extrasă cu soluție hidrometanolică de 60% de 3 ori prin fierbere. Extractele au fost unite, concentrate prin distilare în vid, după care reziduul apos s-a trecut prin coloană cu Sephadex LH-20. Coloana a fost eluată cu apă, apoi cu soluție hidrometanolică de 10%, după care cu metanol.

35 Eluatele cu hidrometanol de 10% și metanol au fost unite și concentrate prin distilare în vid până la uscat. În reziduul uscat (4,6 g) au fost detectate cu ajutorul cromatografiei în strat subțire de silicagel 4 glicozide iridoidice, denumite genistifolozide 1-4.

Conform cercetărilor ulterioare, după separarea componentelor amestecului prin metode cromatografice, cu ajutorul procedeelor fizico-chimice, spectroscopiei H^1 și ^{13}C RMN, genistifolozidele 1-4 au fost identificate prin compararea cu datele bibliografice după cum
40 urmează: 1 - antirinozida; 2 - linariozida; 3 - 5-O-alozilantirinozida; 4 - 6-β-hidroxi antirida.

De asemenea, s-a stabilit că 5-O-alozilantirinozida este componenta majoră în amestecul sumar de glicozide iridoidice.

Exemplu de realizare a invenției

Obiectul de studiu a fost soiul de grâu comun de toamnă Odeschi 51.

45 Înainte de semănat, boabele au fost înmuiate timp de 4 ore în soluții apoase de GIS din *L. genistifolia* (invenția propusă) și de GSS din *T. foenum-graecum* (cea mai apropiată soluție) în concentrațiile 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} %. Ca variantă martor au servit boabele înmuiate în apă. După uscare timp de 24 ore, boabele au fost înmuiate timp de 18 ore în filtratul de cultură (FC) *F. oxysporum* de 21 zile, după care s-au clătit de 2 ori cu apă distilată. FC *F. oxysporum* a fost obținut
50 în modul următor: tulpina de fungi *F. oxysporum* a fost izolată din baza tulpinii de grâu comun de toamnă cu simptome de boală (pete brunificate) pe mediul nutritiv solid *Potato Dextrose Agar* (PDA), identificate prin analize macro- și microscopice. Filtratul de cultură al ciupercii *F. oxysporum* a fost obținut prin inocularea miceliului în mediul nutritiv Czapek și cultivarea ulterioară la temperatura de 22...24°C, timp de 21 zile [Методы экспериментальной микологии. Киев, Наукова думка, 1982, p. 550].
55

Boabele tratate au fost plasate în cutii Petri pe hârtie de filtru umectată cu apă distilată la 22°C pentru 6 zile.

60 Reacția plantelor a fost apreciată în baza capacității germinative și după lungimea rădăcinii embrionare. Experiența s-a efectuat în 3 repetiții. Datele au fost prelucrate în programul STATISTICA 7.

Rezultatele obținute denotă că infectarea boabelor cu FC *F. oxysporum* diminuează facultatea germinativă a semințelor cu 33,4% și creșterea rădăcinii embrionare cu 35,7% comparativ cu varianta martor (tabelul 1). Aceasta demonstrează toxicitatea ciupercii care provoacă putregaiul de rădăcină.

- 5 În cazul semințelor tratate cu GSS în concentrațiile 10^{-5} ... 10^{-2} %, plantele au prezentat un nivel de germinație de 76,7 ... 80,0% și o creștere a lungimii rădăcinii de 51,46 ... 58,69 mm, iar cu soluții de GIS – de 86,7... 96,7% și 55,67...59,59 mm, respectiv. Pentru ambele glicozide sumare, cele mai eficiente concentrații au fost 10^{-4} și 10^{-3} %, în cazul cărora GSS, comparativ cu varianta FC *F.oxysporum*, au prezentat pentru germinație și lungimea rădăcinii un efect de
- 10 +16,7...+23,4% și, respectiv, +13,1 ... +21,1%, iar soluțiile de GIS: +35,0% și, respectiv, +23,4...+30,4%.

Influența genistifoliozidelor iridoidice sumare asupra reacției plantelor de grâu la filtratul de cultură *F. oxysporum*

15

Tabelul 1

Nr.	Varianta/concentrația, %	Germinația, %	Lungimea rădăcinii embrionare, mm	% în raport cu FC <i>F.oxysporum</i>
1	Martor (H ₂ O)	96,7	80,81±1,80	155,49
2	FC <i>F. oxysporum</i>	63,3	51,97±2,57	-
3	FC <i>F. oxysporum</i> + GSS, 10^{-2}	80,0	58,69±2,03*	112,94
4	FC <i>F. oxysporum</i> + GSS, 10^{-3}	86,7	62,94±1,86*	121,11
5	FC <i>F. oxysporum</i> + GSS, 10^{-4}	80,0	58,77±1,02*	113,09
6	FC <i>F. oxysporum</i> + GSS, 10^{-5}	76,7	51,46±1,46	99,02
7	FC <i>F. oxysporum</i> + GIS, 10^{-2}	96,7	59,59±1,82*	114,66
8	FC <i>F. oxysporum</i> + GIS, 10^{-3}	98,3	67,75±1,63*	130,36
9	FC <i>F. oxysporum</i> + GIS, 10^{-4}	98,3	64,15±1,59*	123,44
10	FC <i>F. oxysporum</i> + GIS, 10^{-5}	86,7	55,67±0,94	107,12

*- veridic în raport cu FC *F. oxysporum* la $p \leq 0,05$.

- Astfel, tratarea boabelor cu GIS din *Linaria genistifolia* L. are o eficiență mai înaltă în ceea ce privește capacitatea de germinație și creșterea rădăcinii embrionare, în comparație cu soluția apropiată – GSS din *T. foenum-graecum*, la infectarea cu *F.oxysporum*.
- 20 Prin urmare, procedeul elaborat este tehnologic simplu, eficient și permite utilizarea substanțelor naturale, ecologic inofensive, și anume a genistifoliozidelor, obținute din planta *Linaria genistifolia* L. Mill care crește în flora spontană și poate fi colectată în cantități mari, în agricultură în calitate de substanțe protectoare, în cazul infecțiilor fungice care afectează

- 25 germinația, creșterea și dezvoltarea rădăcinii de grâu.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 2716 G2 2005.03.31

(57) Revendicări:

Procedeu de tratare a grâului de toamnă contra *Fusarium oxysporum*, care prevede inmuiera semințelor de grâu înainte de semănat în decurs de 4 ore în soluție apoasă de 10^{-5} ... 10^{-3} % de extract sumar de glicozide iridoidice din plantele *Linaria genistifolia* L. Mill, obținut prin extragere cu metanol.

Director Departament:

GUȘAN Ala

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

DUBĂSARU Nina

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: s 2014 0029 (32) Data de prioritate recunoscută:
 (22) Data depozit: 2014.03.07 Raport de documentare internațională: ☐ da
 (71) Solicitant: **INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD; INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD**
 (54) Titlul: **Procedeu de sporire a rezistenței grâului de toamnă la *Fusarium oxysporum***

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *A01C 1/06* (2006.01) *C07H 17/04* (2006.01)
A01C 1/08 (2006.01) *C07D 311/94* (2006.01)
A01N 43/08 (2006.01) *A01P 3/00* (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): A01C 1/06

A01N 43/08
 A01C 1/08
 A01N 43/08
 C07H17/04
 C07D311/94
 A01P 3/00
 grau
 fusarium
 glicozid

"Worldwide" (Espacenet):

EA, CIS (Eapatis):

A01C 1/06
 A01N 43/08
 A01C 1/08
 A01N 43/08
 C07H17/04
 C07D311/94
 A01P 3/00

пшеница
 fusarium
 гликозид

SU (nonpublic):

Alte BD –

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

<http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D1%80%D0%B8%D0%B4%D0%BE%D0%B8%D0%B4%D1%8B>
<http://www.cnaa.md/thesis/20201/>
<http://www.freewebz.com/vladchindea/part4.pdf>
<http://ortodoxiesauomoarte1.files.wordpress.com/2011/10/ghidul-plantelor-medicinale-si-aromatice->

[de-la-a-la-z.pdf](#)
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pca.2800050110/abstract>
<https://getinfo.de/app/Genistifolin-and-Other-Iridoid-Glucosides-from/id/BLSE%3AEN002644599>
http://www.chem.asu.ru/chemwood/volume10/2006_02/0602_063.pdf
<http://elib.bsu.by/bitstream/123456789/33468/1/014.pdf>
http://www.bio.bsu.by/fbr/files/konf_2013_materials.pdf

file:///C:/Users/Dubasaru/Downloads/%D0%93%D1%83%D1%81%D0%B5%D0%B2_2011.pdf
lib.orensau.ru/component/docman/doc_download/159---
http://www.alcedolid.ro/wp-content/uploads/2014/03/ghid-2014_site.pdf

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D, C	MD 2716 G2 2005.03.31	1
A	MD 3866 C2 2009.03.31	1
A	MD 2037 G2 2003.06.30	1
A	MD 365 Z 2011.05.31	1
A	RU 2069940 C1 1996.12.10	1

* categoriile speciale ale documentelor citate:

A – document care definește stadiul anterior general	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 pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2014.07.01

Examinator DUBĂSARU Nina