

Invenția se referă la agricultură, în particular la metodele de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi înalte.

Este cunoscută metoda de selectare a genotipurilor de tomate, care se bazează pe reacția de creștere a embrionilor după tratarea lor cu temperaturi înalte [1]. Însă această metodă presupune selectarea genotipurilor rezistente la etapa semințelor mature care posedă un șir de mecanisme fiziologice de protecție de temperaturile stresante, ce influențează esențial asupra gradului de rezistență și nu asigură o selecție eficientă.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în sporirea eficacității procesului de selectare a genotipurilor rezistente în urma acțiunii factorului termic la etapa de embriogeneză, precum și în reducerea perioadei de obținere a populațiilor rezistente.

Metoda propusă include cultivarea plantelor la temperatura optimă, castrarea butoanelor de culoare galben-verzuie, polenizarea artificială peste 3 zile după castrare, cultivarea plantelor peste 6...7 zile după polenizarea artificială la temperatura de 27°C noaptea și 38°C ziua timp de 10 zile și transferarea plantelor în condiții de temperatură optimă. Peste 25 zile după polenizarea artificială se efectuează colectarea fructelor imature, sterilizarea lor, izolarea din fructe a embrionilor, amplasarea lor pe mediu nutritiv Murashige, Skoog și determinarea procentului de embrioni germinați.

Rezultatul invenției constă în posibilitatea selectării genotipurilor rezistente la etapa timpurie (embriogeneză) a dezvoltării plantelor, ce sporește autenticitatea selecției și diminuează timpul selectării, deoarece genotipurile rezistente F2 se obțin în condiții in vitro (embriocultură) și din această populație se obțin semințe F3 în același an.

Exemplu de realizare a invenției

Pentru selectarea genotipurilor rezistente la temperaturi înalte au fost utilizați hibridii interspecifici F₁ Mo500 x S.pennellii și Mo 628 x Lycopersicon.hirsutum gl. Plantele au fost cultivate în vase de vegetație la temperatura de 25°C. Castrarea s-a efectuat la etapa butoanelor de culoare galben-verzuie, cu polenizarea lor ulterioară peste trei zile. Plantele experimentale peste șapte zile după polenizare au fost transferate pe o durată de zece zile în camera cu climă artificială cu regim termic 27...38°C (noapte - zi). După expirarea termenului dat aceste plante din nou au fost cultivate în condiții optime (la temperatura de 25°C). Plantele din varianta martor pe parcursul experienței au fost cultivate în condiții optime (la temperatura de 25°C).

Embrionii fiecărui genotip din ambele variante au fost izolați peste 25 zile după polenizare. Pentru această manipulare au fost colectate fructe imature și au fost sterilizate timp de 5 min cu etanol (96°), apoi au fost prelucrate la flacăra arzătorului cu alcool și plasate în cupe Petri sterile. Izolarea embrionilor s-a efectuat în câmpul de vedere al microscopului MBS-9 cu ajutorul instrumentelor speciale în condiții aseptice.

Embrionii izolați se amplasează în flacoane speciale pentru cultivare pe mediu nutritiv steril agarizat. Cultivarea embrionilor s-a efectuat pe mediu nutritiv cunoscut Murashige, Skoog pentru germinarea embrionilor hibridilor interspecifici de tomate [Культура клеток растений и биотехнология. Тезисы докладов IV Всесоюзной конференции (3-6 октября), Кишинев, Штиинца, 1983, с. 142-143]. Mediul nutritiv pentru cultivarea embrionilor conține următoarele ingrediente, ml:

nitrat de amoniu	1640,0...1650,0
clorură de calciu dihidrat	430,0...435,0
etilen diamintetraacetat de natriu	37,2...37,3
sulfat de fier heptahidrat	27,7...27,8
nitrat de potasiu	1890,0...1900,0
sulfat de magneziu heptahidrat	365,0...370,0
fosfat de potasiu monosubstituit	165,0...170,0
sulfat de zinc heptahidrat	8,6...8,7
acid boric	6,0...6,1
sulfat de mangan heptahidrat	22,1...22,3
sulfat de cupru pentahidrat	0,024...0,025
clorură de cobalt	0,024...0,025
molibdat de sodiu dihidrat	0,24...0,25
iodură de potasiu	0,80...0,81
mezoinozită	100,0...105,0
acid nicotinic	0,49...0,50
piridoxină HCl	0,49...0,5
tiamină HCl	0,08...0,09
zaharoză	27000,0...28000,0
agar-agar	6500,0...7000,0
apă	până la 1 l.

Rezistența populațiilor se determină după procentul de germinare a embrionilor pe mediu nutritiv.

În acest scop o parte din semințele mature au fost amplasate în cupe Petri și puse la germinare în termostat cu regim 25°C, peste trei zile am apreciat lungimea germenilor, după stabilirea dimensiunilor lor cupele Petri cu semințele germinate au fost transferate în termostat cu regim 43°C timp de șase ore, după acest termen materialul din nou l-am amplasat în termostat cu regim optim (25°C) timp de trei zile și am repetat aprecierea lungimii germenilor. Paralel semințele din varianta martor au fost amplasate în cupe Petri și puse la germinare în termostat cu regim optim.

Rezistența genotipurilor la temperaturi înalte a fost determinată prin corelație cu lungimea germenilor în varianta probă față de acest indiciu în varianta martor.

Rezultatele obținute demonstrează că în conformitate cu invenția, influența temperaturilor înalte diminuează viabilitatea embrionilor la ambele combinații hibride. Însă embrionii hibridului F1 Mo500 x S.pennellii au demonstrat rezistența mai sporită comparativ cu embrionii hibridului F1 Mo 628 x L.hirsutum gl. Astfel, la primul hibrid procentul viabilității embrionilor în varianta probă constituie 79,23%, în varianta martor acest indiciu era egal cu 90,74%. În combinația hibridă Mo 628 x L.hirsutum gl în varianta probă au fost viabili 56,14% de embrioni și 81,31% - în populația martor. Așadar, fondul termic utilizat și durata expoziției termice permite diferențierea embrionilor după rezistența la temperaturi înalte.

Pentru a demonstra autenticitatea selecției efectuate plantele obținute în condiții in vitro au fost transferate în vase de vegetație cu sol și cultivate până la fructificare. Semințele obținute au fost semănate în lăzi și cultivate în condiții optime. La etapa de 4...5 frunze adevărate aceste plante au fost transferate în camera cu climă artificială cu regim termic 37...42°C (noapte - zi) pe o durată de trei săptămâni. Evaluarea rezistenței populațiilor F2 s-a efectuat după procentul de supraviețuire a plantelor. S-a stabilit sporirea autentică a rezistenței la temperaturi înalte a populațiilor experimentale cu 5,9...6,8% comparativ cu martorul. O astfel de sporire a rezistenței populațiilor variantei probă se datorează selecției genotipurilor rezistente la etapa de embriogeneză.

Astfel, metoda propusă permite de a selecta genotipuri de tomate rezistente la etapa embriogenezei, ce contribuie la obținerea semințelor F3 în același an, reduce timpul și intensifică procesul ameliorării. Conform tehnologiei tradiționale în primul an de vegetație este necesar de a cultiva plante F2, de a obține semințe și de a selecta după metoda cunoscută genotipurile cu rezistența sporită. Pe parcursul anului 2 din genotipurile selectate se obțin semințe F3. Totodată, în acest caz procentul de genotipuri rezistente este mai scăzut comparativ cu metoda propusă. Descendenții F2, obținuți din populațiile selectate, pot fi utilizați în procesul de ameliorare.