

Descriere:

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

Este cunoscut procedeul de obținere a materialului inițial devirozat, care include excizarea meristemului, cultivarea lui în mediul Murashige-Skoog, obținerea plantelor regenerante, microbutășirea, înrădăcinarea, adaptarea butașilor și plantarea lor pe substrat de sol [1].

Dezavantajele acestui procedeu constau în aceea, că plantele cultivate *in vitro* după o perioadă de adaptare la condiții de câmp deschis se transferă fie pe un substrat calitativ pregătit (dezinfecat, sterilizat), fie pe substrat de sol obișnuit.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în simplificarea procedurii.

Esența invenției constă în aceea că include excizarea meristemului, cultivarea lui în mediul Murashige-Skoog, obținerea plantelor regenerante, microbutășirea, înrădăcinarea, dezvoltarea, adaptarea microbutașilor și plantarea în sol a plantelor obținute. Noutatea procedurii constă în faptul că înainte de plantarea în sol plantele se butășesc în butași cu 2-3 frunzulițe, iar înrădăcinarea, dezvoltarea și adaptarea se efectuează timp de 12-14 zile în mediul Knop, conținând suplimentar 0,01-0,1 g/l de saponină furostanolică 5α -furostan-3 β ,22,26-triol-3[O- β -D-glucopiranozil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranozil(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopiranozil]-26-O- β -D-glucopiranozil.

Rezultatul tehnic al invenției constă în efectuarea microbutășirii în condiții nesterile și aclimatizarea plantelor la etapa înrădăcinării butașilor, precum și în sporirea numărului de butași înrădăcinați și de plante adaptate în sol.

Se dau exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1. Pentru pregătirea mediului Knop se dizolvă în apă distilată substanțele ce intră în componența lui, în g/l: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 1,00 sau $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,44; KNO_3 - 0,25; FeCl_3 - 0,025; KCl - 0,12; KH_2PO_4 - 0,25; MgSO_4 - 0,25 sau $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,51. Se experimentează diferite cantități de saponină furostanolică (0,1; 0,01; 0,001 g/l), pH-ul se reglează până la 5,7-5,8. Mediul se repartizează în eprubete câte 1,5-2,0 ml. Într-o încăpere obișnuită plantele de cartof devirozate cultivate *in vitro* și multiplicare în mediul Murashige-Skoog sunt secționare în butași de 3-4 cm, ce includ o parte a tulpinii cu 2-3 frunzulițe. Dintr-o plantă de 7-10 cm se obțin 2-3 butași cu 2-3 frunzulițe, care sunt transferați în eprubete. Se experimentează soiurile Sprinter, Iagodka și Prior. Suporturile cu eprubete se țin în încăperi cu regim termic de 20-23°C la iluminarea de 3000-4000 lx 16 h și 8 h la întuneric. Peste 14 zile butașii înrădăcinați se plantează ca răsad în seră în sol obișnuit. Schema sădării este de 10 x 10 cm. Peste 10 zile se face calculul plantelor care au supraviețuit. Peste 2 luni cartoful se recoltează.

În tabelul 1 sunt prezentate rezultatele referitoare la înrădăcinarea butașilor în mediul Knop, numărul de butași care au supraviețuit după plantare în sol obișnuit și numărul de minituberculi la o plantă. Analiza datelor obținute demonstrează că încorporarea în mediul Knop a saponinei furostanolice contribuie la sporirea numărului de butași înrădăcinați, mai cu seamă în cazul soiurilor Sprinter și Iagodka.

Exemplul 2. Se folosește mediul Knop cu adaos de saponină furostanolică 0,01 g/l și soiurile Sprinter, Iagodka și Prior cultivate *in vitro* în mediul Murashige-Skoog. Pregătirea mediului Knop, secționarea plantelor și înrădăcinarea, creșterea și adaptarea butașilor se face analogic exemplului 1. Evidența numărului de butași înrădăcinați se face periodic peste 9, 12, 14, și 17 zile după transferarea butașilor în mediul Knop cu adaos de saponină furostanolică. Datele prezentate în tabelul 2 demonstrează, că numărul de butași înrădăcinați crește treptat și atinge cota maximă în zilele a 12-a - a 14-a după transferarea în mediul respectiv.

Exemplul 3. Se folosesc 600 de plante de soiul Sprinter devirozate prin culturi meristemice și cultivate în mediul Murashige-Skoog. 300 de plante sunt secționare și înrădăcinate analogic exemplului 1 în mediul Knop, adăugând 0,01 g/l de saponină furostanolică. Celelalte 300 de plante se cultivă conform procedurii folosit în prezent (celui mai apropiat analog) și anume: plantele se scot din eprubetele cu mediul Murashige-Skoog. După ce rădăcinile se clătesc în apă, plantele se sădesc în lădițe de răsad cu substrat de sol steril, se udă din abundență și se acoperă cu o peliculă de polietilenă pe 6 zile. Lădițele sunt ferite de razele solare și ținute la o temperatură de 20-23°C. Periodic pelicula de polietilenă se scoate de pe lădițe.

În ziua a 12-a plantele înrădăcinate care au supraviețuit în ambele variante se sădesc în seră după schema 10 x 10 cm în sol obișnuit. Peste 2 luni cartoful se recoltează.

În tabelul 3 sunt prezentate datele comparative referitoare la numărul de plante producătoare de tuberculi obținute din 300 de regeneranți inițiali, care au fost cultivați conform procedurii propus sau celui mai apropiat analog. Rezultatele prezentate demonstrează clar, că procedeul propus permite mărirea numărului de plante producătoare de tuberculi din același număr de regeneranți de circa 2,5 ori.

În tabelul 4 sunt prezentate calculele prețului de cost al substanțelor necesare pentru prepararea mediilor nutritive suficiente de a obține 100000 de plante producătoare de tuberculi. Au fost incluse substanțe, a căror valoare depășea 0,10 \$. Suma constituie 112,08 \$ pentru procedeul propus și 276,04 \$ pentru cel mai apropiat analog. La baza calculelor s-a aflat Catalog Handbook of Fine Chemicals, Aldrich Chemical Company, pe anii 1991-1995.

Astfel utilizarea procedurii propus permite reducerea cheltuielilor reactivelor chimice de 2-3 ori, folosirea condițiilor nesterile pentru înmulțirea cartofului, excluderea necesității de aclimatizare ulterioară a plantelor la condiții nesterile și obținerea materialului de plantat liber de infecție.

Tabelul 1

Înrădăcinarea butașilor de cartof în funcție de cantitatea de saponină furostanolică încorporată în mediul Knop

	Saponină furostanolică în mediul Knop, g/l	Butași ce au supraviețuit (%)		Minituberculi la o plantă, nr.
		în mediul Knop	în substrat de sol	
Sprinter	-	81	78	3,42
	1,00	86	84	3,44
	0,10	93	90	3,44
	0,01	92	89	3,45
Iagodka	-	90	85	3,22
	1,00	100	93	3,21
	0,10	100	95	3,23
	0,01	95	92	3,22
Prior	-	92	88	2,84
	1,00	85	83	2,90
	0,10	89	85	2,88
	0,01	94	89	2,89

Tabelul 2

Înrădăcinarea butașilor de cartof în mediul Knop cu adaos de saponină furostanolică 0,01 g/l în funcție de durata menținerii în mediu

Soi	Butași, nr.	Data transferării în mediu	Butași înrădăcinați, nr.			
			27.04.94	30.04.94	2.05.94	5.05.94
Sprinter	100	18.04.1994	78	92	94	94
Iagodka	100	18.04.1994	69	89	91	92
Prior	100	18.04.1994	71	94	95	95

Tabelul 3

Plante producătoare de tuberculi provenite din regeneranți crescuți pe mediul Murashige-Skoog (soiul Sprinter)

Procedeu de cultivare	Regeneranți (bucăți)	Butași plantați în mediul Knop (bucăți)	Plante producătoare de tuberculi (bucăți)
Propus	300	748	702
Conform celui mai apropiat analog	300	-	255

Tabelul 4

Prețul de cost al mediilor nutritive pentru obținerea a 100.000 de plante producătoare de tuberculi

Substanța	Analogul cel mai apropiat		Procedeu propus	
	consum, g	prețul de cost, \$	consum, g	prețul de cost, \$
NH ₄ NO ₃	388,23	6,43	141,03	2,34
KNO ₃	447,06	10,28	215,81	4,94
CaCl ₂ ·2H ₂ O	103,53	2,07	39,61	0,79
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	-	-	213,67	4,27
MgSO ₄ ·7H ₂ O	87,06	1,48	140,60	2,39
KCl	-	-	25,64	0,42
KH ₂ PO ₄	40,00	1,29	67,95	2,19
EDTA	8,78	0,70	3,19	0,26
Fe ₂ SO ₄ ·7H ₂ O	6,54	0,32	2,38	0,12
Sucroză	4705,88	23,38	1709,54	10,31
Agar	1642,06	230,09	598,29	83,58
Saponină furostanolică	-	-	2,14	0,47
Suma, \$		276,04		112,08