



MD 1642 G2

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **1642** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) **Int. Cl.**⁷: A 01 H 4/00

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: 98-0246
(22) Data depozit: 1998.12.08

(43) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului pe
răspunderea solicitantului:
2001.04.30, BOPI nr. 4/2001

(71) Solicitant: Institutul de Genetică al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD
(72) Inventatori: CRAVCENCO Oxana, MD; PALII Andrei, MD; LASICOV Valeriu, MD
(73) Titular: Institutul de Genetică al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD

(54) Procedeu de obținere a plantelor regenerante de porumb

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la agricultură, în particular la selecția și genetica plantelor și poate fi utilizată pentru obținerea plantelor regenerante de porumb numai cu organe de reproducere feminine.

Procedeul propus include separarea embrionilor imaturi de porumb la 10...12 zile după polenizare, cultivarea lor în decurs de 14 zile până la formarea calusului pe mediu nutritiv Murashige-Skooge, ce conține acid 2,4-diclorfenoxiacetic, recultivarea calusului obținut pe același mediu nutritiv până la obținerea calusului embriogen, iar plante

2
regenerante de porumb se obțin prin cultivarea calusului embriogen pe mediu nutritiv Murashige-Skooge ce conține acid 2,4-diclorfenoxiacetic în concentrație de 1,0...2,0 mg/L.

5
Rezultatul invenției constă în mărirea frecvenței de obținere a plantelor regenerante de porumb cu organe de reproducere feminine.

10
Revendicări: 1

15

MD 1642 G2

MD 1642 G2

3

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, în particular la selecția și genetica plantelor și poate fi utilizată pentru obținerea plantelor regenerante de porumb numai cu organe de reproducere feminine.

5 Este cunoscut un procedeu de obținere a plantelor regenerante de porumb, care include separarea embrionilor imaturi la 10...12 zile după polenizare, cultivarea lor timp de 14 zile pe mediu nutritiv Murashige-Skooge [1], ce conține acid 2,4-diclorfenoxiacetic (2,4-D) în concentrație de 2 mg/L până la formarea calusului, recultivarea calusului obținut pe același mediu nutritiv până la obținerea calusului embriogen și cultivarea calusului embriogen pe mediu nutritiv Murashige-Skooge ce conține 2,4-D în concentrație de 0,2 mg/L până la obținere a plantelor regenerante. Plantele regenerante de porumb obținute sunt plantate în sol [2].

10 Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că prin intermediul lui se obține un număr mic de plante (numai plante solitare) regenerante de porumb ce posedă numai organe de reproducere feminine.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în mărirea frecvenței de obținere a plantelor regenerante de porumb numai cu organe de reproducere feminine.

15 Procedeu, conform invenției, include separarea embrionilor imaturi de porumb la 10-12 zile după polenizare, cultivarea lor până la formarea calusului în decurs de 14 zile pe mediu nutritiv Murashige-Skooge, ce conține acid 2,4-Diclorfenoxiacetic, recultivarea calusului obținut pe același mediu nutritiv până la obținerea calusului embriogen, iar plante regenerante de porumb se obțin prin cultivarea calusului embriogen pe mediu nutritiv Murashige-Skooge, ce conține 2,4-D în concentrație de 1,0...2,0 mg/L.

20 Rezultatele obținute au permis de a stabili că anume această concentrație a 2,4-D este optimă la etapa de germinare a embriozilor somatici în plante regenerante și determină creșterea procentului (98,9%...99,9%) de plante regenerante cu organe de reproducere feminine.

Rezultatul invenției constă în mărirea frecvenței de obținere a plantelor regenerante de porumb numai cu organe de reproducere feminine.

Exemplu de realizare

25 1. În calitate de material inițial pentru obținerea plantelor regenerante s-au utilizat următoarele genotipuri de porumb: hibridul "Pioneer 3978" și formele lui parentale - liniile inbrede 346 și 502, cât și analogii lor ceroși.

2. Plantele s-au cultivat în condiții de lumină și temperatură optime.

3. Embrionii imaturi s-au separat din boabe la 10-12 zile după polenizare.

30 4. Pentru separarea embrionilor s-a efectuat sterilizarea știuleților în soluție de 10% de hipoclorură de calciu timp de 25 min.

5. Embrionii separați s-au cultivat în condiții aseptice în boxă laminară pe mediu nutritiv Murashige-Skooge steril agarizat până la obținerea calusului.

Mediul nutritiv Murashige-Skooge pentru cultivarea embrionilor imaturi are următorul conținut:

	mg
Azot de amoniu	1640,0...1645,0
Clorură de calciu dehidratat	430,0...435,0
Etilendiaminotetraacetat de sodiu	37,2...37,3
Sulfat de fier heptahidrat	27,7...27,8
Azot de potasiu	1890,0...1990,0
Sulfat de magneziu heptahidrat	365,0...370,0
Fosfat de potasiu bisubstituit	165,0...170,0
Sulfat de zinc heptahidrat	8,6...8,7
Acid boric	6,0...6,1
Sulfat de mangan tetrahidrat	22,1...22,3
Sulfat de cupru pentahidrat	0,024...0,025
Clorură de cobalt hexahidrat	0,024...0,025
Molibdat de sodiu bihidrat	0,24...0,25
Iodură de potasiu	0,81...0,82
Mezoinozită	100,0...105,0
Glicină	1,99...2,00
Acid nicotinic	0,49...0,50
Hidroclorură de piridoxină	0,49...0,50
Hidroclorură de tiamină	0,07...0,08
Zaharoză	29000,0...30000,0
Agar	7900,0...8000,0
Apă	până la 1 L

35

MD 1642 G2

4

6. Calusul obținut din embrionii imaturi s-a recultivat pe mediul nutritiv Murashige- Skooge (MS) până la obținerea calusului embriogen.

5 In calitate de inductor al proceselor de formare a calusului embriogen, in mediul nutritiv Murashige-Skooge (MS) a fost introdus acidul 2,4-diclorfenoxiacetic. Au fost pregătite 4 variante de medii nutritive ce se deosebesc după cantitatea inductorului 2,4-D, și anume: MS1 - 0.5 mg/L; MS2 - 1.0 mg/L; MS3 - 2.0 mg/L; MS3 - 3.0 mg/L.

7. Calusul embriogen obținut s-a cultivat pe mediile MS1, MS2, MS3, MS4 până la obținerea plantelor regenerante de porumb.

10 8. După formarea rădăcinuțelor, tulpinii și a 3-4 frunzulițe plantele regenerante de porumb au fost plantate în sol, unde s-a urmărit în continuare apariția organelor de reproducere feminine.

Datele prezentate in tabelul ce urmează demonstrează că recultivarea calusului embriogen pe mediul nutritiv MS3, ce conține 2,4-D în concentrație de 2 mg/L, spre deosebire de celelalte variante de mediu nutritiv, a produs apariția plantelor regenerante de porumb numai cu organe de reproducere feminine, la toate genotipurile examinate.

15 Astfel, procedeul propus permite de a obține plante regenerante numai cu organe de reproducere feminine, adică cu știuleți, fapt care contribuie la selectarea unor noi genotipuri de porumb, intensificand astfel procesul de ameliorare.

20 Influența concentrației 2,4-D asupra frecvenței formării plantelor regenerante de porumb numai cu organe reproductive feminine

Genotipul de porumb	Plante regenerante de porumb cu știuleți, %				
	MS	MS1	MS2	MS3	MS4
Linia 346	0	15,2±1,4	68,1±2,6	98,4±1,1	1,2±0,5
Linia 346wx1	0	7,4±0,9	59,6±2,1	98,2±1,4	0,9±0,1
Linia 502	0	10,3±1,2	54,8±1,9	97,8±1,7	0,5±0,7
Linia 502wx1	0	6,1±0,5	47,4±2,2	98,5±1,1	0,3±0,2
Hibridul "Pioneer 3978"	0	20,5±1,6	72,9±2,5	98,6±1,0	1,5±0,8
Hibridul "Pioneer 3978" wx1	0	16,7±1,3	64,3±1,8	98,1±1,5	1,9±0,4

(57) Revendicare:

25 Procedeul de obținere a plantelor regenerante de porumb care include separarea embrionilor imaturi la 10...12 zile după polenizare, cultivarea lor în decurs de 14 zile până la formarea calusului pe mediu nutritiv Murashige-Skooge, ce conține acid 2,4-diclorfenoxiacetic, recultivarea calusului obținut pe același mediu nutritiv până la obținerea calusului embriogen și cultivarea lui pe mediu nutritiv Murashige-Skooge, ce conține acid 2,4-diclorfenoxiacetic, până la obținerea plantelor regenerante, **caracterizat prin aceea că** cultivarea calusului embriogen se efectuează pe mediu nutritiv Murashige-Skooge, ce conține acid 2,4-diclorfenoxiacetic in
30 concentrație de 1,0...2,0 mg/L.

(56) Referințe bibliografice:

1. Murashige T., Skooge F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962, 15, p. 473-497
2. Suprasanna P., Rao K.V., Reddy G.M. Embryogenic callus in maize: genotypic and aminoacid effects. *Cereal Res. Comm.* 1994, 22, p. 79-82

Șef secție: CRASNOVA Nadejda

Examinator: NADIOJCHINA Natalia

Redactor: ANDRIUȚĂ Victoria