

**Descriere:**

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi aplicată în agricultură pentru obținerea materialului semincier liber de infecție.

Se cunoaște procedeul de înmulțire a cartofului devirozat care se bazează pe butășirea plantelor reproductive, procedeu ce constă din culegerea butașilor de la plantele libere de infecție, înmuierea lor pentru 6 ore în soluție de heteroauxin, înrădăcinarea pe substrat sol în lădițe speciale de răsad, plantarea în sol și obținerea tuberculilor [1]. Deficiența acestei metode constă în aceea că înrădăcinarea are loc în lădițe speciale iar lungimea lăstarilor culeși trebuie să atingă lungimea de circa 10 cm.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în accelerarea și simplificarea procedurii de înmulțire a cartofului devirozat.

Esența invenției constă în aceea că procedeul propus include excizia explantului, plantarea lui pe mediu nutritiv, obținerea plantelor devirozate, trecerea lor pe substrat sol, cultivarea în condiții protejate de infecție, obținerea butașilor de la aceste plante și înrădăcinarea lor, în care butașii sunt introduși la o înălțime de 1,0-1,5 cm în apă bidistilată proaspăt pregătită cu adaos de fluid magnetic 0,00002-0,00004 g/l pentru 3-5 ore după care sunt înrădăcinați pe mediul nutritiv Knop, ce conține 0,01-0,10 g/l 5 $\alpha$ -furostan-3 $\beta$ ,22,26-triol-3-[0- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopiranozila (1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-galactopiranozida]-26-0- $\beta$ -D-glucopiranozid.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea numărului de butași la o plantă reproductivă, sporirea gradului de supraviețuire la plantarea în sol, cât și mărirea numărului de tubercule obținute de la o plantă.

Procedeul prevede ca plantele de cartof devirozate prin culturi meristemice să fie folosite ca plante reproductive. În acest scop plantulele libere de infecție, crescute pe mediul agarizat, sunt transferate pe un substrat sol calitativ în ghiveciuri și crescute în condiții ce exclud reinfectarea. Când plantele ating înălțimea de circa 20 cm se înlătură vârful pentru stimularea formării lăstarilor laterali, care sunt cu 2-3 frunzulițe. Secționarea are loc în momentul în care lăstarii ating lungimea de circa 4 cm. Este posibilă și secționarea lăstarilor mai alungiți. În asemenea cazuri dintr-un lăstar se capătă câțiva butași. O înrădăcinare mai bună are loc atunci, când dintr-un lăstar se obțin 1-2 butași. Materialul obținut este introdus cu partea inferioară la o adâncime de aproximativ 1 cm pentru 3-5 ore în apă bidistilată proaspăt pregătită cu adaos de fluid magnetic 0,00002 - 0,00004 g/l, după care sunt transferați pe mediul nutritiv care se pregătește în felul următor: într-un pahar de sticlă se dizolvă în apă distilată următoarele substanțe ce intră în componența mediului nutritiv Knop:

1. Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - 1,00g/l sau Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O - 1,44g/l
2. KNO<sub>3</sub> - 0,25g/l
3. FeCl<sub>3</sub> - 0,002g/l
4. KCl - 0,12g/l
5. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 0,25g/l
6. MgSO<sub>4</sub> - 0,25g/l sau MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O - 0,51g/l

Se adaugă saponine furostanolice extrase din semințe de tomate 0,01-0,10g/l,

pH se aduce la 5,7-5,8. Mediul se repartizează în fiole câte 1,5-2,0 ml. Suporturile cu eprubete sunt transportate pentru 13-15 zile în încăperi cu temperaturi de 20-23°C la 3000-4000 lucși și o perioadă de 16 ore lumină, și 8 ore întuneric. În acest răstimp butașii dau rădăcini, cresc și pot fi plantați pe mediul sol ca răsad.

*Exemplul 1.* Pentru pregătirea mediului nutritiv se dizolvă în apă bidistilată substanțele ce intră în componența mediului Knop la care se adaugă câte 0,01-0,10 sau 1,0 g/l de 5 $\alpha$ -furostan-3 $\beta$ , 22, 26-triol-3-[0- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-galactopiranozida]-26-0- $\beta$ -D-glucopiranozid, pH se aduce la 5,7-5,8. Mediul se repartizează în eprubete câte 1,5-2,0 ml. Butașii de 3-4cm cu 2-3 frunzulițe pregătiți din lăstarii laterali ai plantelor reproductive de soiul Sprinter sunt transferați pe mediul lichid în stare liberă, în sens că eprubetele nu sunt astupate și butașii nu se fixează la o anumită adâncime în mediu. Suporturile cu eprubete sunt ținute 14 zile în camere cu temperaturi de 20-23°C la 3000-4000 lucși și o perioadă de 16 ore lumină și 8 ore întuneric. La a 14-a zi butașii înrădăcinați sunt plantați în seră după schema 10 x 10cm pentru obținerea minituberculilor. Peste 2 luni cartoful este recoltat. Pe parcursul întregii perioade se fac observații referitoare la înrădăcinarea butașilor pe mediul Knop și supraviețuirea lor pe substrat sol. Rezultatele obținute și prezentate în tabelul 1 demonstrează în mod clar că încorporarea în mediu a 5 $\alpha$ -furostan-3 $\beta$ , 22, 26-triol-3-[0- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-galactopiranozida]-26-0- $\beta$ -D-glucopiranozid. contribuie la mărirea substanțială a procentului de butași înrădăcinați. Rezultate mai notabile au fost obținute pe mediile, în care concentrația saponinelor furostanolice constituia 0,10 sau 0,01 g/l.

*Exemplul 2.* Pentru pregătirea mediului se dizolvă în apă distilată substanțele ce intră în componența mediului Knop la care se adaugă 5 $\alpha$ -furostan-3 $\beta$ , 22, 26-triol-3-[0- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopiranozila(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-galactopiranozida]-26-0- $\beta$ -D-glucopiranozid în cantitate de .0,01 g/l, pH se aduce la 5,7-5,8. Mediul se repartizează în eprubete câte 1,5-2,0 ml. Butașii de 3-4 cm cu 2-3 frunzulițe din lăstarii laterali ai plantelor reproductive de soiul Sprinter sunt ținuți 3 ore în apă bidistilată proaspăt pregătită ce conține fluid magnetic 0,00001, 0,00002, 0,00003, 0,00004 și 0,00005 g/l după care sunt transferați pe mediul menționat și cultivați analogic exemplului 1. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 2. Ele demonstrează că soluțiile de fluid magnetic și, îndeosebi, a acelea în care fluidul constituie 0,00002-0,00004 g/l stimulează înrădăcinarea butașilor.

*Exemplul 3.* Mediul nutritiv se pregătește analogic exemplului 2. Butașii de 3-4cm cu 2-3 frunzulițe pregătiți din lăstarii laterali ai plantelor reproductive de soiul Sprinter sunt înmuiați 1, 3, 5 și 12 ore în apă bidistilată proaspăt pregătită ce conține fluid magnetic în concentrație de 0,00003 g/l după care sunt transferați pe mediul nutritiv amintit și cultivați conform exemplului 1. Rezultatele prezentate în tabelul 2 demonstrează că procentul de butași înrădăcinați este mai mare, când ei sunt tratați în soluție de fluid magnetic 0,00003 g/l timp de 3-12 ore. Timpul optim stabilit este de 5 ore.

Tabelul 1  
Înrădăcinarea plantelor de cartof în funcție de  
conținutul saponinelor furostanolice în mediul Knop.

Saponine furostanolice în mediul Knop, g/l	Butași, buc.	Plante înrădăcinate pe mediul Knop, buc.	Plante supravețuite pe substrat sol, buc.
–	300	61	54
1,00	300	132	120
0,10	300	156	144
0,01	300	153	138

Tabelul 2  
Introducerea pe mediul Knop a 5 $\alpha$ -furostan-3 $\beta$ , 22, 26-triol-3-[0- $\beta$ -D-gluco-piranozila (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-gluco-piranozila(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-galactopiranozida]-26-0- $\beta$ -D-gluco-piranozid n cantitate de 0,01g/l a butașilor de soiul Sprinter tratați în mod diferit în soluție de fluid magnetic

Tratament	Butași, buc.		
	Total	Înrădăcinați pe mediul Knop	Supravețuiți pe substrat sol
Durata tratării constante - 3 ore Variază conținutul de fluid magnetic în soluție, g/l			
Fără tratament	300	149	137
0,00001	300	171	159
0,00002	300	195	180
0,00003	300	219	215
0,00004	300	219	210
0,00005	300	129	109
Conținutul de fluid magnetic în soluție este constant - 0,00003 g/l Variază durata tratării, ore			
Fără tratament	300	142	133
1	300	201	200
3	300	214	208
5	300	240	236
12	300	219	215

Tabelul 3  
Rezultatele obținute la obținerea minituberculilor la 5 soiuri de cartof prin folosirea procedurii recomandată

Soi	Butași, buc.			Minituberculii, buc.	
	Secționari	Înrădăcinați pe mediul Knop	Supravețuiți pe substrat sol	Total	La o plantă
Sprinter	2000	1600	1578	5523	3,50
Iagodka	1000	840	820	2812	3,43
Impala	500	432	410	1332	3,25
Ostara	250	241	235	778	3,31
Prior	250	223	210	805	3,50

Tabelul 4  
Randamentul procedurii propus

Procedeu de cultivare	Plante reproducătoare, buc.	Butași, buc.			Minituberculii, buc.	
		Total	Înrădăcinați pe mediul recomandat	Supravețuiți pe substrat sol	Total	La o plantă
Propus	20	337 cu lungimea de 3-4 cm	257	232	789	3,4
Prototip	20	162 cu lungimea de 10 cm	111	110	352	3,2