



MD 3219 G2 2007.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3219** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) Int. Cl.: *A01H 4/00* (2006.01)
A01G 31/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2006 0198 (22) Data depozit: 2006.07.27	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2007.01.31, BOPI nr. 1/2007
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: MALINOC Angela, MD; CĂLUGĂRU Tatiana, MD; DELEAN Tatiana, MD; DASCALIUC Alexandru, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) **Procedeu de micropropagare a gherberiei *in vitro***

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la biotehnologie și poate fi
utilizată pentru micropropagarea gherberiei *in vitro*.

Procedeul de micropropagare a gherberiei *in vitro* include cultivarea explantelor lăstarilor axilari, obținute din apexurile vegetative, pe mediul nutritiv Muraschige-Skoog, cu adaos de tiamină-HCl, acid nicotinic, piridoxină-HCl, chinetină și benziladenină.

Noutatea procedurii constă în aceea că în mediul nutritiv se adaugă suplimentar acid gib-

2
berellic, componenții fiind adăugați în mediu în următorul raport, mg/L: tiamină-HCl - 0,1; acid nicotinic - 0,5; piridoxină-HCl - 0,5; chinetină - 0,3; benziladenină - 1,0; acid gibberellic - 1,0.

Revendicări. 1

MD 3219 G2 2007.01.31

3

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată pentru micropropagarea plantelor de gherberă *in vitro*.

Este cunoscută metoda de micropropagare a plantelor de gherberă, ce constă în valorificarea mugurilor axilari. Pentru activarea și creșterea intensivă a mugurilor laterali, formați de lăstari axilari de ordinul doi și trei, explanții primari au fost cultivați pe mediu nutritiv de bază ce conține săruri minerale după Murashige-Skoog (Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 1962, v. 15, № 95, p.473) și suplinit cu inozită – 100 mg/L, tiamină-HCl – 1 mg/L, acid nicotinic – 1 mg/L, piridoxină-HCl – 1 mg/L, chinină sau 6-benzilaminopurină – 0,3...1,0 mg/L, zaharoză – 3%, agar – 0,7%. În variantele experimentelor au fost utilizate diferite concentrații ale substanțelor hormonale din grupa citochininelor (chinină, zeatină, benziladenină) și din grupa auxinelor. Valoarea pH-ului a fost ajustată la 5,7 până la autoclavare [1]. Însă acest procedeu are un neajuns ce se manifestă printr-un coeficient relativ scăzut de micropropagare (1:10...12), ceea ce permite obținerea a 31 x 10¹¹ plante anual. Neajunsul menționat poate fi înlăturat cu ajutorul procedurii solicitat.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea coeficientului de multiplicare a plantelor de gherberă pe calea modificării conținutului mediului nutritiv utilizat la micropropagare.

Esența invenției constă în aceea că procedeu de micropropagare a gherberii *in vitro* include cultivarea explantelor lăstarilor axilari, obținute din apexurile vegetative pe mediul nutritiv Murashige-Skoog, cu următorii componenți luați în următorul raport, (mg/L): tiamină-HCl – 0,1; acid nicotinic – 0,5, piridoxină-HCl – 0,5, chinină – 0,3, benziladenină – 1,0; acid gibberellic – 1,0.

Noutatea invenției constă în:

- Posibilitatea de a obține în decurs de 2...3 săptămâni dintr-un explant 18...20 de lăstari cu 2 frunze;
- Diminuarea sinecostului procesului de micropropagare a plantelor de gherberă din contul reducerii timpului de cultivare;
- Sporirea coeficientului de micropropagare anuală de la 31 x 10¹¹ până la 22 x 10¹⁴ plante.

Rezultatul constă în aceea că introducerea în mediul nutritiv de bază Murashige-Skoog a fitohormonului acidului gibberellic asigură sporirea coeficientului de micropropagare până la 22 x 10¹⁴ plante anual și obținerea plantelor de gherberă viabile.

Exemplu de realizare a invenției.

Plantele de gherberă din soiul Miraj au fost cultivate în seră la regimul de temperatură 24°C ziua și 17°C noaptea, cu fotoperioada de 16 ore lumină și 8 ore întuneric. Ca material inițial au servit explanții prelevați din apexurile vegetative ale lăstarilor de gherberă cu lungimea de 2...3 mm. Vârfurile lăstarilor utilizați pentru micropropagarea ulterioară au fost supuși sterilizării. Lăstari de la planta-mamă au fost secționați, înlăturând frunzele și prelucrați cu alcool de 70°. Lăstarii au fost introduși în soluție cu preparatul comercial ACE (agent în albire pe bază de clor) de 20% pe parcursul a 7 min și spălați de trei ori cu apă sterilă. Mugurii au fost extrași din apexurile lăstarilor. Ei conțineau un con de creștere acoperit cu 2...3 perechi de frunze.

O parte din explanții (controlul) au fost cultivați pe mediul nutritiv Murashige-Skoog, ce conținea săruri minerale (mg/L): NH₄NO₃ – 1650,0; KNO₃ – 1900,0; MgSO₄ x 7H₂O – 370,0; KH₂PO₄ – 170,0; CaCl₂ x 2H₂O – 440,0; H₃BO₃ – 6,2; MnSO₄ x 4H₂O – 22,3; CoCl₂ x 6H₂O – 0,025; CuSO₄ x 5H₂O – 0,025; ZnSO₄ x 7H₂O – 8,6; Na₂MoO₄ x 2H₂O – 0,25; KI – 0,83; FeSO₄ x 7H₂O – 27,8; Na₂EDTA – 37,3.

A doua parte a fost cultivată pe mediul nutritiv Murashige-Skoog cu suplینirea următorilor ingrediente (mg/L): inozită – 100,0; tiamină-HCl – 1,0; acid nicotinic – 1,0; piridoxină-HCl – 1,0; chinină – 0,5; zaharoză 3%; agar 0,7% (cea mai apropiată soluție); valoarea pH-ului a fost ajustată înainte de autoclavare până la 5,7.

A treia parte de explanții a fost cultivată pe mediul nutritiv Murashige-Skoog cu suplینirea ingredientelor (mg/L): tiamină-HCl – 0,1; acid nicotinic – 0,5; piridoxină-HCl – 0,5; chinină – 0,3; benziladenină – 1,0 și acid gibberellic – 1,0. Valoarea pH-ului a fost ajustată înainte de autoclavare până la 5,7. Astfel, mediile de cultivare se deosebeau după conținutul unor componenți, doar mediul de cultivare a părții a treia conținea suplimentar acid gibberellic. Explanții celor trei variante au fost cultivate la temperatura 26°C, cu o fotoperioadă de 16 ore la lumină (1000 lux) și 8 ore la întuneric. Umiditatea relativă a aerului a fost de 70%.

Creșterea și dezvoltarea apexului izolat din lăstar, pe mediul nutritiv Murashige-Skoog, a fost observată după 7...8 zile de la momentul inoculării, iar după 21 zile au apărut primele perechi de frunze; a fost observată formarea rozetei din 3...4 frunze. La subțioara fiecărei frunze se inițiază creșterea mugurelui

MD 3219 G2 2007.01.31

4

axilar. După două săptămâni au apărut rozete axilare de ordinul doi și trei. Apexul inițial al lăstarului continua să se dezvolte vegetativ și să formeze noi primordii foliare.

5 Plantele cultivate, în decurs de trei săptămâni, după metoda deja cunoscută și cea propusă de noi, se deosebeau prin faptul că în primul caz s-au format 10...12 lăstari, iar în al doilea caz – 18...20 de lăstari cu 2 frunze. Prin urmare, introducerea în mediul nutritiv a ingredientilor suplimentari, și anume a fitohormonilor activează formarea numărului de lăstari cu 2 frunze. Totodată, raportul optimal al ingredientilor prezenți în mediul nutritiv sporește considerabil coeficientul de micropropagare a plantelor de gherberă.

10

(57) Revendicare:

15 Procedeu de micropropagare a gherberii *in vitro*, care include cultivarea explantelor lăstarilor axilari, obținute din apexurile vegetative pe mediul nutritiv Muraschige-Skoog, cu adaos de tiamină-HCl, acid nicotinic, piridoxină-HCl, chinetină și benziladenină, **caracterizat prin aceea că** în mediul nutritiv se adaugă suplimentar acid gibberellic, componenții fiind adăugați în mediu în următorul raport, mg/L: 20 tiamină-HCl - 0,1; acid nicotinic - 0,5; piridoxină-HCl - 0,5; chinetină - 0,3; benziladenină - 1,0; acid gibberellic - 1,0.

25

(56) Referințe bibliografice:

1. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Принципы микроклонального размножения растений на примере герберы. Известия АН СССР, Серия Биологическая, 1982, №1, p. 126-129

Șef Secție: GROSU Petru

Examinator: BAZARENCO Tatiana

Redactor: UNGUREANU Mihail

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2006 0198		
(22) Data depozit: 2006.07.27		
(51) : Int.Cl: <i>A01H 4/00</i> (2006.01) <i>A01G 31/00</i> (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul : Procedeu de micropropagare a gherberii in vitro (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : gherberă, micropropagare in vitro		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))		
(MD, EA, SU, inclusiv și colecția „nepublică”)		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Принципы микроклонального размножения растений на примере герберы. Известия АН СССР, с Серия Биологическая, 1982, №1, р. 126-129	
☐ 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		2006.11.06
Examinatorul		Bazarenco Tatiana

RAPORT DE DOCUMENTARE

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