



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2017 00495

(22) Data de depozit: 20/07/2017

(41) Data publicării cererii:
27/04/2018 BOPI nr. 4/2018

(71) Solicitant:
• BOTOMAN GHEORGHE, SAT FÂNTÂNA,
COMUNA HOGHIZ, BV, RO

(72) Inventatori:
• BOTOMAN GHEORGHE, SAT FÂNTÂNA,
COMUNA HOGHIZ, BV, RO

(54) METODA SELECȚIEI REZISTENȚEI GENETICE A SOIURILOR
ȘI LINIILOR DE CARTOF FAȚĂ DE NEMATODUL AURIU
AL CARTOFULUI *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* WOLL
1923 ÎN CONDIȚII DE LABORATOR, CU TUBURI
DIN PLASTIC CONICE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de testare a rezistenței genetice a soiurilor și liniilor de cartof față de nematodul auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*. Metoda, conform invenției, constă în pregătirea tuberculilor de cartof, fixarea acestora pe niște tuburi din plastic conice prin intermediul unor gume elastice, adăugarea în fiecare tub a unui amestec de sol steril și infestat inițial cu un număr de 38 larve și ouă/gram de sol nematodul auriu al cartofului, amplasarea tuberculilor montați la tuburile conice în spații și condiții optime de dezvoltare

a plantei de cartof, monitorizarea ciclului evolutiv al dăunătorului, de circa 72...75 zile, după care se scoate balotul cu rădăcini, format din tubul conic din plastic, și se numără femelele nou formate - viitorii chiști - fixate pe rădăcinile tinere ale plantei, pentru evaluarea rezistenței genetice a respectivei plante.

Revendicări: 2
Figuri: 1





DESCRIERE

a) Titlul inventiei

METODA SELECTIEI REZISTENTEI GENETICE A SOIURILOR SI LINIILOR DE CARTOF FATA DE NEMATODUL AURIU AL CARTOFULUI *Globodera rostochiensis* Woll 1923 IN CONDITII DE LABORATOR, CU TUBURI DIN PLASTIC CONICE

b) Precizarea domeniului tehnic la care se refera inventia:

In cadrul programului de ameliorare pentru rezistenta la nematodul cu chisti al cartofului *Globodera rostochiensis*, un rol esential il are selectia pentru rezistenta a noilor linii de ameliorare create in urma hibridarilor cu genitori purtatori de gene de rezistenta. Programul clasic de ameliorare la cartof este destul de lung, 10-12 ani, iar metoda de fata de testare a rezistentei la nematodul auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*, este expeditiva, foarte precisa si permite testarea materialului biologic, in perioada noiembrie-aprilie, in cicluri succesive, astfel incat rezultatele testarii sunt puse la dispozitia amelioratorului inainte de ciclul urmator de cultura in conditii de camp.

Nematodul auriu *Globodera rostochiensis* este considerat pe plan mondial ca cel mai important daunator al cartofului iar in Romania reprezinta un daunator de carantina, socele gasite infestate cu acest daunator sunt carantinate pentru o perioada foarte lunga de timp.

c) Precizarea stadiului metodelor de testare clasice cunoscute:

Pe plan mondial exista la ora actuala diferite metode de testare a rezistentei materialului de ameliorare fata de nematodul auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*:

- Cultivarea plantelor in ghivece de pamant ars sau plastic umplute cu sol infestat in sere.
- Cultivarea plantelor in ghivece de plastic asezate pe pamant infestat in rasadnite.
- Cultivarea plantelor in ghivece cu pamant liber de nematozi si adaugarea de chisti sau suspensie de oua/larve.
- Cultivarea plantelor in eprubete cu pamant infestat.
- Cultivarea plantelor in pungii de plastic la intuneric pe substrat steril si adaos de larve in suspensie.
- Cultivarea plantelor in containere din plastic la intuneric pe substrat steril si adaos de larve in suspensie.
- Cultivarea de radacini pe mediu steril de agar in vase Petri si adaugarea de larve.

Dupa terminarea ciclului evolutiv al daunatorului, la fiecare metoda utilizata, urmeaza bonitarea rezistentei materialului biologic supus testarii, prin numararea chistilor nou aparuti pe radacinile formate.

d) Prezentarea problemei tehnice de testare

Problema tehnica pe care urmareste sa o rezolve inventia, consta in reducerea timpului de testare, prin cele doua cicluri consecutive in conditii de laborator, in perioada octombrie-aprilie, precizia de stabilite a populatiei initiale (Pi) utilizata pentru infestarea artificiala cat si utilizarea unui spatiu relativ limitat pentru testarea unui

numar foarte mare de linii de ameliorare in conditii optime pentru buna desfasurare a ciclului evolutiv al daunatorului.

e) Expunerea inventiei

ETAPELE METODEI

Etapele metodei sunt specifice metodelor clasice de testare in ghivece din lut ars sau din plastic amplasate in sere sau solaria pe parapeti inaltati. Metodele clasice necesita spatii foarte mari de testare in care este foarte greu de atins conditiile optime de umiditate si temperatura, atat pentru planta de cartof cat si pentru buna desfasurare a ciclului biologic al nematodului auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*. Elementele de noutate ale metodei de fata sunt urmatoarele:

- Posibilitatea de testare si selectie a rezistentei soiurilor si liniilor de cartof in doua cicluri, in perioada rece a anului (octombrie-aprilie) si scurtarea schemei clasice de ameliorare cu unul sau doi ani, amelioratorul primind rezultatele testarii rezistentei inainte de infiintarea noului ciclu de vegetatie in camp.
- Determinarea nivelului de infestare initial (Pi) optim pe gramul de sol si a structurii populatiilor de nematozi utilizati la infestarea artificiala, prin folosirea unei colectii de soiuri cu rezistenta genetica cunoscuta la diferitele specii si patotipuri ale genului *Globodera*, precum si studierea riguroasa a rapoartelor de segregare.
- Inlocuirea ghivecelor clasice din lut ars sau plastic cu tuburi conice din plastic suspendate de care se fixeaza cate un tubercul de cartof.
- Inlocuirea spatiilor de testare clasice (sere sau solarii) cu suportii metalici special construiti si amplasati intr-un laborator de cca 20 de metri patrati, unde se pot realiza parametrii optimi de temperatura si umiditate.

Materialul folosit si conditiile din spatiul de testare

Tuburi din plastic conice (fig. 1). Aceste recipiente de testare sunt confectionate din plastic, avand urmatoarele dimensiuni:

- inaltimea: 8 cm;
- diametrul bazei mari: 4,0 cm;
- diametrul bazei mici: 3,0 cm;
- inaltimea agățătorii: cca 3 cm;
- volumul util: cca 250 ml.

Tuburile prezintă pe circumferința bazei mari un număr de circa 8-10 fante triunghiulare cu înălțimea de cel mult 1 cm, necesare drenării apei în surplus pe toată perioada testării.

Opacitatea materialului din plastic utilizat favorizează dezvoltarea unui sistem radicular abundent, foarte propice pentru desfășurarea corespunzătoare a ciclului biologic al nematozilor cu chiști ai cartofului (NCC).

Culoarea plasticului s-a dovedit că nu influențează cu nimic dezvoltarea plantei de cartof sau a dăunătorului.

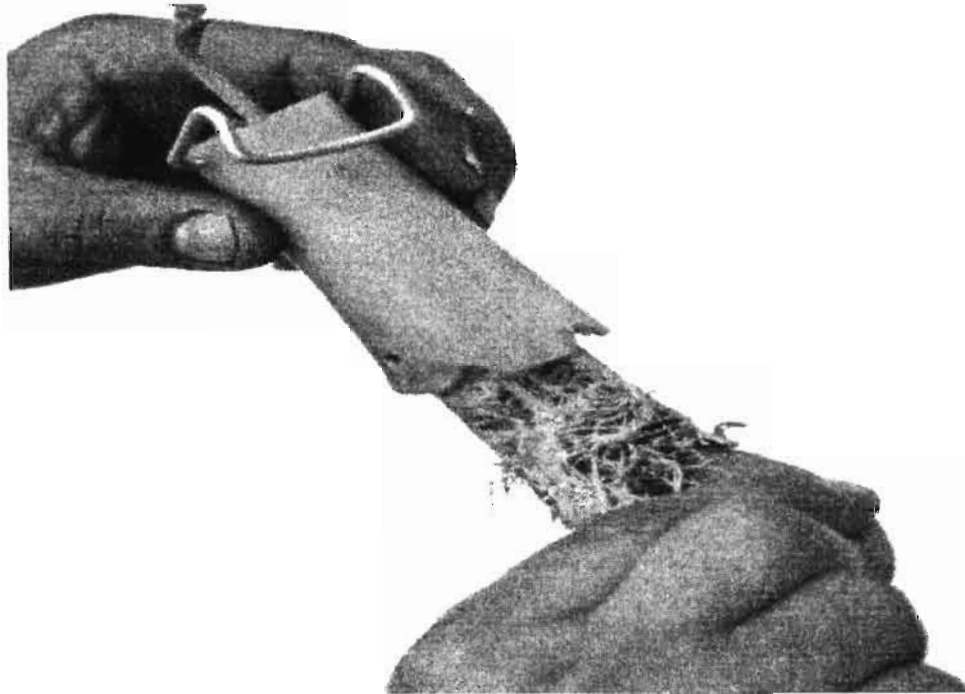
Conicitatea tuburilor se efectuează cu o matrița metalică încălzită și unsă cu ulei mineral, pentru a evita lipirea plasticului în momentul deformării.

Imediat ce s-a realizat conicitatea dorită, tubul este plasat pe o matrița de aceleași dimensiuni, dar rece, până când temperatura plasticului este mai mică de 45°C. Conicitatea tuburilor este necesară în momentul efectuării bonității, când balotul de pământ înțesat de rădăcini se scoate din tub în vederea analizării (fig. 2).

Tuburile sunt prevăzute la partea superioară cu agățători, confectionate din sârmă de aluminiu, necesare la fixarea acestora pe suportii metalici, iar la cca 1 cm de baza mare, cu 2 cârlige din

aluminii, de care sunt agățate inelele din gumă necesare fixării intime a tuberculului supus testării de tub.

Fig. 2 Scoaterea balotului de rădăcini din tub



Amestecul de sol. În ceea ce privește substratul de cultură, acesta trebuie să fie steril sau cel puțin liber de chiști viabili. Sterilizarea se efectuează cu aburi la 160° C timp de 1-2 ore sau cu formalină 2% și acoperire cu folie din polietilenă timp de cca 72 ore. Pentru volatilizarea formalinei se recomandă o temperatură de cel puțin 18-20°C.

Există mai multe rețete pentru substratul de cultură, în experiențele noastre fiind utilizată următoarea rețeta:

- turbă bine măcinată 30%;
- mranita bine descompusă 30%;
- pământ de țelină cernut 30%;
- nisip de râu de spălat 10%.

Important este că pe toată perioada testării, substratul de cultură să permită aerisirea normală a solului, reținerea apei de udare, dezvoltarea unui sistem radicular abundent și o ușoară evacuare a balotului de rădăcini din tub în momentul efectuării bonității. Dacă din diferite motive, balotul de rădăcini care cuprinde practic tot volumul de sol din tub, este prea compact se recomandă pentru testarea următoare mărirea procentului de nisip cu până la 20-25% și reducerea corespunzătoare a celorlalte ingrediente.

Suporții metalici de testare.

Sunt practic niște rafturi metalice de 200x200 cm și o latime de 40 cm special construite, prevăzute cu 6 nivele de testare, capacitatea fiecărui nivel de testare fiind de 180 de tuburi repartizate pe 7 rânduri (figura 3). Rafturile sunt amplasate în laboratorul de testare astfel încât să se poată ușor circula în jurul lor când se efectuează lucrările de întreținere curente și în final bonitarea. Marele avantaj al acestor rafturi este că pe un volum relativ scăzut pot fi testați câteva sute de tuberculi în condiții de mediu foarte asemănătoare. Pentru colectarea surplusului

de apă rezultat în urmă udării, rafturile metalice sunt prevăzute cu tavi din plastic situate la fiecare nivel.

Pe fiecare nivel se amplasează și 20 de tuberculi dintr-un soi sensibil la nematodul cu chisti al cartofului *Globodera rostochiensis*, pentru o bună verificare a nivelului de infestare, o monitorizare periodică a ciclului de viață al daunătorului și stabilirea perioadei optime de bonitare.

Tuberculii.

Dimensiunea optimă a tuberculilor supuși testării este de 5-6 cm în diametru. Tuberculii mai mici decât diametrul bazei mari a tubului din plastic, nu pot realiza o prindere corespunzătoare de tub, pătrund circa 40-50% în interiorul acestuia reducând volumul util, iar majoritatea dintre ei putrezesc parțial sau total până la finele testării, din cauza lipsei de aerisire și a apei care nu se poate drena. În acest caz se recomandă o udare mai redusă și un control periodic al stării de sănătate al tuberculilor. Tuberculii se prind de tub în zona apicală, unde sunt grupați cei mai mulți ochi de creștere.

Fiecare tubercul este numerotat cu marker conform listei de testare primită de la ameliorator, pentru fiecare soi sau linie existând 3 repetiții. Tuberculii sunt amplasați pe rafturile de testare după montarea lor la tub și după umplerea tuburilor cu amestec de pamant și efectuarea infestării artificiale (fig. 3). La terminarea aranjării lor se întocmește un plan al testării, care permite oricând verificarea comportamentului unui anumit soi sau linie în diferitele faze ale testării precum și a soiului sensibil utilizat ca martor.

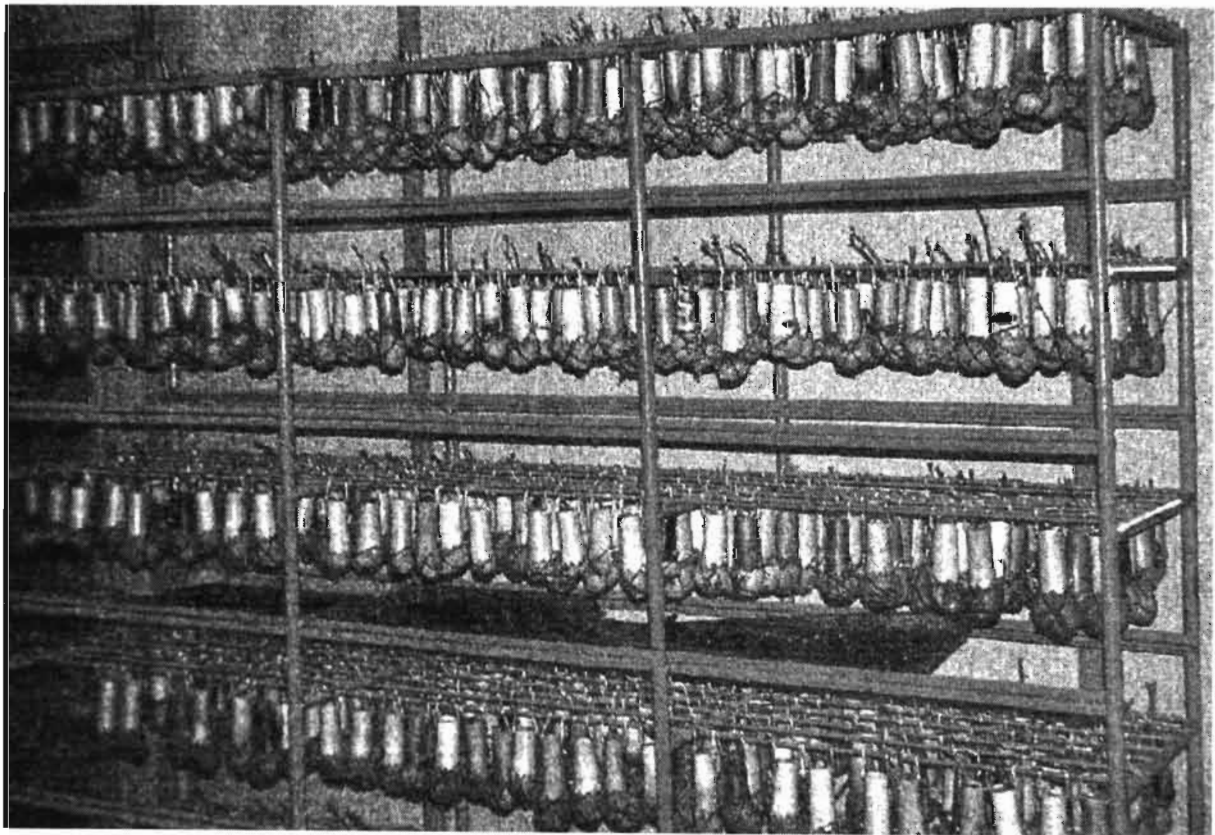


Fig. 3 Tuberculi montați la tuburi din plastic conice amplasați pe rafturi metalice

Umiditatea.

Amestecul de sol trebuie să aibă o umiditate de cca 65-75%. Pentru realizarea acesteia se execută udări de întreținere de 2-3 ori pe săptămâna cu circa 2 ml de apă pe tub. Apa utilizată la udare este colectată de la rețea cu cel puțin 24 de ore înainte și păstrată la temperatura camerei pentru eliminarea clorului. Udarea cu apă colectată direct de la robinet poate modifica brusc temperatura balotului de rădăcini cu repercursiuni nefavorabile asupra plantei și biologiei nematodului.

Temperatura.

Temperatura optimă din laboratorul de testare este de 18-20°C ziua și 15-17°C noaptea. Prin amplasarea tuburilor din plastic, la diferite nivele pe rafturile metalice se realizează o diferență de temperatura de cca 0,5°C la fiecare nivel (tab. 1).

Tabelul 1.

Temperatura realizată la diferite nivele de testare pe rafturile metalice.

Nivelul	T°C	Diferența față de nivelul inferior °C
1	18	0,5
2	18,5	0,5
3	19	0,5
4	19,5	0,5
5	20	0,5
6	20,5	0,5

Când spațiul de testare este suficient, se recomandă evitarea amplasării tuburilor cu tuberculi la nivelele 1 și 6, pentru a elimina temperaturile minime și maxime admise, care dau diferențe nedorite asupra rezultatelor testării.

Curenții de aer nu sunt recomandați în spațiul de testare, aerisirea făcându-se cu mare atenție.

Lumina.

Lumina nu trebuie să fie foarte intensă, dar se recomandă o iluminare naturală sau artificială a spațiului de testare de cca 14 ore pe zi.

Infestarea artificială.

Dacă până acum toți ceilalți factori de mediu și sol care concurează la buna desfășurare a testării sunt relativ comuni la toate metodele de testare și sunt impuși de cerințele plantei de cartof și ale dăunătorului, nivelul de infestare inițial sau populația inițială (Pi) a trebuit să fie stabilită experimental.

Pentru această s-a ținut cont de faptul că testarea rezistenței materialului de ameliorare se face pentru specia *Globodera rostochiensis*, patotipul Ro1,4

Această rezistență este de tip calitativ (totul sau nimic) controlată de gena H1, provenită de la specia *Solanum andigenum*. De asemenea, s-a ținut cont în stabilirea presiunii de infecție inițiale (Pi) de concurență față de hrană, fiind cunoscut faptul că diferențierea pe sexe este determinată și de acest factor.

Populația de NCC cu care s-a lucrat, provine de la Joseni – Lăzarea, județul Harghita și aparține speciei *Globodera rostochiensis*, patotipul Ro1, 4, fiind verificată prin metoda focusării izoelectrice. Populația respectivă a fost multiplicată, în condiții controlate de

Laborator, pe soiuri sensibile folosindu-se în acest scop cu precădere soiul Desiree. Pentru stabilirea cu exactitate a numărului mediu de ouă și larve pe chist s-au recoltat 10 probe de sol infestat, provenit de la multiplicarea NCC în condiții de laborator și s-au examinat microscopic (tabelul 2).

Tabelul 2. Estimarea numărului mediu de larve și ouă viabile / chist

Nr. probă	Nr. chiști /g sol	Nr. larve/chist*	Nr. ouă/chist*	Nr. total larve și ouă/chist*
1	34	56	184	240
2	35	27	317	344
3	39	22	184	206
4	44	24	242	266
5	30	92	306	398
6	36	33	304	337
7	38	31	202	233
8	34	31	246	277
9	37	124	273	397
10	39	22	173	195
Media	36,6	46,2	243,1	289,3

*- Media a 5 repetiții

Cunoscând numărul de larve și ouă din chisti s-a trecut la efectuarea infestării artificiale urmărindu-se trei aspecte:

Determinarea relației dintre rata de multiplicare a NCC (P_f / P_i) și nivelul de infestare inițial (P_i), pe un soi sensibil (Desiree), în scopul stabilirii unei presiuni de infecție inițiale corespunzătoare pentru metoda de testare la tuburi din plastic conice.

Determinarea structurii populației de NCC utilizată la efectuarea testelor pentru rezistență, prin metoda tuburilor din plastic conice.

Testarea rezistenței unor populații hibride de cartof și studierea rapoartelor de segregare.

Pentru determinarea relației dintre rata de multiplicare a NCC (P_f / P_i) și nivelul de infestare inițial s-au folosit cinci nivele de infestare inițiale în 3 repetiții, exprimate în număr de chiști / tub, număr de larve și ouă / tub și număr de larve și ouă/g de sol (tab. 3).

Tabelul 3.
Nivelele de infestare inițială (Pi)

Nr. chiști / tub	Nr. mediu de larve si ouă / chist	Nr. mediu de larve si oua/tub	Greutatea amestecului de sol / tub (g)	Nr. mediu de larve si oua / g sol (Pi)
8	289,3	2314,4	150	15,4
12	289,3	3471,6	150	23,1
16	289,3	4628,8	150	30,8
20	289,3	5786,0	150	38,6
24	289,3	6943,2	150	46,3

La determinarea structurii populației de NCC, utilizată la efectuarea testelor pentru rezistență, s-au folosit un număr de 21 soiuri de cartof, existente în colecția INCDCSZ Brașov. Soiurile au fost studiate genealogic cunoscându-se sursele genetice de la care s-au transmis genele de rezistență. Dintre acestea 5 soiuri nu au în genomul lor gene de rezistență, fiind considerate sensibile (tabelul 4).

Tabelul 4

Colecția de soiuri utilizate pentru testare și sursa de rezistență

Nr. crt.	Soiul	Sursa de rezistență	Genele care conferă rezistență
1	AMIGO	S.t. ssp andigenum	H1
2	AMINCA	S.t. ssp andigenum	H1
3	ANOSTA	S.t. ssp andigenum	H1
4	ASTARTE	Solanum vernei	Gene minore*
5	AUSONIA	S.t. ssp andigenum	H1
6	CERTO	S.t. ssp andigenum	H1
7	FORTUNA	Solanum vernei	Gene minore*
8	HERTHA	Solanum vernei	Gene minore*
9	MARIS PIPER	S.t. ssp andigenum	H1
10	PREVALENT	S.t. ssp andigenum	H1
11	PRIOR	S.t. ssp andigenum	H1
12	PROCURA	S.t. ssp andigenum	H1
13	PROMESSE	Solanum vernei	Gene minore
14	ROXY	S.t. ssp andigenum	H1
15	UKAMA	S.t. ssp andigenum	H1
16	VENOUSKA	S.t. ssp andigenum	H1
17	DESIREE	sensibil	-
18	OSTARA	sensibil	-
19	SUPER	sensibil	-
20	EBA	sensibil	-
21	CORONA	sensibil	-

*- Proveniența genelor minore din *specia Solanum vernei* nu este certă

Pentru studierea rapoartelor de segregare, obținute în urma efectuării testelor de rezistență la tuburi din plastic conice, s-au utilizat populații hibride provenite din încrucișarea unor hibrizi ai speciei sălbatice *Solanum demisum* x *Solanum tuberosum*, generația a 7-a de retroincrușare cu soiul Koretta purtător al genei de rezistență H1, în stare uniplex. Ambii părinți fiind tetraploizi, structura locusului hibridat pentru gena de rezistență este h1h1h1h1xH1h1h1h1.

Hibridii rezistenți obținuți, posedând gena de rezistență H1, în stare simplex (H,h,h,h,) au fost retroincrușati tot cu soiul Koretta la rândul sau tot simplex pentru gena H1, realizându-se la nivelul locusului genei de rezistență combinația H1h1h1h1xH1h1h1h1.

Atât pentru determinarea structurii populațiilor, cât și pentru studierea rapoartelor de segregare, s-a utilizat un nivel de infestare inițial (Pi) de 20 de chisti / tub, ceea ce reprezintă cca 38 de larve și ouă / g de sol. Și în acest caz pentru fiecare soi sau linie s-au realizat 3 repetiții.

Aprecierea rezistenței constă în numărarea chiștilor nou formați la exteriorul balotului înțesat cu rădăcini (fig. 4)

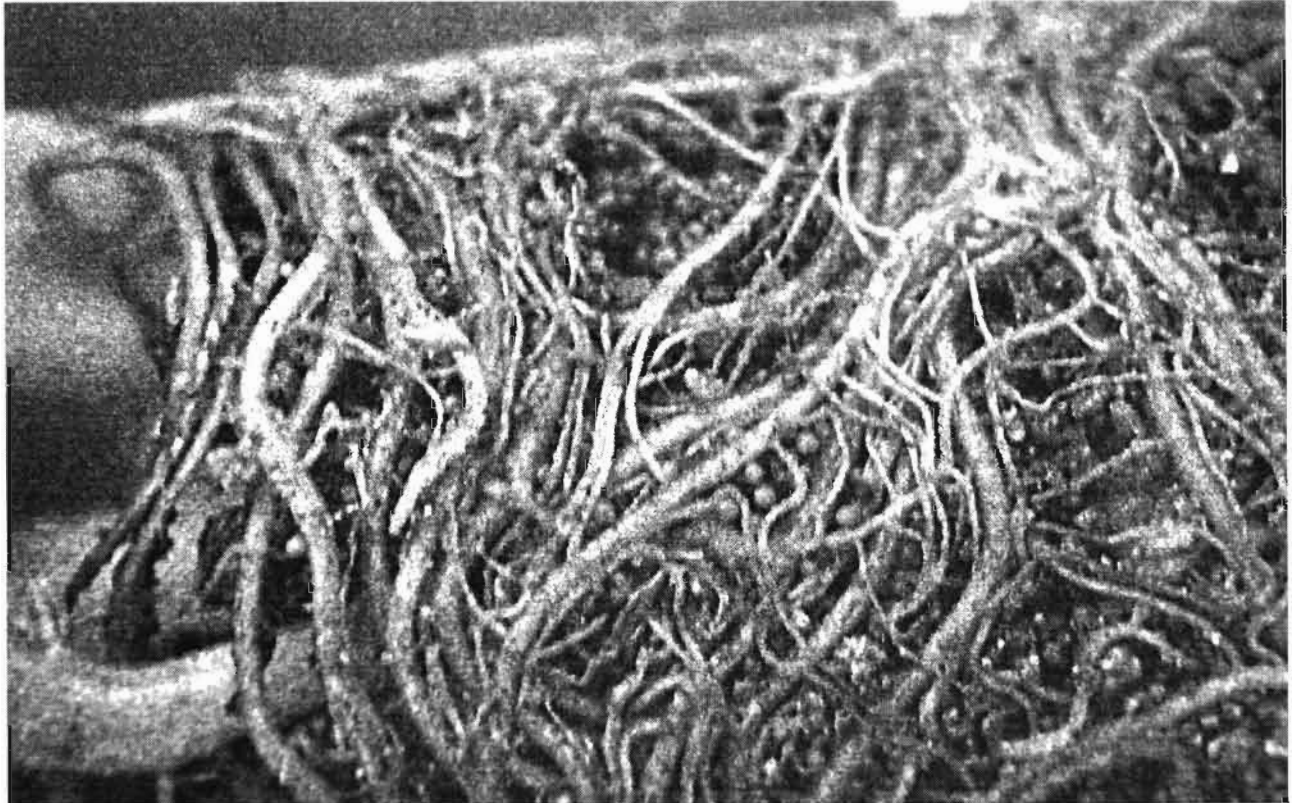


Fig. 4. Chiști nou formați la exteriorul balotului înțesat cu rădăcini

REVENDICARE DE METODA

METODA SELECTIEI REZISTENTEI GENETICE A SOIURILOR SI LINIILOR DE CARTOF FATA DE NEMATODUL AURIU AL CARTOFULUI *Globodera rostochiensis* Woll 1923 IN CONDITII DE LABORATOR, CU TUBURI DIN PLASTIC CONICE

ETAPELE METODEI

Etapele metodei sunt specifice metodelor clasice de testare in ghivece din lut ars sau din plastic amplasate in sere sau solarie pe parapeti inaltati. Metodele clasice necesita spatii foarte mari de testare in care este foarte greu de atins conditiile optime de umiditate si temperatura, atat pentru planta de cartof cat si pentru buna desfasurare a ciclului biologic al nematodului auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*. Elementele de noutate ale metodei de fata sunt urmatoarele:

- Posibilitatea de testare si selectie a rezistentei soiurilor si liniilor de cartof in doua cicluri, in perioada rece a anului (octombrie-aprilie) si scurtarea schemei clasice de ameliorare cu unul sau doi ani, amelioratorul primind rezultatele testarii rezistentei inainte de infiintarea noului ciclu de vegetatie in camp.

- Determinarea nivelului de infestare initial (Pi) optim pe gramul de sol si a structurii populatiilor de nematozi utilizati la infestarea artificiala, prin folosirea unei colectii de soiuri cu rezistenta genetica cunoscuta la diferitele specii si patotipuri ale genului *Globodera*, precum si studierea riguroasa a rapoartelor de segregare.

- Inlocuirea ghivecelor clasice din lut ars sau plastic cu tuburi conice din plastic suspendate de care se fixeaza cate un tubercul de cartof.

- Inlocuirea spatiilor de testare clasice (sere sau solarie) cu suportii metalici special construiti si amplasati intr-un laborator de cca 20 de metri patrati, unde se pot realiza parametrii optimi de temperatura si umiditate.

Principalele etape ale metodei sunt:

1. Pregatirea materialului biologic supus testarii, fixarea tuberculilor pe tuburile din plastic conice si adaugarea de amestec de sol steril infestat artificial cu numar cunoscut de oua si larve (Populatia initiala - Pi).

Tuberculii de cartof supusi testarii sunt inscriptionati cu marker in cel putin trei repetitii pentru fiecare linie de ameliorare si fixati la tuburile din plastic conice prin intermediul unor gume elastice. Se adauga apoi in fiecare tub amestecul de sol steril si infestat initial (Pi) cu un numar cunoscut de oua si larve ale nematodului auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*, conform descrierii amanuntite a metodei de testare, respectiv cca 38 de larve si oua/gramul de sol sau echivalentul a 20 de chisti pe fiecare tub din plastic conic.

Dacă până acum toți ceilalți factori de mediu și sol care concurează la buna desfășurare a testării sunt relativ comuni la toate metodele de testare și sunt impuși de cerințele plantei de cartof și ale dăunătorului, nivelul de infestare inițial sau populația inițială (Pi) a trebuit să fie stabilită experimental.

Pentru aceasta s-a ținut cont de faptul că testarea rezistenței materialului de ameliorare se face pentru specia *Globodera rostochiensis*, patotipul Ro1,4

Această rezistență este de tip calitativ (totul sau nimic) controlată de gena H1, provenită de la specia *Solanum andigenum*. De asemenea, s-a ținut cont în stabilirea presiunii de infecție inițiale (Pi) de concurența fete de hrană, fiind cunoscut faptul că diferențierea pe sexe este determinată și de acest factor.

Amestecul de sol sau substratul de cultură, trebuie să fie steril sau cel puțin liber de chiști viabili. Sterilizarea se efectuează cu aburi la 160° C timp de 1-2 ore sau cu formalină 2% și

acoperire cu folie din polietilenă timp de cca 72 ore. Pentru volatilizarea formalinei se recomandă o temperatura de cel puțin 18-20°C.

Amestecul de sol recomandat are următoarea structura:

- turbă bine măcinată 30%;
- mranita bine descompusă 30%;
- pământ de țelină cernut 30%;
- nisip de râu spălat 10%.

Important este că pe toată perioada testării, substratul de cultură să permită aerisirea normală a solului, reținerea apei de udare, dezvoltarea unui sistem radicular abundent și o ușoară evacuare a balotului de rădăcini din tub în momentul efectuării evaluării (bonității).

2. Amplasarea tuberculilor montați la tuburile conice pe rafturile metalice special construite, efectuarea măsurilor de întreținere curentă și asigurarea condițiilor optime din laboratorul de testare.

După montarea tuburilor din plastic conice pe rafturile metalice trebuie asigurate toate condițiile optime de dezvoltare a plantei de cartof, respectiv formarea unui balot de rădăcini compact și abundent care să poată asigura desfășurarea corespunzătoare a ciclului evolutiv al nematodului auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*.

Suportii metalici de testare.

Sunt practic niște rafturi metalice de 200x200 cm și o lățime de 40 cm special construite, prevăzute cu 6 nivele de testare, capacitatea fiecărui nivel de testare fiind de 180 de tuburi repartizate pe 7 rânduri. Rafturile sunt amplasate în laboratorul de testare astfel încât să se poată ușor circula în jurul lor când se efectuează lucrările de întreținere curente și în final bonitarea. Pentru colectarea surplusului de apă rezultat în urmă udării, rafturile metalice sunt prevăzute cu tavi din plastic situate la fiecare nivel.

Pe fiecare nivel se amplasează și 20 de tuberculi dintr-un soi sensibil la nematodul cu chisti al cartofului *Globodera rostochiensis*, pentru o bună verificare a nivelului de infestare, o monitorizare periodică a ciclului de viață al daunătorului și stabilirea perioadei optime de bonitare.

Umiditatea.

Amestecul de sol trebuie să aibă o umiditate de cca 65-75%. Pentru realizarea acesteia se execută udări de întreținere de 2-3 ori pe săptămâna cu circa 2 ml de apă pe tub. Apa utilizată la udare este colectată de la rețea cu cel puțin 24 de ore înainte și păstrată la temperatura camerei pentru eliminarea clorului. Udarea cu apă colectată direct de la robinet poate modifica brusc temperatura balotului de rădăcini cu repercursiuni nefavorabile asupra plantei și biologiei nematodului.

Temperatura.

Temperatura optimă din laboratorul de testare este de 18-20°C ziua și 15-17°C noaptea. Prin amplasarea tuburilor din plastic la diferite nivele pe rafturile metalice se realizează o diferență de temperatura de cca 0,5°C la fiecare nivel. Curenții de aer nu sunt recomandați în spațiul de testare, aerisirea făcându-se cu mare atenție.

Lumina.

Lumina nu trebuie să fie foarte intensă, dar se recomandă o iluminare naturală sau artificială a spațiului de testare de cca 14 ore pe zi.

1. Bonitarea (selectia) liniilor de ameliorare rezistente fata de cele sensibile, la nematodul auriu al cartofului *Globodera rostochiensis*.

După terminarea unui ciclu de testare (cca 72-75 de zile) când practic ciclul evolutiv al nematodului este încheiat, se trece la evaluarea gradului de rezistență față de nematodul auriu *Globodera rostochiensis* a materialului biologic (linii sau soiuri de cartof) supus testării.

Practic aceasta evaluare se face scotand balotul de radacini format din tubul conic din plastic si numararea femelelor nou formate (viitorii chisti) fixate cu gatul de radacinile tinere ale plantei de cartof.

Rezistenta genetica fata de nematodul auriu al cartofului *Globodera rostochiensis* este de tip calitativ (totul sau nimic) si este controlata de gena dominanta H1 provenita de la specia salbatica *Solanum andigenum*. In acest caz evaluarea (bonitarea) rezistentei este relativ simpla, pe liniile rezistente practic nu se gasesc femele (viitorii chisti) formate, iar pe cele sensibile numarul lor este de cateva zeci sau chiar sute (Fig.1) La specia *Globodera rostochiensis* culoarea femelelor ajunse la maturitate este galbena cu tenta aurie. Femelele (viitorii chisti) au o forma globuloasa cu un gat ascutit si au un diametru de cca 0,5-0,9 mm. Fiecare femela poate avea un numar de pana la 350-400 de oua, in fiecare ou traind o larva.

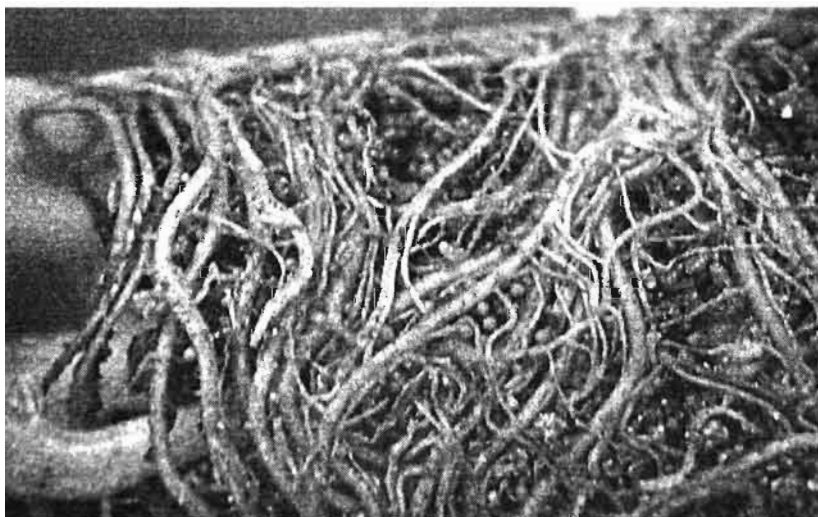


Fig. 1. Chiști nou formați la exteriorul balotului infesat cu rădăcini

REZULTATE OBTINUTE

Noutatea acestei metode de testare a rezistentei cartofului fata de nematodul auriu *Globodera rostochiensis* consta in posibilitatea de testare in perioada rece a anului in doua cicluri succesive si scurtarea schemei clasice de ameliorare a cartofului cu unul - doi ani, precum si utilizarea unui spatiu foarte mic de testare in conditii de laborator respectand cu strictete cerintele fiziologice ale plantei de cartof si in acelasi timp crearea conditiilor optime pentru desfasurarea ciclului evolutiv al daunatorului.

Dr. Ing. Gheorghe Boțoman

DESEN

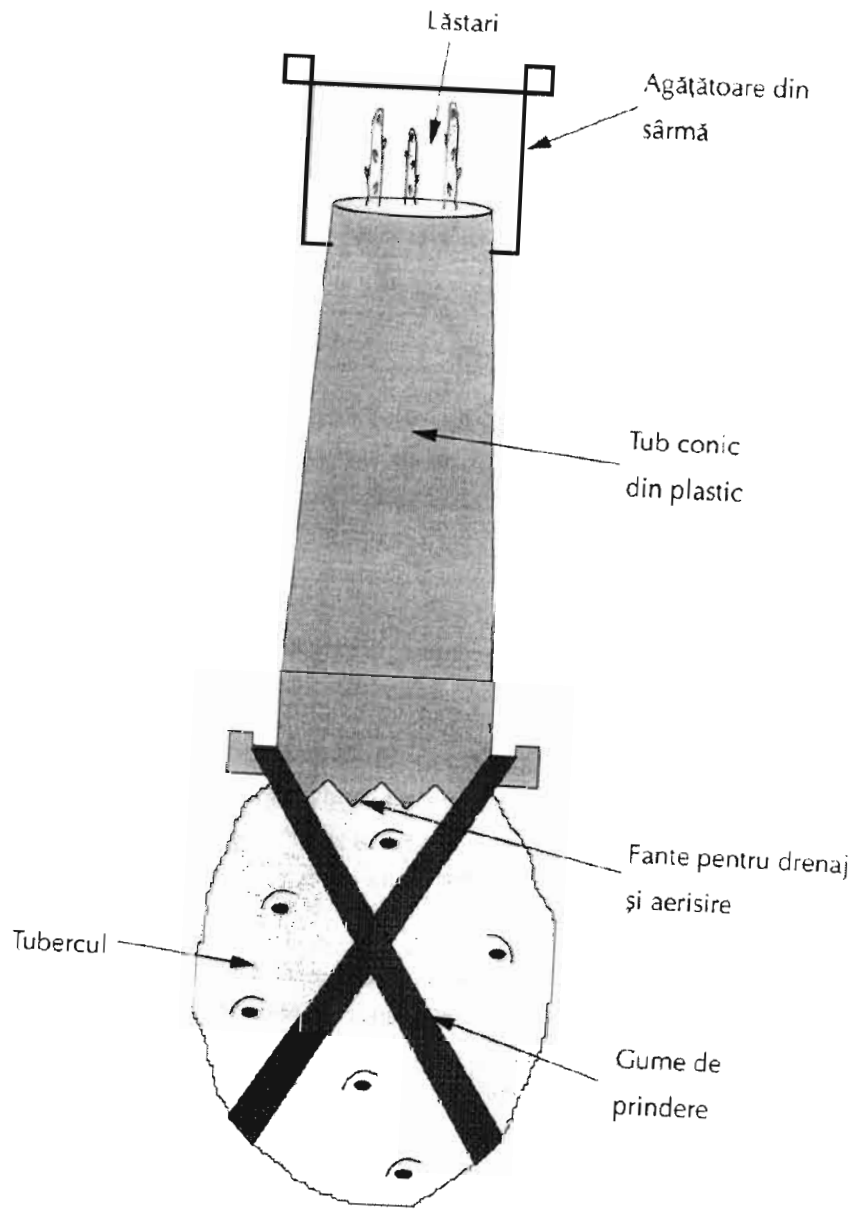


Fig. 1 Tub conic din plastic