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

Cea mai apropiată soluţie pentru diagnosticarea genotipurilor rezistente la temperaturi joase este metoda care se bazează pe capacitatea germinării seminţelor în condiţii de temperaturi joase [1]. Însă această metodă presupune selectarea genotipurilor rezistente la etapa seminţelor mature care posedă un şir de mecanisme fiziologice de protecţie de temperaturile stresante, care le protejează de influenţa factorilor stresogeni, şi care influenţează esenţial asupra gradului de rezistenţă, însă nu asigură o selecţie eficientă.

Problema pe care o rezolvă invenţia constă în sporirea eficacităţii procesului de selectare a genotipurilor rezistente în urma acţiunii factorului termic la etapa de embriogeneză, precum şi în reducerea perioadei de obţinere a populaţiilor rezistente.

Esenţa invenţiei constă în aceea că metoda include cultivarea plantelor în condiţii de temperatură optimă, castrarea mugurilor florali de culoare galben-verzuie, polenizarea artificială peste 3 zile după castrare, cultivarea plantelor peste 10 zile după polenizarea artificială la temperatura de 6ºC noaptea şi de 9ºC ziua timp de 10 zile, şi transferarea plantelor în condiţii de temperatură optimă. Peste 25 de zile după polenizarea artificială se efectuează colectarea fructelor imature, sterilizarea lor, izolarea din fructe a embrionilor, amplasarea lor pe mediu nutritiv şi determinarea procentului de embrioni germinaţi.

Rezultatul constă în diminuarea timpului de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la temperaturi joase şi sporirea autenticităţii selectării lor.

Exemplu de realizare a invenţiei

Pentru selectarea genotipurilor rezistente la temperaturi joase au fost utilizaţi hibrizii interspecifici F_1 Mo500 x *S.pennellii* şi Mo 628 x *Lycopersicon hirsutum* gl. Plantele au fost cultivate în vase de vegetaţie în condiţii optimale de temperatură (18...25^{o}C noapte-zi). Castrarea s-a efectuat la etapa mugurilor florali de culoare galben-verzuie, cu polenizarea lor ulterioară peste trei zile. Plantele experimentale peste zece zile după polenizare au fost transferate pe o durată de zece zile în camera cu climă artificială cu regim termic de 6...9^{o}C (noapte-zi). După expirarea termenului dat aceste plante din nou au fost instalate şi cultivate în condiţii optimale (18...25^{o}C noapte-zi). Plantele din varianta martor pe tot parcursul experienţei au fost cultivate în condiţii optimale (18…25^{o}C noapte-zi).

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

Embrionii izolaţi se amplasează în flacoane speciale pentru cultivare pe mediu nutritiv steril agarizat. Cultivarea embrionilor s-a efectuat pe mediu nutritiv cunoscut Murashige-Scoog. Mediul nutritiv pentru cultivarea embrionilor conţine următoarele ingrediente, mg/1:

- nitrat de amoniu	1640,0...1650,0
- clorură de calciu dehidrat	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 dehidrat	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 11.

Rezistenţa populaţiilor se determină după procentul de germinare a embrionilor pe mediul nutritiv.

Pentru evaluarea comparativă selecţia genotipurilor rezistente la temperaturi joase s-a efectuat de asemenea şi după metoda cunoscută [1]. În acest scop o parte de seminţe mature din varianta martor şi probă au fost amplasate în cupe Petri şi puse la germinare în termostat cu regim 22...25^{o}C, timp de 24 ore, după acest termen au fost amplasate în termostat cu regim termic 12^{o}C pe 17 zile, pe parcursul acestui termen a fost înregistrată cantitatea de seminţe germinate.

Încolţirea seminţelor s-a determinat după raportul cantităţii de seminţe germinate la temperatura de 12^{o}C faţă de acest indiciu la temperatura de 22...25^{o}C. Rezultatele obţinute demonstrează că, în conformitate cu invenţia, influenţa temperaturilor joase la etapa embriogenezei sporeşte frecvenţa de eliminare *in vitro* a embrionilor

nerezistenţi la ambele combinaţii hibride. Astfel, viabilitatea embrionilor hibridului F1 Mo500 x *S.pennellii* în varianta martor constituie 11,4%, iar în varianta probă 19,9%. La hibridul F1 Mo 628 x *L.hirsutum* aceste indicii sunt echivalente cu 19,6 şi 38,5% corespunzător.

Pentru a demonstra autenticitatea selecţiei efectuate la etapa de embriogeneză a fost evaluată la temperaturi joase a populaţiilor segregante F3. În acest scop plantele obţinute în condiţii *in vitro* au fost transferate în vase de vegetaţie cu sol şi cultivate până la fructificare. Seminţele obţinute au fost semănate în lăzi şi cultivate în condiţii de temperaturi optimale (18...25^{o}C). La etapa de 4...5 frunze adevărate aceste plante au fost transferate în camera cu climă artificială cu regim termic 12...14^{o}C (noapte-zi) pe o durată de trei săptămâni. Evaluarea rezistenţei populaţiilor la temperaturi joase s-a efectuat prin distribuirea valorilor indiciului masa plantelor pe fondul de temperaturi joase (tabel).

Tabelul

Influenţa selecţiei embrionilor asupra variabilităţii frecvenţei şi spectrului după masa plantelor în populaţiile hibride F3

Hibridul	Clase de plante, masa (g)	Numărul de plante, %	
Mo500 x *S.pennellii*	0,1...0,5	71±2,62	51±2,35
	0,6...0,9	23±2,43	21±1,92
	1,0...1,2	6±1,65	11±1,47
	1,3...2,1	-	17±1,77
Mo628 x *L.hirsutum*	0,1...0,5	61±2,18	53±2,04
	0,6...0,9	14±1,55	11±1,28
	1,0...1,2	11±1,40	15±1,46
	1,3...2,1	14±1,55	21±1,66

Populaţiile din varianta probă cultivate pe fondul temperaturilor joase se caracterizează prin majorarea frecvenţei plantelor cu masa mai mare. Acest fapt se datorează selectării genotipurilor rezistente la temperaturi joase la etapa formării, dezvoltării şi creşterii embrionilor. Totodată cota de influenţă a plantelor cu masa mică se micşorează autentic corespunzător. În acelaşi timp în componenţa populaţiilor selectate a fost depistată mărirea masei medii a plantelor cu valori maxime care lipsesc în control.

Astfel, acţiunea temperaturilor joase la etapa embriogenezei contribuie la selectarea genotipurilor rezistente, fapt care provoacă sporirea rezistenţei la temperaturi joase în populaţiile hibride F3.

Aşadar, metoda propusă permite de a selecta genotipuri rezistente de tomate la etapa embriogenezei, fapt ce contribuie la obţinerea seminţelor F3 în acelaşi an, reduce durata şi intensifică procesul ameliorării. Conform tehnologiei tradiţionale în primul an de vegetaţie este necesar de a cultiva plante F2, de a obţine seminţe şi de a selecta după metoda cunoscută genotipurile cu rezistenţă sporită. Pe parcursul anului doi din genotipurile selectate se obţin seminţe F3, care pot fi utilizate în ameliorare.