



MD 55 Z 2009.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **55** ⁽¹³⁾ **Z**

(51) Int. Cl.: *A01H 1/04* (2006.01)

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

(21) Nr. depozit: s 2009 0040 (22) Data depozit: 2009.03.13	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2009.08.31, BOPI nr. 8/2009 (67)* Nr. și data transformării cererii: a 2009 0031, 2009.03.26
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: SALTANOVICI Tatiana, MD; CRAVCENCO Anatol, MD; JACOTĂ Anatol, MD; ANTOCI Liudmila, 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 secetă

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la agricultură, în particular la metode de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă.

Metoda, conform invenției, include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, divizarea polenului în două părți, menținerea timp de 6 ore: a unei părți de polen martor la temperatura de 27°C, a altei părți de polen de probă la temperatura de 45°C, cultivarea separată a polenului martor și de probă pe un mediu nutritiv, care modelează condițiile de secetă, determinarea viabilității polenului la martor și la probă prin raportul dintre numărul de grăun-

2

5 cioare de polen germinate și numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente, calcularea indicilor de rezistență a polenului la secetă prin raportul viabilității polenului la probă către martor, exprimați în procente, fiind selectate genotipurile, care au indicii de rezistență la secetă mai mari.

Revendicări: 1

10

15

MD 55 Z 2009.08.31

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, în particular la metode de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă.

5 Este cunoscută metoda de estimare indirectă a genotipurilor de ricin după rezistența polenului la arșiță, care include tratarea termică a polenului cu temperatura 40°C cu durată de o oră și cultivarea ulterioară a polenului pe mediu nutritiv. Despre rezistența gametofitului masculin autorii au judecat după nivelul diminuării procentului de germinare a polenului și lungimea tuburilor polinice [1]. Totodată este cunoscută metoda de selectare a genotipurilor de tomate după rezistența la secetă, care constă în cultivarea polenului pe mediu nutritiv cu concentrația selectivă de zaharoză (395...405 g/L), care modelează condiții de secetă [2].

10 Însă fiecare din metodele menționate permite, de fapt, selectarea genotipurilor cu rezistența numai la unul din factorii care provoacă acțiunea secetei, și nu presupune evidențierea genotipurilor, care îmbină rezistența la temperaturi înalte și stres osmotic. În consecință, aceste metode nu permit stabilirea eficientă (în mod deplin) a rezistenței genotipurilor la secetă.

15 Problema pe care o rezolvă invenția constă în creșterea nivelului de autenticitate a estimării rezistenței genotipurilor la secetă.

Metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă, conform invenției, include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, divizarea polenului în două părți, menținerea timp de 6 ore: a unei părți de polen martor la temperatura de 27°C, și a altei părți de polen de probă la temperatura de 45°C, cultivarea separată a polenului martor și de probă pe un mediu nutritiv, care modelează condițiile de secetă, conținând, în g/L:

zaharoză	395...405
acid boric	0,5...0,7
apă distilată	restul,

25 determinarea viabilității polenului la martor și la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente, calcularea indicilor de rezistență a polenului la secetă prin raportul viabilității polenului la probă către martor, exprimați în procente, totodată se selectează genotipurile, la care indicii de rezistență la secetă sunt mai mari.

30 Etapa 1. Se determină în procente viabilitatea polenului în varianta martor (M) și probă (P) prin raportul dintre numărul grăuncioarelor de polen germinate și numărul de grăuncioare de polen analizate.

Etapa 2. Se calculează rezistența polenului după raportul indicilor obținuți la etapa 1 prin următoarea formulă:

$$35 \quad R = \frac{P}{M} \times 100\%,$$

unde R - rezistența polenului;

P - viabilitatea polenului în varianta probă;

M - viabilitatea polenului în varianta martor.

40 Genotipurile se diferențiază după acest indice și autenticitatea diferențierii poate fi determinată după criteriul Student (t) la trei niveluri de semnificație.

Rezultatul constă în posibilitatea evaluării complexe (la doi factori de secetă) a genotipurilor de tomate după rezistența lor la secetă cu utilizarea polenului matur, ce permite utilizarea în procesul de ameliorare a celor mai bune mostre în anul curent și ameliorează procesul de selecție. Așadar, conform tehnologiei tradiționale, estimarea directă a rezistenței genotipurilor se efectuează prin analiza semințelor germinate. Pentru aceasta este necesar de a cultiva plante până la fructificare, a separa semințe din fructele mature și numai pe acest material a efectua estimarea și selectarea genotipurilor rezistente, cultivarea din ele a plantelor până la etapa de înflorire și numai după aceea utilizarea acestor genotipuri pentru hibridare.

50 *Exemplu de realizare a invenției*

Pentru evaluarea genotipurilor de tomate după rezistența la secetă au fost utilizate următoarele genotipuri: soiurile *Lider* și *Caterina*, hibridul intraspecific F1 *Frigușor* x *Caterina* și varietatea semiculturală *Licopersicon esculentum* var. *pruniformae*. Plantele au fost cultivate în condiții de câmp până la înflorire. La fiecare genotip de pe 15...20 de plante au fost colectate flori complet deschise, apoi au fost separate anterele, care au fost amplasate în pachete de pergament pentru uscare ușoară în condiții de temperatură 25...26°C timp de 6 ore. După expirarea termenului dat polenul a fost izolat din antere prin scuturare mecanică și repartizat în două părți. O parte de polen care a servit în calitate de martor se păstrează în condiții termice de 27°C timp de 6 ore, a doua parte de polen (probă) a fost tratată cu temperatura de 45°C cu durată de 6 ore, apoi polenul din ambele variante a fost semănat cu ajutorul instrumentelor speciale pe mediu nutritiv, care modelează condiții de secetă.

Mediul nutritiv pentru cultivarea polenului conține următoarele ingrediente, g/L:

MD 55 Z 2009.08.31

4

zaharoză 395
acid boric 0,5
apă distilată restul (până la 1000 mL).

5 Polenul a fost semănat într-o picătură de mediu nutritiv pe sticle portobiect, amplasate pe strat de hartie de filtru umed în cupe Petri, care apoi au fost transferate în termostat cu regim termic de 27...28°C cu durată de 3 ore pentru cultivarea polenului. În fiecare variantă la microscop se analizează nu mai puțin de 500 grăuncioare de polen. Rezistența polenului a fost determinată în două etape:

10 Etapa 1. A fost determinată viabilitatea polenului în varianta martor (M) și probă (P) prin raportul dintre numărul grăuncioarelor de polen germinate față de numărul de grăuncioare de polen analizate în procente.

Etapa 2. A fost calculată rezistența polenului prin raportul indicilor obținuți la etapa 1 după formula:

$$R = \frac{P}{M} \times 100\%,$$

15 unde R - rezistența polenului;

P - viabilitatea polenului în varianta probă;

M - viabilitatea polenului în varianta martor.

20 Rezultatele obținute au demonstrat că, conform invenției, influența complexă a temperaturii (45°C) cu durată de 6 ore și zaharozei (în componența mediului nutritiv) în concentrație selectivă (395...405 g/L) permite de a estima autentic genotipurile după rezistența lor la secetă la cel mai înalt nivel semnificativ.

Tabel

Viabilitatea și rezistența polenului de tomate

25

Genotipul	Varianta	Temperatura (°C)	Viabilitatea polenului (%)	Rezistența polenului (%)
Soiul <i>Lider</i>	Martor	27	23,1±1,88	
	Probă	45	1,5±0,54	6,5±0,77*
F1 <i>Frigușor</i> x <i>Caterina</i>	Martor	27	15,9±1,63	
	Probă	45	3,6±0,83	22,6±1,32*
<i>Licopersicon esculentum</i> var. <i>pruniformae</i>	Martor	27	25,7±0,85	
	Probă	45	11,4±1,42	44,4±0,88
Soiul <i>Caterina</i>	Martor	27	18,8±1,54	
	Probă	45	8,5±1,24	45,2±1,46

* Deosebirile dintre soiul *Lider* și hibridul F1 *Frigușor* x *Caterina* și celelalte genotipuri sunt autentice P<0,001.

30 Pe baza datelor obținute, rezistența maximală egală la acțiunea complexă a factorului termic (45°C) și stresului osmotic (zaharoza 395...405 g/L) au manifestat grăuncioarele de polen la soiul *Caterina* și varietatea semiculturală *L. esculentum* var. *pruniformae*, apoi urmează hibridul F1 *Frigușor* x *Caterina*. La soiul *Lider* a fost determinat cel mai mic procent de rezistență a polenului (tabelul).

Așadar, metoda propusă permite de a estima cu autenticitate înaltă genotipurile de tomate după rezistența lor la secetă.

(57) Revendicări:

- Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă, care include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, divizarea polenului în două părți, menținerea timp de 6 ore a unei părți de polen martor la temperatura de 27°C, și a altei părți de polen de probă la temperatura de 45°C, cultivarea separată a polenului martor și de probă pe un mediu nutritiv, care modelează condițiile de secetă conținând, în g/L:
- | | | |
|----|---------------|-----------|
| | zaharoză | 395...405 |
| | acid boric | 0,5...0,7 |
| 10 | apă distilată | restul, |
- determinarea viabilității polenului la martor și la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul total de grăuncioare analizate, exprimate în procente, calcularea indicilor de rezistență a polenului la secetă prin raportul viabilității polenului la probă către martor, exprimați în procente, totodată se selectează genotipurile, la care indicii de rezistență la secetă sunt mai mari.
- 15

20

(56) Referințe bibliografice:

1. Лях В., Сорока А., Мищенко Л. и др. Методы отбора ценных генотипов на уровне пыльцы. Методические рекомендации. Оценка засухоустойчивости спорофита по пыльце у клещевины. Запорожье, 2000, с. 19-21
2. MD 3739 G2 2008.11.30

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

GORDIENCO Maria

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 0040	(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2009.03.13	(86) Cerere internațională PCT:
Prioritatea invocată: (31) nr.: 32) data: 33) țara: (51) IPC: Int. Cl.: A01H 1/04 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul: Metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă (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: Indicii IPC (ultima redacție): <i>A01H 1/04; A01H 1/02</i> a) Termeni caracteristici, cuvinte-cheie, sinonime: limba română: genotipurile; rezistente la secetă; polen limba engleză: genotypes; drought resistant; pollen limba rusă: генотипы; засухоустойчивый; пыльца	
IV. Documente considerate a fi relevante	
Categoria	Date de identificare ale documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente
A	SU 1470246 A1 1989.04.07
A	MD 1579 G2 2001.01.31
A	MD 1463 G2 2000.05.31
A	MD 3739 G2 2008.11.30
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	2009.05.27
Examinatorul	GORDIENCO Maria