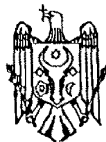




MD 2385 G2 2004.02.29

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **2385** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) **Int. Cl.**⁷: C 12 N 1/14 ;
(C 12 N 1/14,
C 12 R 1:77)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2003 0091 (22) Data depozit: 2003.03.28	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.02.29, BOPI nr. 2/2004
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: LUPAȘCU Galina, MD; SAȘCO Elena, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(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

2
5 potasiu 0,50, sulfat de fier 0,01, zaharoză 20,00, α -leucină 0,0001...0,001 și apă distilată până la 1 L.
Rezultatul constă în stimularea sintezei metabolitelor toxice de către ciuperca *Fusarium oxysporum*.
Revendicări: 1

10

MD 2385 G2 2004.02.29

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 KNO_3 – 2000, monofosfat de potasiu KH_2PO_4 – 1000, sulfat de magneziu MgSO_4 – 500, clorură de potasiu KCl – 500, sulfat de fier 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 KNO_3 – 2,00; dihidrogenofosfat de potasiu KH_2PO_4 – 1,00; MgSO_4 – 0,50; KCl – 0,50; FeSO_4 – 0,01; zaharoză – 20,00; aminoacidul α -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: KNO_3 – 2000; KH_2PO_4 – 1000; MgSO_4 – 500; KCl – 500; 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 α -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 termostaț la temperatura de 22...24°C timp de 21 de zile (Методы экспериментальной микологии, Киев, Наукова думка, 1982, c. 296), astfel obținându-se FC al ciupercii *F. oxysporum*. Apoi FC a fost separat de miceliul ciupercii prin hârtie 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 α -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 hârtie 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 α -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 α -leucină asupra unor indici de creștere ai plantelor de grâu

Nr.	Varianta, mg/L	Germinația, %		Lungimea rădăcinii, mm	
		$\bar{x} \pm m$	% față de martor	$\bar{x} \pm m$	% față de martor
1.	Martor (H_2O)	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> + α -leucină; 10	57,5 $\pm$ 5,2	89,6	110,5 $\pm$ 3,7*	86,9
4.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 1	53,3 $\pm$ 0,8*	83,0	99,9 $\pm$ 4,5*	78,5
5.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 0,1	53,8 $\pm$ 1,0*	83,8	100,4 $\pm$ 3,3*	78,9
6.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 0,01	55,8 $\pm$ 2,2*	87,0	110,5 $\pm$ 3,6*	86,9
7.	FC <i>F. oxysporum</i> + α -leucină; 0,001	56,7 $\pm$ 0,8	88,3	114,9 $\pm$ 3,4	90,3

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

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

- 5 Din cele prezentate rezultă că noul mediu, obținut prin suplimentarea mediului nutritiv Cszapek cu aminoacidul α -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 prin stimularea producerii toxinelor de către ciuperca *F. oxysporum* la adăugarea aminoacidului α -leucină în mediul Cszapek. Deci, noul mediu nutritiv asigură obținerea unui factor de selecție mai eficient pentru rezistența plantelor de grâu la fuzarioză.
- 10

(57) Revendicare:

- 15 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 α -leucină, ingredientele fiind luate în următorul raport, g/L:
- | | | |
|----|------------------------------|----------------|
| 20 | 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 |
| 25 | α -leucină | 0,0001...0,001 |
| | apă distilată | până la 1 L. |

(56) Referințe bibliografice:

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

Director Departament

Invenții:

CRECETOV Veaceslav

Examinator:

GUȘAN Ala

Redactor:

LOZOVANU Maria