

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3739** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) Int. Cl.: *A01H 1/04* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2008 0071 (22) Data depozit: 2008.03.14</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.11.30, BOPI nr. 11/2008</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: CRAVCENCO Anatol, MD; SALTANOVICI Tatiana, MD; JACOTĂ Anatol, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ ȘI FIZIOLOGIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p>	

(54) Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la agricultură, și anume la selecția plantelor și poate fi utilizată la selectarea genotipurilor de tomate rezistente la secetă.

Metoda propusă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, cultivarea polenului pe un mediu nutritiv pentru martor și pe un mediu nutritiv pentru probă, care modelează condițiile de secetă, determinarea viabilității polenului la martor și la

2

probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul de grăuncioare analizate, calcularea indicilor rezistenței polenului prin raportul viabilității polenului la probă către martor și selectarea genotipurilor, care au indicii de rezistență mai mari.

Revendicări: 1

MD 3739 G2 2008.11.30

3

Descriere:

Invenția se referă la agricultură, și anume la selecția plantelor și poate fi utilizată la selectarea genotipurilor de tomate rezistente la secetă.

5 Este cunoscută metoda de estimare indirectă a genotipurilor de ricin după rezistența lor la arșiță la nivel de polen, care este bazată pe prelucrarea termică a polenului la temperatura de 40°C cu durata de o oră și cultivarea ulterioară a polenului pe un mediu nutritiv artificial pe fondul de 25°C și expoziția 3 ore. Despre rezistența gametofitului masculin autorii au judecat după nivelul diminuării procentului de germinare a polenului și lungimii tuburilor polinice [1]. Această metodă de fapt permite diferențierea genotipurilor după rezistență doar la temperaturi înalte (arșiță), deci numai la unul din factorii care provoacă seceta și nu presupune efectuarea estimării directe a rezistenței la secetă a polenului în condiții de stres osmotic, care este provocat de acțiunea secetei și de aceea nu determină precis nivelul de rezistență a plantelor la etapa reproductivă, cu toate că în această perioadă genotipurile sunt cele mai sensibile la acțiunea secetei. Deci, evaluarea rezistenței polenului *in vitro* pe mediul, care modelează influența secetei, permite de a determina în mod rapid și autentic rezistența genotipurilor la acțiunea acestui factor și a efectua diferențierea lor pe această bază.

15 Problema pe care o rezolvă invenția constă în creșterea nivelului de autenticitate a estimării rezistenței genotipurilor de tomate la secetă.

20 Metoda de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, cultivarea unei părți de polen pe un mediu nutritiv pentru martor, conținând, g/L:

zaharoză	145...155
acid boric	0,5...0,7
apă distilată	restul

și cultivarea unei alte părți de polen pe un mediu nutritiv pentru probă, care modelează condițiile de secetă, conținând, g/L:

zaharoză	395...405
acid boric	0,5...0,7
apă distilată	restul.

25 Se determină viabilitatea polenului la martor și la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul de grăuncioare analizate, exprimat în procente. Se calculează indicii rezistenței polenului prin raportul viabilității polenului la probă către martor, exprimat în procente, fiind selectate genotipurile, care au indicii de rezistență mai mari.

În acest caz genotipurile se diferențiază după acest indice și autenticitatea diferențierii poate fi determinată după criteriul t a lui Student la trei niveluri de semnificație.

30 Rezultatul constă în posibilitatea selectării genotipurilor de tomate după rezistența lor la secetă cu utilizarea polenului matur, ce majorează autenticitatea determinării și permite utilizarea genotipurilor selectate în procesul de hibridizare în același an, ce sporește procesul de selecție; așadar, conform tehnologiei tradiționale, estimarea directă a rezistenței genotipurilor se efectuează prin analiza semințelor germinate, pentru aceasta este necesar de a cultiva plante până la fructificare, a separa semințe din fructe mature și numai pe acest material a efectua estimarea și selectarea genotipurilor rezistente, a cultiva din ele plante până la etapa de înflorire și numai după aceea a utiliza aceste genotipuri pentru hibridizare.

40 Pentru diferențierea genotipurilor de tomate după rezistența la secetă au fost utilizate următoarele genotipuri: specia spontană *Lycopersicon hirsutum glabratum*, varietatea semiculturală *Lycopersicon esculentum* var. pruniforme, 2 hibridi interspecifici F1 Merișor x *L.esc.* var. pruniforme și Frigușor x *L.chilenzi*. Plantele au fost cultivate în condiții de câmp până la înflorire. La fiecare genotip de pe 15...20 de plante au fost colectate flori complet deschise, apoi au fost separate antere, care se amplasează în pachete de hârtie pergament pentru uscarea ușoară în condiții de temperatură 25...26°C timp de 6 ore. După expirarea termenului dat polenul a fost izolat din antere prin scuturare mecanică și pentru determinarea ulterioară a viabilității inițiale a fost semănat pe medii nutritive cu ajutorul instrumentelor speciale. O parte de polen a servit în calitate de martor, a doua parte de polen în calitate de probă se seamănă pe mediu, care modelează condițiile de secetă.

Mediul nutritiv pentru cultivarea polenului conține următoarele componente, g/L:

50	MARTOR:	zaharoză	145...155
		acid boric	0,5...0,7
		apă distilată	până la 1000 mL.
	PROBA:	zaharoză	395...405
		acid boric	0,5...0,7
		apă distilată	până la 1000 mL.

MD 3739 G2 2008.11.30

4

Polenul din ambele variante (martor și probă) pentru cultivare a fost semănat într-o picătură de mediul nutritiv pe sticle portobiect, care au fost amplasate în cupe Petri pe strat de hartie de filtru umed, care apoi a fost transferat în termostat cu regim termic de 27...28°C cu durata de 3 ore. În fiecare variantă la microscop se analizează câte 600 grăuncioare de polen. Rezistența polenului a fost determinată în două etape.

5

Etapa 1. A fost determinată viabilitatea polenului în variantele martor (M) și probă (P) prin raportul dintre numărul grăuncioarelor de polen germinate și toate grăuncioarele de polen analizate în procente.

10

Etapa 2. A fost calculată rezistența polenului după raportul indicilor obținuți la etapa 1 după formula:

$$Rez = \frac{P}{M} \times 100\%$$

unde: P - viabilitatea polenului în varianta probă,

M - viabilitatea polenului în varianta martor.

15

Rezultatele obținute au demonstrat că conform invenției zaharoza în concentrație de 40% permite de a diferenția autentic genotipurile după rezistența lor la stres osmotic la cel mai înalt nivel semnificativ.

Tabel

20

Viabilitatea și rezistența polenului de tomate

Genotipul	Viabilitatea polenului, %		Rezistența, %
	martor	probă	
<i>L. hirsutum glabratum</i>	46,3±2,03	5,2±0,91	11,20±0,91*
<i>L. esc. var. pruniforme</i>	63,4±1,96	29,0±1,85	45,74±1,43*
F1 Merișor x <i>L. esc. var. pruniforme</i>	46,4±2,03	12,3±1,34	26,51±1,27*
F1 Frigușor x <i>L. chilenzi</i>	68,2±1,90	11,7±1,31	17,15±1,08*

* Deosebiri între genotipuri sunt autentice pentru P<0,001.

25

Pe baza datelor obținute rezistența maximală la acțiunea stresului osmotic au manifestat grăuncioarele de polen la varietatea semiculturală *L. esculentum* var. pruniforme; apoi urmează hibridii F1 Merișor x *L. esculentum* var. pruniforme și F1 Frigușor x *L. chilenzi*. La specia spontană *L. hirsutum glabratum*, a fost stabilit cel mai mic procent de rezistență a polenului (tab.).

Așadar, metoda propusă permite de a selecta cu autenticitate înaltă genotipurile de tomate după rezistența lor la secetă.

MD 3739 G2 2008.11.30

5

(57) Revendicări:

- 5 Metodă de selectare a genotipurilor de tomate rezistente la secetă, care include colectarea florilor complet deschise de fiecare genotip, separarea polenului din antere, cultivarea unei părți de polen pe un mediu nutritiv pentru martor, conținând, g/L:
- | | |
|---------------|-----------|
| zaharoză | 145...155 |
| acid boric | 0,5...0,7 |
| apă distilată | restul |
- 10 și cultivarea unei alte părți de polen pe un mediu nutritiv pentru probă, care modelează condițiile de secetă, conținând, g/L:
- | | |
|---------------|-----------|
| zaharoză | 395...405 |
| acid boric | 0,5...0,7 |
| apă distilată | restul, |
- 15 determinarea viabilității polenului la martor și la probă prin raportul dintre numărul de grăuncioare de polen germinate și numărul de grăuncioare analizate, exprimat în procente, calcularea indicilor rezistenței polenului prin raportul viabilității polenului la probă către martor, exprimat în procente, fiind selectate genotipurile, care au indicii de rezistență mai mari.
- 20

(56) Referințe bibliografice:

1. Методы отбора ценных генотипов на уровне пыльцы. Методические рекомендации. Оценка засухоустойчивости спорофита по пыльце у клещевины. Институт масличных культур УААН, Запорожье, 2000, с. 19-21