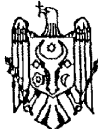




MD 2385 F1 2004.02.29

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **2385** <sup>(13)</sup> **F1**  
(51) **Int. Cl.**<sup>7</sup>: C 12 N 1/14 ;  
(C 12 N 1/14,  
C 12 R 1:77)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

<b>Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării</b>	
<p>(21) <b>Nr. depozit:</b> a 2003 0091 (22) <b>Data depozit:</b> 2003.03.28</p>	<p>(45) <b>Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:</b> 2004.02.29, BOPI nr. 2/2004</p>
<p>(71) <b>Solicitant:</b> INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p> <p>(72) <b>Inventatori:</b> LUPAȘCU Galina, MD; SAȘCO Elena, MD</p> <p>(73) <b>Titular:</b> INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p>	

(54) **Mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium oxysporum* Schlecht  
Snyd. et Hans.**

(57) **Rezumat:**

1

Invenția se referă la selecția plantelor, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium* sp.

Mediul nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium oxysporum* Schlecht Snyd. et Hans. conține, g/L: azotat de potasiu 2,00, dihidrogenofosfat de potasiu 1,00, sulfat de magneziu 0,50, clorură de

5

10

2

potasiu 0,50, sulfat de fier 0,01, zaharoză 20,00,  $\alpha$ -leucină 0,0001...0,001 și apă distilată până la 1 L.

Rezultatul constă în stimularea sintezei metaboliților toxici de către ciuperca *Fusarium oxysporum*.

Revendicări: 1

MD 2385 F1 2004.02.29

# MD 2385 F1 2004.02.29

3

## Descriere:

Invenția se referă la selecția plantelor, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium sp.*

Este cunoscut mediul nutritiv lichid Cszapek pentru cultivarea ciupercilor *Fusarium sp.* (care include, mg/L: azotat de potasiu  $\text{KNO}_3$  – 2000, monofosfat de potasiu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1000, sulfat de magneziu  $\text{MgSO}_4$  – 500, clorură de potasiu  $\text{KCl}$  – 500, sulfat de fier  $\text{FeSO}_4$  – 10, zaharoză – 20000, apă distilată până la 1 L) utilizat în scopul obținerii filtratului de cultură [1] ca factor de selecție pentru rezistența la fuzarioză. Însă aplicarea largă a filtratelor de cultură, pe baza mediului nutritiv Cszapek, pentru selectarea genotipurilor rezistente este limitată destul de frecvent de toxicitatea slabă a acestora, din care cauză este necesară testarea unui număr mare de izolate *Fusarium* pentru detectarea celor mai eficiente.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea toxicității filtratelor de cultură *Fusarium*.

Esența invenției constă în aceea că mediul nutritiv lichid conține, g/L: azotat de potasiu  $\text{KNO}_3$  – 2,00; dihidrogenofosfat de potasiu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,00;  $\text{MgSO}_4$  – 0,50;  $\text{KCl}$  – 0,50;  $\text{FeSO}_4$  – 0,01; zaharoză – 20,00; aminoacidul  $\alpha$ -leucină – 0,0001...0,001, apă distilată până la 1 L.

Rezultatul invenției constă în stimularea sintezei metaboliților toxici de către ciuperca *F. oxysporum*.

*Exemplu.* În experiență au fost utilizate semințe de grâu de soiul Odeschi 117.

Pentru prepararea mediului nutritiv obișnuit (Cszapek) s-au dizolvat în apă distilată, mg/L:  $\text{KNO}_3$  – 2000;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1000;  $\text{MgSO}_4$  – 500;  $\text{KCl}$  – 500;  $\text{FeSO}_4$  – 10; zaharoză – 20000, apă – restul până la 1 L.

Pentru prepararea mediului nutritiv propus s-a utilizat mediul nutritiv lichid Cszapek suplimentat cu  $\alpha$ -leucină în concentrații de 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 mg/L. Mediile date au fost sterilizate în autoclave timp de 20 min la 0,5 atm. În condiții aseptice în mediile date a fost introdus miceliul ciupercii *F. oxysporum*, provocatoare a putregaiului de rădăcină (manifestat prin diminuarea capacității de germinație și inhibarea creșterii plantelor). Ciuperca a fost cultivată în termostat la temperatura de 22...24°C timp de 21 de zile (Методы экспериментальной микологии, Киев, Наукова думка, 1982, с. 296), astfel obținându-se FC al ciupercii *F.oxysporum*. Apoi FC a fost separat de miceliul ciupercii prin hartie de filtru.

Semințele de grâu au fost muiate pe 18 h în apă distilată (martor), în FC *F. oxysporum* obținut în mod obișnuit pe mediul nutritiv Cszapek (cea mai apropiată soluție) și în FC *F. oxysporum* obținut pe mediul nutritiv Cszapek cu adăugarea  $\alpha$ -leucinei în concentrații de 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 mg/L. În continuare semințele au fost clătite cu apă de robinet, după care s-au cultivat timp de 6 zile în vase Petri pe hartie de filtru umectată cu apă. În calitate de parametri ai creșterii și dezvoltării au servit cei mai sensibili indici la acțiunea ciupercilor *Fusarium*: capacitatea de germinație a semințelor (%) și lungimea rădăcinii embrionare (mm). Datele obținute sunt prezentate în tabel. După cum rezultă, FC al ciupercii *F. oxysporum*, obținut în mod obișnuit a provocat inhibarea capacității de germinație cu 6,1%, iar creșterea rădăcinii embrionare cu 13,3%. La tratarea semințelor cu FC obținut pe bază de mediu suplimentat cu  $\alpha$ -leucină în concentrații de 0,1...1,0 mg/L, s-a constatat cea mai pronunțată reprimare a indicilor menționați. Astfel, capacitatea de germinație a diminuat cu 16,2...17,0%, iar lungimea rădăcinii cu 21,1...21,5%, aceste date având suport statistic la compararea cu FC obținut în baza mediului obișnuit.

Tabel

Influența mediului nutritiv pentru cultivarea ciupercii *F. oxysporum* suplimentat cu  $\alpha$ -leucină asupra unor indici de creștere ai plantelor de grâu

Nr.	Varianta, mg/L	Germinația, %		Lungimea rădăcinii, mm	
		$x \pm m^2$ ,	% față de martor	$x \pm m^2$ ,	% față de martor
1.	Martor ( $\text{H}_2\text{O}$ )	64,2 $\pm$ 2,6	100,0	127,2 $\pm$ 3,8	100,0
2.	FC <i>F.oxysporum</i>	60,3 $\pm$ 2,2	93,9	110,3 $\pm$ 3,7*	86,7
3.	FC <i>F. oxysporum</i> + $\alpha$ -leucină; 10	57,5 $\pm$ 5,2	89,6	110,5 $\pm$ 3,7*	86,9
4.	FC <i>F. oxysporum</i> + $\alpha$ -leucină; 1	53,3 $\pm$ 0,8* <sup>v</sup>	83,0	99,9 $\pm$ 4,5* <sup>v</sup>	78,5
5.	FC <i>F. oxysporum</i> + $\alpha$ -leucină; 0,1	53,8 $\pm$ 1,0* <sup>v</sup>	83,8	100,4 $\pm$ 3,3* <sup>v</sup>	78,9
6.	FC <i>F. oxysporum</i> + $\alpha$ -leucină; 0,01	55,8 $\pm$ 2,2*	87,0	110,5 $\pm$ 3,6*	86,9
7.	FC <i>F. oxysporum</i> + $\alpha$ -leucină; 0,001	56,7 $\pm$ 0,8	88,3	114,9 $\pm$ 3,4	90,3

\* – deosebire autentică de martor la nivelul  $p < 0,05$ ;

<sup>v</sup> – deosebire autentică de FC *F.oxysporum* la nivelul  $p < 0,05$ .

Din cele prezentate rezultă că noul mediu, obținut prin suplimentarea mediului nutritiv Cszapek cu aminoacidul  $\alpha$ -leucină în concentrațiile 0,1-1,0 mg/L, asigură obținerea unui mediu nutritiv pentru cultivarea *F. oxysporum* cu o toxicitate mai pronunțată pentru plantulele de grâu, ceea ce poate fi explicat

## MD 2385 B1 2004.02.29

4

prin stimularea producerii toxinelor de către ciuperca *F.oxysporum* la adăugarea aminoacidului  $\alpha$ -leucină în mediul Cszapek. Deci, noul mediu nutritiv asigură obținerea unui factor de selecție mai eficient pentru rezistența plantelor de grâu la fuzarioză.

5

### (57) Revendicare:

10 1. Mediu nutritiv pentru cultivarea ciupercii *Fusarium oxysporum* Schlecht Snyd. et Hans., care conține azotat de potasiu, dihidrogenofosfat de potasiu, sulfat de magneziu, clorură de potasiu, sulfat de fier, zaharoză, apă distilată, **caracterizat prin aceea că** conține suplimentar  $\alpha$ -leucină, ingredientele fiind

15 luate în următorul raport, g/L:

15	azotat de potasiu	2,00
	dihidrogenofosfat de potasiu	1,00
	sulfat de magneziu	0,50
	clorură de potasiu	0,50
	sulfat de fier	0,01
	zaharoză	20,00
20	$\alpha$ -leucină	0,0001...0,001
	apă distilată	până la 1 L.

25

### (56) Referințe bibliografice:

1. Билай В. И. Фузариин. Киев, Наукова думка, 1977, p. 228

**Director Departament:**

CRECETOV Veaceslav

**Examinator:**

GUȘAN Ala

**Redactor:**

LOZOVANU Maria