



MD 45 Z 2009.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **45** ⁽¹³⁾ **Z**
(51) Int. Cl.: *A01H 1/04* (2006.01)
A01H 5/02 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2009 0067 (22) Data depozit: 2009.04.23	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2009.07.31, BOPI nr. 7/2009
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: CRAVCENCO Anatol, MD; ANTOCI Liudmila, MD; SALTANOVICI Tatiana, MD; JACOTĂ Anatol, 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
înalte

(57) Rezumat:

1

2

Invenția se referă la agricultură, în particular la o metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi înalte.

Metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi înalte include colectarea florilor complet deschise, separarea anterelor și polenului, divizarea polenului în trei părți, amplasarea fiecărei părți în termostate cu trei fonduri de temperatură: 38, 45 și 48°C și tratarea polenului la fiecare temperatură menționată timp de 3, 4 și 6 ore, semănarea polenului tratat pe mediul nutritiv, care conține, în % mas.: zaharoză 15, acid boric 0,006 și apă distilată restul, și cultivarea lui timp de trei ore la temperatura de 27°C, determinarea viabilității polenului după raportul dintre numărul de grăun-

5 cioare de polen germinate și numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente, cu prelucrarea ulterioară a datelor obținute prin metoda de analiză dispersională trifactorială cu determinarea indicilor capacității de adaptabilitate integrală după valorile medii ale viabilității polenului pe toate fondurile de temperatură, capacității de adaptabilitate specifică după acțiunea de lungă durată a temperaturii și capacității de adaptabilitate specifică după acțiunea nivelului înalt al temperaturilor, fiind selectate genotipurile care au indicii determinați mai înalți.

15 Revendicări: 1

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, în particular la o metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi înalte.

5 Invenția poate fi utilizată în studierea geneticii de adaptivitate a plantelor și crearea soiurilor și hibrizilor care posedă o adaptivitate înaltă la temperaturile înalte după indicii de valabilitate a gametofitului masculin.

10 Este cunoscută metoda de evaluare a adaptivității integrale și specifice a genotipurilor sporofitelor pe baza cultivării lor pe medii ecologice [1]. Însă această metodă necesită efectuarea unui volum enorm de lucru și cheltuieli financiare considerabile, în consecință se obțin rezultate nepronozate în condițiile variabile ale mediului. Totodată această metodă permite evaluarea adaptivității plantelor doar la condițiile „abstracte” ale mediului în funcție de regiune și condițiile anului fără evidența caracterelor concrete și nu permite caracterizarea genotipurilor pentru utilizarea lor în anumite condiții ecologice, precum și selectarea dirijată a soiurilor.

15 Problema pe care o rezolvă invenția constă în posibilitatea evaluării adaptivității integrale și specifice a genotipurilor la temperaturile înalte după viabilitatea gametofitului masculin și constă în creșterea nivelului de autenticitate în procesul de ameliorare a genotipurilor valoroase.

20 Metoda, conform invenției, include colectarea florilor complet deschise, separarea anterelor și polenului, divizarea polenului în trei părți, amplasarea fiecărei părți în termostate cu trei fonduri de temperatură: 38, 45 și 48°C și tratarea polenului la fiecare temperatură menționată timp de 3, 4 și 6 ore, semănarea polenului tratat pe mediul nutritiv, care conține, în % mas.: zaharoză 15, acid boric 0,006 și apă distilată restul, și cultivarea lui timp de trei ore la temperatura de 27°C, determinarea viabilității polenului după raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente, cu prelucrarea ulterioară a datelor obținute prin metoda de analiză dispersională trifactorială cu determinarea indicilor capacității de adaptabilitate integrală (CAI) după valorile medii ale viabilității polenului pe toate fondurile de temperatură, capacității de adaptabilitate specifică (CAS) după acțiunea de lungă durată a temperaturii (CAS-L) și capacității de adaptabilitate specifică după acțiunea nivelului înalt al temperaturilor (CAS-T), fiind selectate genotipurile care au indicii determinați mai înalți.

30 Rezultatul constă în posibilitatea utilizării indicilor gametofitului masculin, așa ca viabilitatea polenului pentru diferențierea genotipurilor după adaptivitatea integrală și specifică, ce are o mare importanță pentru alegerea componenților la hibridare, la analiza populațiilor segregante și permite dirijarea procesului de selecție pentru obținerea soiurilor și hibrizilor rezistenți la temperaturile înalte, omologați luând în considerare zonele ecologice.

35 Metoda dată permite controlarea CAI, CAS-L și CAS-T la toate etapele de ameliorare și accelerare a procesului de obținere a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturile înalte. Această metodă nu necesită cheltuieli economice considerabile și permite evaluarea unui număr mare de genotipuri diferite (la necesitate, câteva sute) și populații întregi.

Exemplu de realizare a invenției

40 Pentru diferențierea și selectarea genotipurilor cu adaptivitate integrală și specifică s-au luat șase soiuri de tomate: Delta, Veneț, C-70, Victoria, Nistru și Rio-Grande, la care s-au colectat florile complet deschise de la 15...20 de plante de fiecare soi, s-au înlăturat anterele, după care au fost transferate în pachete de hartie pergament pentru uscare ușoară în condiții de temperatură de 25...26°C timp de 6 ore. După expirarea termenului stabilit, polenul a fost separat din antere prin scuturare mecanică ușoară, și așezat pe fundul pachetului. Astfel polenul fiecărui genotip s-a divizat în trei părți, care ulterior se amplasează în termostați cu regimul de temperaturi de 38, 45 și 48°C. Din fiecare partidă 45 peste 3, 4 și 6 ore se separă o parte de polen și se seamănă într-o picătură de mediu nutritiv cu componența de 15% zaharoză și 0,006% acid boric și apă distilată pe sticlă portobiect. Sticla cu polenul semănat se amplasează în cutia Petri pe hârtie de filtru umectată și se cultivă în termostați la temperatura de 27°C timp de 3 ore. După expirarea termenului stabilit, s-a efectuat la microscop numărarea grăuncioarelor de polen germinate și a celor negerminate și s-a calculat viabilitatea polenului în procente. Astfel s-au obținut 9 indici de valori $P_1...P_9$ și erorile lor, pe baza cărora s-a alcătuit tabelul 1.

MD 45 Z 2009.07.31

4

Tabelul 1

Algoritmul și viabilitatea polenului

Algoritmul			Viabilitatea polenului, %		
Factorul A, genotipul	Factorul B, timpul acțiunii asupra polenului	Factorul C, temperatura	P+S _p	P±S _p	P-S _p
1	2	3	4	5	6
Delta	3 ore	38°C	23	20,4±2,6	17,8
		45°C	35,7	33,5±2,2	31,3
		48°C	43,7	40,8±2,9	37,9
	4 ore	38°C	23,5	21,7±1,8	19,9
		45°C	71,5	69±2,5	66,5
		48°C	77,6	75±2,6	72,4
	6 ore	38°C	39,4	36,5±2,9	33,6
		45°C	19,8	18±1,8	16,2
		48°C	55,4	52±3,4	48,6
Venet	3 ore	38°C	47,5	44,3±3,2	41,1
		45°C	78,1	76±2,1	73,9
		48°C	81	79±2,0	77
	4 ore	38°C	43,1	40,6±2,5	38,1
		45°C	51,2	48,6±2,6	46
		48°C	41,5	38,5±3,0	35,5
	6 ore	38°C	67,2	65,3±1,9	63,4
		45°C	44,6	42,4±2,2	40,2
		48°C	57,9	54,7±3,2	51,5
C-70	3 ore	38°C	65	61,5±3,5	58
		45°C	45,2	42,1±3,1	39
		48°C	30,7	28,2±2,5	25,7
	4 ore	38°C	21	18,6±2,4	16,2
		45°C	53,9	50,3±3,6	46,7
		48°C	51	47±4,0	43
	6 ore	38°C	45,6	43±2,6	40,4
		45°C	20,2	18±2,2	15,8
		48°C	52,3	48,8±3,5	45,3
Victoria	3 ore	38°C	70	67,7±2,3	65,4
		45°C	60	57,5±2,5	55
		48°C	35,8	33,1±2,7	30,3
	4 ore	38°C	67,1	64,7±2,4	62,3
		45°C	66,9	64,0±2,9	61,1
		48°C	47,7	44,7±3,0	41,7
	6 ore	38°C	9,7	8,5±1,2	7,3
		45°C	31,2	28,4±2,8	25,6
Nistru	3 ore	48°C	51,4	48,4±3,0	45,4
		38°C	57,9	54,4±3,5	50,9
		45°C	30,6	28,3±2,3	26
	4 ore	48°C	25,3	23±2,3	20,7
		38°C	13,8	12±1,8	10,2
		45°C	19,1	17±2,1	14,9
		48°C	18	16,3±1,7	14,6
	6 ore	38°C	52	48,1±3,9	44,2
		45°C	25,1	23,1±2,0	21,1
		48°C	40,6	37,3±3,3	34,0
Rio-Grande	3 ore	38°C	38,5	35,0±3,5	31,5
		45°C	22,2	20,5±1,7	18,8
		48°C	86,6	84,7±1,9	82,8
	4 ore	38°C	54,3	51,6±2,7	48,9
		45°C	49,4	46,6±2,8	43,8
		48°C	90,0	88,2±1,8	86,4
	6 ore	38°C	40,8	38,7±2,1	36,6
		45°C	57,5	55±2,5	52,5
		48°C	72,2	69,7±2,5	67,2

MD 45 Z 2009.07.31

5

După alcătuirea tabelului cu datele experimentale a fost efectuată prelucrarea lor la calculator într-un complex dispersional trifactorial utilizând programul STATGRAF-plus v.2.1 cu scopul stabilirii autenticității influenței fiecărui factor (genotip, durata acțiunii termice, temperatură) și obținerii valorilor CAI și CAS și stabilirii diferenței minime semnificative (DMS). Pe baza rezultatelor obținute s-a stabilit: factorii studiați autentic influențează asupra variabilității indicelui viabilității polenului la un nivel înalt de probabilitate ($P < 0,001$) (tabelul 2).

Tabelul 2

10 Rezultatele analizei dispersonale in complexul trifactorial

Factorii și interacțiunea lor	Gradul de libertate	Dispersia S^2	Criteriul F(t)	Criteriul F(t)	Nivelul probabilității
1	2	3	4	5	6
Genotipul, factorul A	5	2603,6	372,9	2,3	0,0000
Durata acțiunii termice, factorul B	2	438,5	62,8	4,82	0,0000
Nivelul de temperatură, factorul C	2	1697,5	243,1	4,82	0,0000
Interacțiunea factorilor A x B	10	1294,4	185,4	2,51	0,0000
Interacțiunea factorilor A x C	10	1202,7	172,2	2,51	0,0000
Interacțiunea factorilor B x C	4	958,3	137,2	3,51	0,0000
Interacțiunea A x B x C	20	779,9	111,7	1,98	0,0000
Dispersia riziduală	108	6,98			

Pentru evidențierea genotipurilor cu adaptivitate specifică (CAS-L) se utilizează rezultatele analizei dispersonale a valorilor medii ale viabilității polenului pe fondurile cu durata de acțiune de 6 ore și temperaturile 38, 45, 48°C, totodată cu cât sunt mai înalte valorile viabilității polenului, cu atât genotipul este mai adaptiv la acțiunea de lungă durată a temperaturii (tabelul 3). Pentru stabilirea genotipurilor cu adaptivitate specifică (CAS-T) se utilizează rezultatele analizei dispersonale a valorilor medii ale viabilității polenului pe fondul de temperatură de 48°C cu durata de acțiune de 3, 4 și 6 ore. Acest criteriu indică la posibilitatea genotipurilor de a suporta temperaturile înalte, adică ele posedă capacitate de adaptare specifică și pot păstra un nivel înalt ale viabilității polenului în aceste condiții (tabelul 3).

Tabelul 3

Indicii capacității de adaptivitate a genotipurilor
(conform rezultatelor analizei dispersonale)

25

Genotipul	CAI	CAS-L la durata acțiunii termice (6 ore)	CAS-T la temperatura 48°C cu durata 3, 4, 6 ore
Delta	40,6	35,0	55,9
Veneț	54,4	54,1	57,4
C-70	39,7	36,6	41,3
Victorina	46,3	28,4	42,0
Nistru	28,8	36,1	25,5
Rio-Grande	54,4	54,4	80,8
DMS*	1,85	2,76	2,76

* După rezultatele analizei dispersonale se calculează indicele DMS - diferența minimă semnificativă între soiuri, dacă diferența între 2 soiuri este mai mare decât acest indice, deosebirile sunt semnificative, acest fapt denotă deosebirile unui soi față de altul.

După cum se vede din datele tabelului 3, soiurile Veneț și Rio-Grande dispun de capacitate de adaptivitate specifică similară și cea mai înaltă. Soiul Victorina veridic cedează acestor soiuri, însă la soiurile Delta și C-70 acest indice este autentic și semnificativ mai mic. Cea mai joasă adaptivitate integrală o posedă soiul Nistru. Este necesar de menționat că soiurile Veneț și Rio-Grande posedă o adaptivitate specifică mai înaltă (CAS-L) și pot suporta acțiunea de lungă durată a temperaturii înalte. După acest indice le cedează considerabil soiurile Delta, C-70 și Nistru, dar Victorina se plasează pe ultimul loc. După capacitatea de toleranță față de acțiunea temperaturilor înalte soiul Rio-Grande posedă cea mai înaltă capacitate de adaptivitate specifică (CAS-T), soiurile Veneț și Delta îi cedează după acest indice, însă valoarea cea mai mică a acestui indice le revine soiurilor Victorina, C-70 și mai ales Nistru. Doar soiul Rio-Grande posedă cele trei tipuri de adaptivitate cu cele mai înalte valori.

MD 45 Z 2009.07.31

6

În consecință, metoda propusă permite cu o autenticitate înaltă diferențierea și selectarea genotipurilor, ce posedă diferit nivel de adaptivitate integrală la temperaturile înalte și la soluționarea problemelor genetice și ameliorative concrete.

5

(57) Revendicări:

- 10 Metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi înalte care include colectarea florilor complet deschise, separarea anterelor și polenului, divizarea polenului în trei părți, amplasarea fiecărei părți în termostate cu trei fonduri de temperatură: 38, 45 și 48°C și tratarea polenului la fiecare temperatură menționată timp de 3, 4 și 6 ore, semănarea polenului tratat pe mediul nutritiv, care conține, în % mas.: zaharoză 15, acid boric 0,006 și apă distilată restul, și cultivarea lui
- 15 timp de trei ore la temperatura de 27°C, determinarea viabilității polenului după raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente, cu prelucrarea ulterioară a datelor obținute prin metoda de analiză dispersională trifactorială cu determinarea indicilor capacității de adaptabilitate integrală după valorile medii ale viabilității polenului pe toate fondurile de temperatură, capacității de adaptabilitate specifică după acțiunea de lungă durată a temperaturii și capacității de adaptabilitate specifică după acțiunea nivelului înalt al temperaturilor, fiind
- 20 selectate genotipurile care au indicii determinați mai înalți.

25

(56) Referințe bibliografice:

1. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск, Тэхналогія, 1997, с. 78-82

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

BANTAȘ Valentina

Redactor:

CANȚER Svetlana

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 0067	(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2009.04.23	(86) Cerere internațională PCT:
Prioritatea invocată: (31) nr.: 32) data: 33) țara: (51) IPC: Int. Cl.: A01H 1/04 (2006.01) A01H 5/02 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul: Metoda de selectare a genotipurilor de tomate cu capacitate de adaptivitate integrală și specifică la temperaturile înalte (71) Solicitantul: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	
I. Condiția de unitate a invenției ☐ satisface ☐ nu satisface. Notă:	
II. Minimul de documente consultate: MD, EA	
III. Domeniul de documentare: a) Indicii IPC (ultima redacție): b) Termeni caracteristici, cuvinte-cheie, sinonime: selectarea genotipurilor de tomate, capacitate de adaptivitate integrală și specifică la temperaturile înalte, rezistență la secetă	
IV. Documente considerate a fi relevante	
Categoria	Date de identificare ale documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente
A	MD 3374 G2 2007.08.31
A	MD 3739 F1 2008.11.30
A	SU 1607089 A1
A	Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск, Техналогия, 1997, с. 78-82
	Relevant față de revendicarea nr.
	1
	1
	1
	1
Categorii de documente citate	
A - document care definește stadiul anterior în 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 înainte 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 aceeași 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 în descrierea cererii de brevet
Data finalizării documentării 2009.05.20	
Examinatorul Bantaș Valentina	