



MD 1773 F1

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1773⁽¹³⁾ F1
(51) Int. Cl.⁷: A 01 G 7/00;
G 01 N 21/00

(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 2000 0175 (22) Data depozit: 2000.10.18	(43) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului pe răspunderea solicitantului: 2001.11.30, BOPI nr. 11/2001
(71) Solicitant: Institutul de Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD	
(72) Inventatori: TUDORACHE Gheorghe, MD; SCUTARU Iurii, MD; TOMA Simion, MD; NEGRU Petru, MD; ȘIȘCANU Gheorghe, MD; CHIRILOV Eleonora, MD	
(73) Titular: Institutul de Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD	

(54) Metodă de determinare a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la agricultură, în particular la viticultură, la determinarea rezistenței la ger a plantelor de viță de vie.

Esența invenției constă în elaborarea metodei de determinare a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie, care include colectarea probelor medii de la planta studiată, înghețarea lor într-o termobarocameră specială, prepararea mostrelor de liberi/ochi, liofilizarea și măcinarea lor până la stare pulverulentă, extragerea glucidelor și separarea lor prin cromatografie preparativă în strat subțire de silicagel, eluarea hexozelor glucoză și fructoză, trasarea spectrelor lor în domeniul infraroșu și măsurarea densităților optice ale

2

soluțiilor în regiunea benzilor de absorbție ce corespund oscilațiilor de valență asimetrică $v_{as,OH}$ (D_1) și v_{as,CH_2} (D_2). Determinarea rezistenței plantelor la ger se realizează pe baza analizei comparative a rapoartelor D_1/D_2 pentru planta studiată și soiul cunoscut. Cu cât raportul D_1/D_2 pentru planta studiată este mai mare în comparație cu soiul cunoscut, cu atât este mai înaltă rezistența plantelor la ger.

5 Rezultatul constă în majorarea preciziei de determinare a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie.

10 Revendicări: 1

15

MD 1773 F1

3

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, în particular la viticultură, la determinarea rezistenței la ger a plantelor de viță de vie.

5 Este cunoscută metoda de determinare a rezistenței la ger [1], conform căreia se înregistrează fluorescența frunzelor până la și după răcire în intervalul de spectru 660-820 μm , după valorile căreia se determină rezistența la ger. Dezavantajul acestei metode constă în aceea că în fiecare caz aparte temperatura inițială a frunzelor este variată, iar răcirea lor bruscă până la 0°C decurge neuniform, fapt ce reduce din exactitatea rezultatelor. Totodată, în perioada de iarnă se afectează de ger, în primul rând, ochiurile și țesuturile liberului, de aceea în studiu este de dorit să fie antrenate anume aceste organe și țesuturi.

10 Este cunoscută de asemenea metoda de laborator de apreciere a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie [2], conform căreia are loc înghețarea artificială a plantelor în întregime sau parțial la diferite temperaturi în instalații speciale cu determinarea ulterioară a gradului de vătămare a ochiurilor și țesuturilor liberului după culoare. Dezavantajul acestei metode constă în aceea că certificarea gradului de afectare se produce vizual, conform culorii brune-cenușii, fapt ce poate conduce la confuzii subiective. Culoarea brună-cenușie a țesuturilor nu totdeauna este identică cu vătămarea termică sau pieirea lor, ceea ce de asemenea contribuie la reducerea autenticității rezultatelor. Totodată, pentru determinarea rezistenței la ger este necesar de a avea o probă medie de la 10-15 plante, fapt care în selecție nu tot timpul este posibil.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în mărirea exactității și reducerea confuziilor subiective în determinarea rezistenței la ger a plantelor de viță de vie.

20 Esența invenției constă în determinarea rezistenței la ger a plantelor de viță de vie, care include colectarea probelor medii de la planta studiată, înghețarea lor într-o termobarocameră specială, prepararea mostrelor de liberi/ochi, liofilizarea și măcinarea lor până la stare pulverulentă, extragerea glucidelor și separarea lor prin utilizarea cromatografiei preparative în strat subțire de silicagel, eluarea hexozelor glucoză și fructoză, trasarea spectrelor lor în domeniul infraroșu și măsurarea densităților optice ale soluțiilor în regiunea benzilor ce corespund oscilațiilor de valență asimetrică $\nu_{\text{as OH}}$ (D_1) și $\nu_{\text{as CH}_2}$ (D_2); cu cât raportul D_1/D_2 este mai mare, cu atât este mai mare și rezistența plantelor la ger.

Rezultatul constă în majorarea preciziei de determinare a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie.

30 *Exemplu.* Cercetările au fost efectuate asupra plantelor de viță de vie de două soiuri de masă: Cardinal, slab rezistent la ger și Struguraș, care dispune de o rezistență relativă la ger. În perioada de repaus organic, când se manifestă cea mai sporită rezistență la ger, de la fiecare soi se colectează proba medie de câte 9-15 corzi care se expun la îngheț în termobarocamere speciale. Probele au fost supuse la temperaturile de -5°C, -10°C, -15°C și -20°C, cu modificarea gradientului de temperatură de 1°C în decurs de 1 oră. După acțiunea temperaturilor negative nominalizate se prepară material proaspăt de liber în azot lichid, apoi se liofilizează și se macină până la stare pulverulentă. În studiu pot fi utilizate și mostre de muguri dormanți.

35 Pentru extragerea glucidelor 1 g de praf de material liofilizat se transferă într-o colbă de 100 cm^3 , apoi se adaugă 30 cm^3 de alcool etilic de 90% și se agită timp de 6-8 ore. Extractul se filtrează într-o piua de porțelan și se evaporă până la reziduu sec în condiții de laborator. Cu ajutorul a 10 cm^3 de alcool reziduu se recuperează și se transferă într-o eprubetă prevăzută cu dop, se închide ermetic și se păstrează în frigider. Paralel se pregătesc și soluțiile standard de hexoze, câte 20 mg de glucoză și de fructoză în 10 cm^3 de etanol de 96% vol.

40 Separarea hexozelor se efectuează prin utilizarea cromatografiei preparative în strat subțire pe plăci cu silicagel (G, KCK, $g = 0,2 \text{ mm}$). Pe placa activată 2 ore la temperatura de 100°C se depune la linia de pornire soluția standard în cantitate de 0,01 cm^3 , iar proba de studiu - 0,3 cm^3 . Cromatografia se efectuează într-o cameră din sticlă (150x150x200 mm) prin eluarea cu 200 cm^3 de amestec eluent: n-butanol, acetonă, metanol și apă în raportul volumic de 11:12:6:3. Eluarea se efectuează de 4 ori, placa fiind de fiecare dată uscată cu aer fierbinte în decurs de 20 min. Pentru dezvoltare se folosește sistemul compus din 4 g difenilamină, 4 cm^3 anilină, 20 cm^3 acid ortofosforic de 80% în 200 cm^3 de acetonă. Cu ajutorul pulverizatorului cromatografic sunt dezvoltate numai sectoarele cu soluția standard, cele cu proba de studiu fiind acoperite cu o mască pentru a evita pătrunderea componentilor dezvoltantului în probă. După dezvoltare în părțile laterale apar hexozele standard - glucoza și fructoza. La aceeași înălțime de pe placă se separă silicagelul cu componenții separați din proba cercetată și se transferă într-o colbă cu 10 cm^3 de alcool etilic care se agită timp de 3-4 ore. Pentru înlăturarea silicagelului extractul se centrifughează 15 min (3000 rot./min), se transferă într-o piua de porțelan și se evaporă la aer liber până la reziduu sec. Reziduu se recuperează în 5 cm^3 solvent apolar - tetraclorură de carbon (CCl_4) de puritate spectroscopică, uscat de eventuale urme de apă. Soluțiile de hexoze se studiază spectrofotometric în cuve de NaCl și KRS-5 la spectrofotometrul în infraroșu cu înregistrarea automată a spectrelor, calibrat în prealabil după numărul de undă și intensitate cu mostrele-standard.

MD 1773 F1

4

Studiul spectrului infraroșu al hexozelor extrase și separate din țesuturile liberului plantelor de viță de vie a permis evidențierea a două benzi specifice, influențate de gradul de asociere a lor cu moleculele de apă. Prima bandă de absorbție aparține oscilațiilor asimetrice de valență a grupelor OH cu maximul de absorbție la 3350 cm^{-1} (ν_{asOH}), iar a doua se referă la oscilațiile asimetrice de valență ale grupei CH_2 cu maximul de absorbție la 2960 cm^{-1} (ν_{asCH_2}). În calitate de exponent calitativ al gradului de asociere a grupelor hidroxile din moleculele de apă cu moleculele de hexoze prin intermediul legăturilor de hidrogen intermoleculare a servit densitatea optică maximă (D) a benzilor ν_{asOH} și ν_{asCH_2} .

S-a constatat că rezistența la ger a plantelor de viță de vie este în funcție de raportul dintre densitatea optică D_1 (ν_{asOH}) și D_2 (ν_{asCH_2}) a hexozelor studiate (D_1/D_2).

Conform tabelului, în intervalul de temperatură $-5 \div -20^\circ\text{C}$ acest raport este mai major la soiul Struguraș în comparație cu soiul Cardinal. Valoarea sporită a raportului D_1/D_2 indică un grad mai înalt de asociere intermoleculară a grupelor hidroxile din molecula de apă cu grupele hexozelor celulelor țesutului de liber al soiului Struguraș.

Rezultatele determinării rezistenței la ger a plantelor de viță de vie

Soiul	Conform invenției					Conform celei mai apropiate soluții		
	Raportul densităților optice D_1/D_2				Coeficientul de corelație, r^2	Rezistența la ger, % (-20°C)		
	-5°C	-10°C	-15°C	-20°C		Ochi		
					viabili	vătămați	morți	
Cardinal	1,84	1,70	1,55	1,32	0,9812	56,42±1,73	24,38±0,78	19,20±1,14
Struguraș	1,97	1,92	1,87	1,83	0,9847	78,35±2,18	12,63±1,02	9,02±0,87

Structura realizată, termodinamic convenabilă, provoacă apariția mai multor centre de cristalizare și formarea unui număr mai mare de cristale mici în citoplasmă, reținerea unei cantități mai mari de apă structural asociată și evitarea procesului de deshidratare a celulelor, fenomene ce contribuie la o realizare mai amplă a genotipului și la o manifestare mai deplină a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie de soiul Struguraș în comparație cu soiul Cardinal.

Aplicarea metodei pătratelor minime a demonstrat că coeficientul de corelație (r^2) pentru soiurile Cardinal și Struguraș este de 0,9812 și 0,9847 corespunzător, fapt ce indică la o precizie înaltă a metodei propuse.

MD 1773 F1

5

(57) Revendicare:

5 Metodă de determinare a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie, care include colectarea probelor medii de la fiecare soi/plantă și înghețarea lor într-o termobarocameră specială, **caracterizată prin aceea că** se prepară mostre de liberi/ochi, se liofilizează și se macină până la stare pulverulentă, se extrag glucidele și se separă prin utilizarea cromatografiei preparative în strat subțire de silicagel, se eluează glucoza și fructoza, se trasează spectrul lor în domeniul infraroșu și se măsoară densitățile optice ale soluțiilor în regiunea benzilor de absorbție ce corespund oscilațiilor de valență asimetrică $\nu_{\text{as.OH}}$ (D_1) și $\nu_{\text{as.CH}_2}$ (D_2), se efectuează analiza comparativă a rapoartelor $(D_1/D_2)_s$ pentru planta studiată și $(D_1/D_2)_c$ pentru soiul cunoscut și în cazul în care 10 raportul $(D_1/D_2)_s > (D_1/D_2)_c$ se determină că rezistența la ger a plantei studiate este mai înaltă decât cea a soiului cunoscut.

(56) Referințe bibliografice:

1. SU 357927 A1
2. Погосян К.С. Лабораторный метод оценки морозостойкости виноградной лозы. В сб. Методы определения морозостойкости винограда и плодовых, Ереван, 1972, с. 7-8

Șef Direcție
Invenții:

JOVMIR Tudor

Examinator:

CRASNOVA Nadejda

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2000 0175	(85) Data fazei naționale PCT:	
(22) Data depozit: 2000.10.18	(86) Cerere internațională PCT:	
Prioritatea invocată : (31) nr.: 32) data : 33) țara : (51) Int. Cl. (7) : A 01 G 7/00 ; G 01 N 21/00 Alți indici de clasificare: (54) Titlul : Metodă de determinare a rezistenței la ger a plantelor de viță de vie (71) Solicitantul : Institutul de Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD Termeni caracteristici: rezistența la ger, extragerea glucizilor, separarea cromatografică lor, determinarea spectrofotometrică		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indicii de clasificare)		
C.I.B. 7:G 01 N 21/00		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	735	
<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 depozitului național reglementat dar după data priorității invocate
A - document care definește statutul general al tehnicii		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 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 data 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 când 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 efectuării documentării		2001.05.14
Examinatorul		Crasnova Nadejda

ANEXĂ la RAPORTUL 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