

IDENTIFICAREA DE MARKERI MOLECULARI ASOCIAȚI CONȚINUTULUI RIDICAT ÎN PROTEINE CU LOCALIZARE PE CROMOZOMUL 7B AL LINIEI DE GRÂU F26-70

RESULTS REGARDING THE IDENTIFICATION OF MOLECULAR MARKERS ASSOCIATED WITH GRAIN PROTEIN CONTENT LOCATED ON 7B CHROMOSOME OF F26-70 GENOTYPE

ELENA-LAURA CONȚESCU¹, MATILDA CIUCĂ¹, DANIEL CRISTINA¹,
ALINA TURCU¹, VIOLETA IONESCU¹

Abstract

Grain protein content is a complex quantitative trait, being controlled by major and minor genes located on several chromosomes that can vary among cultivars. Increasing grain protein content to improve wheat quality and nutritional value may be easier to achieve by using specific molecular markers.

This paper presents the results obtained by analyzing 47 recombinant substitution lines (RSL) for homologous 7B chromosomes pair of the cultivar Favorit and the breeding line F26-70. As results we found an association between the trait of interest and SSR marker polymorphism obtained with *Xwmc606*.

Xwmc606 marker was associated with the percentage of grain protein content, averaged over all experimental conditions. *Xwmc606* marker allele derived from parent F26-70 assured, in average, a higher grain protein content by 0.5 to 0.6 percent units compared with Favorit alleles. On average, the superiority for grain protein content for the lines carrying the alleles from F26-70 was higher by 0.1 percent units under a poorly nitrogen supply (without additional fertilization).

Although the effect of the locus involved in the control of protein content which is associated with *Xwmc606* marker was strongly influenced by environmental conditions, the results suggested that *Xwmc606* marker may be useful in improving grain protein content, even in poorly nitrogen supply conditions, by using RSLs or F26-70 genotype as genitors in wheat breeding programs.

Cuvinte cheie: grâu, linii recombinante de substituție, conținut în proteine, markeri moleculari, SSR.

Key words: wheat, recombinant substitution lines, grain protein content, molecular markers, SSR.

INTRODUCERE

Grâul este una din cele mai importante plante de cultură, constituind alimentul de bază pentru cca 35-44% din populația globului, fiind folosit la fabricarea pâinii și a altor produse alimentare. Ameliorarea grâului pentru un conținut ridicat în proteine, de care depinde calitatea de panificație, s-a dovedit a fi însă un obiectiv mai greu de realizat, întrucât variația genetică pentru acest caracter în germoplasma cultivată este relativ redusă comparativ cu variațiile cauzate de condițiile de mediu. De asemenea, corelația

¹ I.N.C.D.A. Fundulea. E-mail: contescu_elena_laura@yahoo.com

negativă între conținutul în proteine din bob și producție face dificilă realizarea acestui deziderat. Totuși, s-au obținut unele progrese pentru combinarea celor două însușiri, ceea ce îndreptățește speranța că prin acumularea treptată a genelor care contribuie la o utilizare mai eficientă a azotului, corelația negativă producție-proteine să poată fi depășită.

Au fost identificate surse potențiale de gene pentru creșterea conținutului de proteine din bobul de grâu atât printre speciile sălbatice înrudite grâului, cât și în cadrul germoplasmei cultivate. Astfel, la biotipuri ale speciei tetraploide sălbatice *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* (genom AABB), un progenitor înrudit al grâului, s-au identificat gene pentru conținut ridicat de proteine în bob cu localizare pe grupurile omeoloage 1, 5 și 7 de cromozomi (Levy, 1988, citat de Mesfin, 1999). În același sens, prin folosirea sistemului genetic 5B (deficiență pentru cromozomul 5B) într-un program de hibridare îndepărtată, s-a reușit transferul unor fracții specifice de gliadine de la specia hexaploidă *Aegilops crassa* (6x-genom M^{cr}M^{cr}DDD²D²), la soiul Favorit, iar liniile de introgresie derivate s-au evidențiat pentru conținutul ridicat de proteine de până la 16,3% (Giura, 1982).

În germoplasma de grâu comun cultivată la noi în țară s-a remarcat, pentru conținutul ridicat de proteine în bob, linia F26-70, creată la I.N.C.D.A. Fundulea. Această linie a înregistrat în mod constant valori ridicate ale conținutului în proteine, atât în testările efectuate în țara noastră (Ceapoiu și colab., 1978), cât și în testări internaționale (Kühr și colab., 1979). În perioada respectivă, linia prezenta un interes deosebit pentru ameliorare fiind superioară, în privința productivității, soiului american Atlas 66 cea mai cunoscută și folosită sursă donoare pentru conținutul în proteină pe plan internațional.

Prin lucrări de analiză genetică, folosind liniile de substituție intersoi de cromozomi individuali Favorit/F26-70 s-a reușit identificarea cromozomilor de la F26-70 implicați atât în controlul genetic al conținutului de proteine, cât și al cromozomilor cu rol în exprimarea însușirilor de calitate. Dacă la soiul Atlas 66 controlul genetic al conținutului în proteină este exercitat de cromozomii 5A și 5D (Moris și colab., 1978), la linia F26-70 intervin, semnificativ, mai mulți cromozomi: 4B, 4D, 5B, 5D. Analizele au evidențiat și rolul cromozomului 7B în controlul conținutului în proteine, al însușirilor reologice ale aluatului și al unui înflorit mai timpuriu cu 2-3 zile față de părintele recipient Favorit (Giura, 2003; Giura și Ittu, 1986; Giura și colab., 1986).

Ulterior, prin crearea de linii recombinante de substituție pentru cromozomul 7B (Favorit/F26-70(7B)) și studierea acestora în condiții de câmp la I.N.C.D.A. Fundulea (zile lungi) și la Gatersleben (Germania) în condiții artificiale de zi scurtă, cu și fără vernalizare, s-a constatat că înfloritul mai timpuriu în condiții de zile lungi de datorează unei gene cu răspuns la fotoperioadă denumită Ppd-B2 cu localizare pe brațul scurt al cromozomului 7B (7BS), la 4.4 cM distal față de locusul microsatelit Xgwm0537 și 20,7 cM proximal față de locusul Xgwm0255. S-a observat, totodată, că accelerarea înfloritului se corelează semnificativ cu un conținut mai ridicat de proteine în bob și aceasta fie datorată unui efect pleiotropic al genei *Ppd-B2*, fie ca rezultat al interacțiunii a doi loci strâns linkați, unul de răspuns la fotoperioadă și celălalt pentru conținutul în proteină (Khlestkina și colab., 2009).

Folosind trei populații dublu haploid, Bogard și colaboratorii (2013) au identificat pe cromozomii 2A, 2D, 3B, 7B și 7D colocații de QTL-uri pentru conținut ridicat în proteine și producție de boabe cu efecte antagonice asupra relației producție – conținut de proteine și două regiuni genomice independente, doar pentru conținut ridicat în proteine, pe cromozomii 3A și 5D.

Studii recente (Hwayoung, 2013) au identificat la grâul de primăvară două noi QTL-uri pentru conținutul în proteine pe cromozomii 3B (*Barc77*) și 5B (*Xgwm499*).

În ultimii ani, ameliorarea asistată de utilizarea markerilor moleculari permite trierea sigură a descendenței pentru genele de interes, inclusiv pentru cele implicate în controlul genetic al conținutului în proteină.

Scopul acestei lucrări a fost acela de a identifica noi markeri moleculari asociați cu conținutul ridicat de proteine în linii recombinante de substituție pentru cromozomul 7B, markeri care să fie utilizați ulterior în programul de ameliorare a grâului.

MATERIAL ȘI METODĂ

În acest studiu au fost analizate 47 linii recombinante de substituție create de Colectivul de Citogenetică Cereale din cadrul I.N.C.D.A. Fundulea. Liniile au fost cultivate în câmpul experimental al laboratorului de Ameliorarea grâului, pe un sol cernoziomic, în perioada 2005-2008. Experiențele au fost amplasate în blocuri randomizate, cu trei repetiții, suprafața fiecărei parcele fiind de 5 m², atât în condiții de fertilizare cu 200 kg NH₄NO₃/ha, cât și în varianta nefertilizată.

Analizele pentru conținut în proteine s-au efectuat cu aparatul „Inframatic” (firma Perten).

Analizele moleculare privind:

- izolarea și purificarea ADN s-au realizat conform protocolului de extracție după Dellaporta (1983). Pentru determinarea concentrației ADN s-a folosit spectofotometrul Beckman-Coulter Du Series 700.

- amplificarea PCR-SSR s-a realizat prin utilizarea următorilor primeri cu localizare pe cromozomul 7B: *Xgwm43*; *Xgwm46*; *Xgwm112*; *Xgwm146*; *Xgwm297*; *Xgwm302*; *Xgwm333*; *Xgwm344*; *Xgwm400*; *Xgwm537*; *Xgwm577*; *Xgwm644*; *Xcfa2106*; *Xgpw1054* și *Xwmc606*.

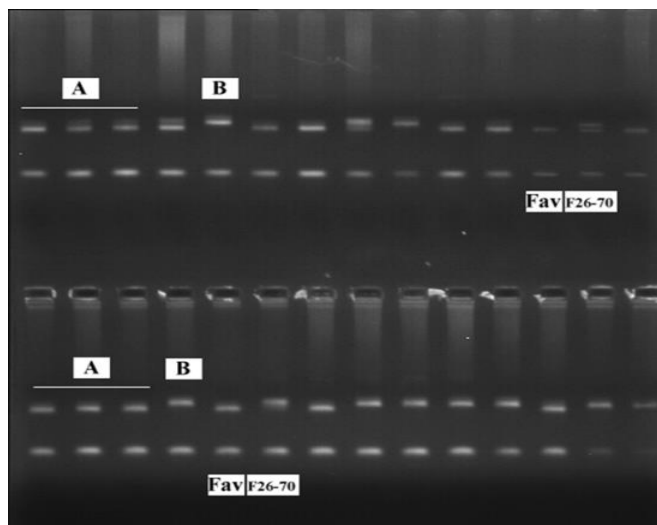
Reacția de amplificare a ADN s-a realizat într-un volum de 25 μl, incluzând următoarele componente în concentrație finală: tampon de reacție concentrație 1x, dNTPs - 0,2 mM, primeri (forward și reverse) concentrație 0,4 μM, MgCl₂ concentrație 1,5 mM, enzimă Taq polimerază (Promega) - 1U și ADN matrită -100-150 ng.

Probele astfel pregătite au fost supuse următorului program de amplificare (termocycler GeneAmp PCR System 9700 de la Applied Biosystems): denaturare inițială la 94°C - 3 minute; urmată de 36-40 cicluri: 94°C - 1 minut; 55°C, 55, 60 sau 61°C (în funcție de primer) - 1 minut; 72°C - 2 minute și o extensie finală de 10 minute la 72°C.

Evidențierea produșilor PCR s-a realizat prin electorforeză pe gel de agaroză uzuală (Promega) și „High resolution” (Sigma) cu concentrație de 1,5% sau 2% și colorare cu bromură de etidiu cu vizualizare la combina BioPrint-Vilber Lourmant.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Dintre cei 15 markeri SSR utilizați pentru analizele la nivel molecular, au prezentat polimorfism la nivelul părinților un număr de șase: *Xgwm43*, *Xgwm146*, *Xgwm400*, *Xgwm537*, *Xgwm577* și *Xwmc606*. Testarea moleculară a acestora la nivelul liniilor recombinante de substituție pentru cromozomul 7B și compararea polimorfismului ADN obținut cu conținutul de proteină a permis asocierea markerului *Xwmc606* cu acest caracter (Figura 1).



A - liniile cu profil asemănător părintelui Favorit; B - liniile cu profil asemănător părintelui F26-70

Figura 1 – PCR cu markerul *Xwmc606*, agaroză HR 2,5%
(PCR with *Xwmc606* marker, agarose gel HR2.5%)

Analizând graficul distribuției liniilor privind conținutul de proteine, în funcție de alelele markerului *Xwmc606*, remarcăm un excedent de linii cu conținut mai ridicat de proteine, la liniile purtătoare ale alelei părintelui F26-70. Liniile cu cel mai scăzut conținut de proteine în bob sunt purtătoare ale alelei părintelui Favorit. Superioritatea liniilor care posedă alela de la F26-70 în privința conținutului de proteine în bob s-a manifestat cel mai pregnant în condițiile anului 2006, atât cu fertilizare cu azot (Figura 2A), cât și fără fertilizare suplimentară (Figura 2B).

În tabelul centralizator pentru media conținutului în proteine în funcție de alelele markerului *Xwmc606* (Tabelul 1) se poate remarca că în toți anii de experiență, atât la fertilizat, cât și la nefertilizat, valoarea medie a conținutului de proteine la liniile cu alela F26-70 a fost superioară celor cu alela Favorit. Același lucru se observă și în cazul valorii maxime, cu o singură excepție în anul 2006 la varianta fertilizată. În cazul valorii minime, aceasta a fost superioară pentru toți anii și toate condițiile la liniile care au avut alela F26-70. În medie pe toate

condițiile de experimentare, alela markerului *Xwmc606* provenită de la părintele F26-70 a fost asociată unui conținut de proteine în bob superior cu 0,5-0,6 unități procentuale. În medie, superioritatea conținutului de proteine în bob a liniilor purtătoare ale alelei de la F26-70 a fost mai mare cu 0,1 unități procentuale în condițiile unei aprovizionări mai slabe cu azot (fără fertilizare suplimentară). Toate acestea sugerează că markerul *Xwmc606* poate fi util în ameliorarea conținutului de proteine în bob, inclusiv pentru condițiile unei aprovizionări deficitare cu azot.

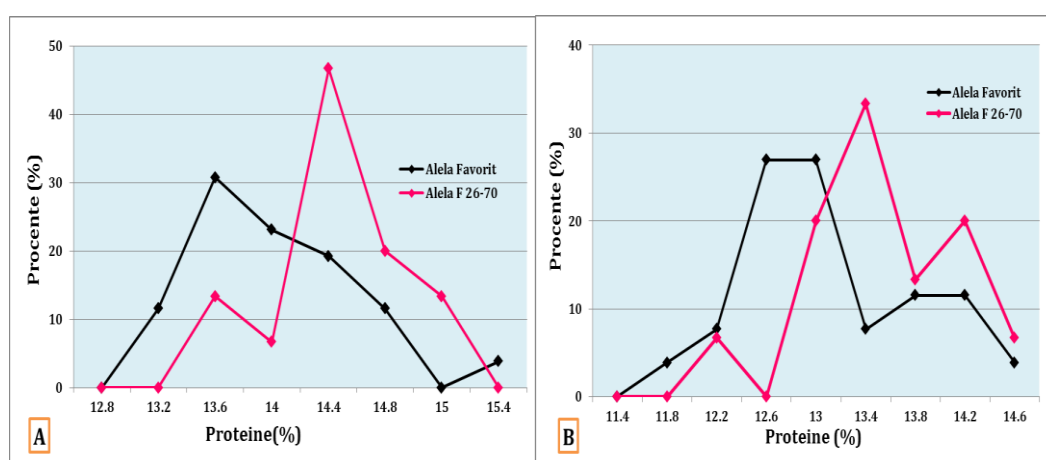


Figura 2 – Distribuția LRS privind conținutul de proteine în corespondență cu de alelele markerului *Xwmc606*, în condiții de fertilizare/nefertilizare cu azot (RSL distribution for grain protein content according to *Xwmc606* marker alleles, under fertilized/unfertilized conditions)

Tabelul 1

Conținutul mediu în proteine în corespondență cu alelele markerului *Xwmc606* (Average protein content according to *Xwmc606* marker alleles)

Alela marker <i>Xwmc606</i>	Valoare medie		Difer.	Valoare maximă		Difer.	Valoare minimă		Difer.
	Alela Favorit	Alela F26-70		Alela Favorit	Alela F26-70		Alela Favorit	Alela F26-70	
2005 N	17,2	17,7	0,5	18,4	18,6	0,2	15,8	16,3	0,6
2006 N	13,8	14,2	0,4	15,4	15,0	-0,4	12,9	13,3	0,4
2006 N ₀	12,9	13,4	0,5	14,4	14,5	0,1	11,7	12,1	0,4
2007 N	13,7	14,4	0,7	15,5	16,0	0,5	12,2	12,6	0,4
2007 N ₀	12,4	13,0	0,6	14,2	15,3	1,2	11,5	12,1	0,7
∑ N	14,9	15,4	0,5	16,4	16,5	0,1	13,6	14,1	0,4
∑ N ₀	12,7	13,2	0,6	14,3	14,9	0,6	11,6	12,1	0,5

Având în vedere că există, în general, o corelație negativă între conținutul de proteine în bob și producția de boabe, a fost important să se analizeze asocierea dintre markerul *Xwmc606* și variația producției în diferite condiții în care au fost experimentate liniile recombinante pentru cromozomul 7B.

Urmărind cele două grafice ale distribuției liniilor privind producția, în funcție de alelele markerului *Xwmc606* (Figura 3: A - anul 2007, fertilizat și B - anul 2006, nefertilizat), se poate constata că distribuția celor două grupe de linii se suprapune în foarte mare măsură, cu un foarte mic exces al liniilor cu producțiile cele mai ridicate la liniile purtătoare ale alelei de la soiul Favorit, o excepție de la această regulă fiind anul 2006 varianta nefertilizată și anul 2007 varianta fertilizată.

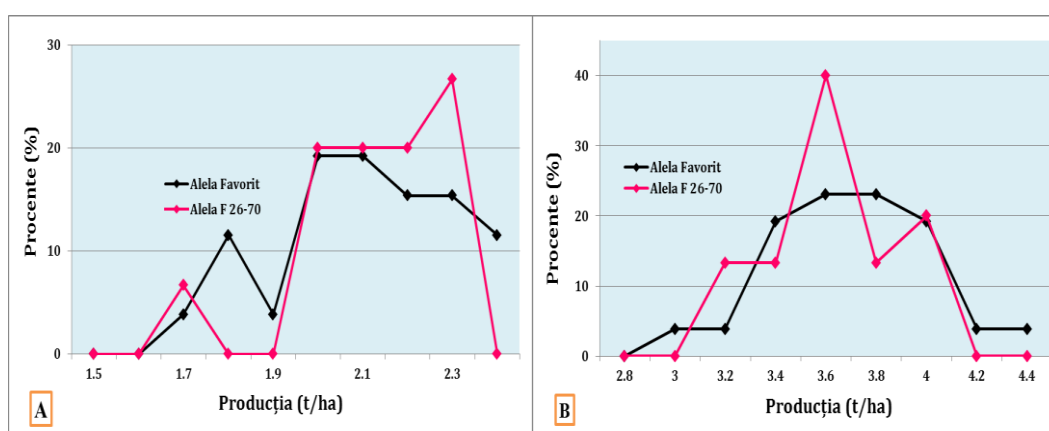


Figura 3 – Distribuția LRS privind producția în corespondență cu alelele markerului *Xwmc606* (RSL distribution for grain yield according to with *Xwmc606* marker alleles)

Centralizatorul pentru media producțiilor în funcție de alele markerului *Xwmc606* (Tabelul 2) confirmă faptul că, în medie, diferența de producție dintre liniile purtătoare ale celor două alele la markerul *Xwmc606* a fost foarte mică, practic inexistentă la fertilizat și de numai 0,1 t/ha la nefertilizat.

Tabelul 2

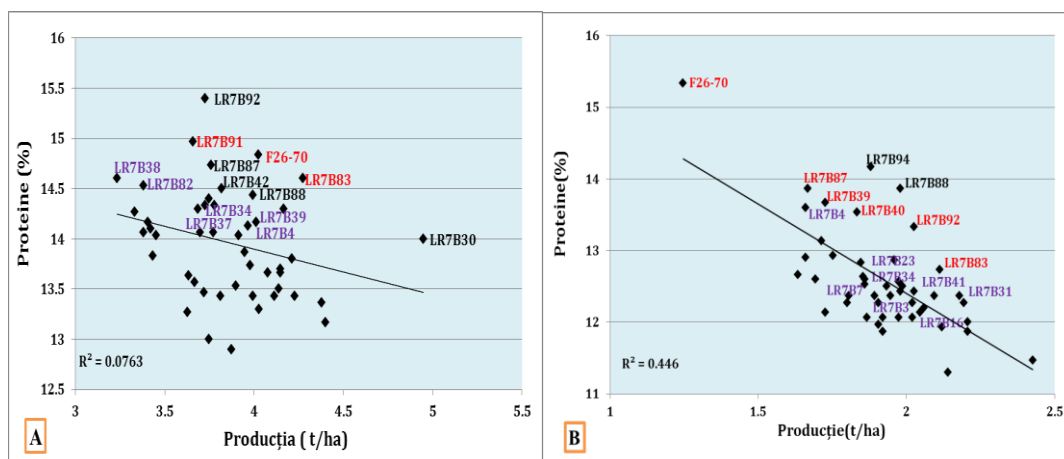
Producții medii în corespondență cu alelele markerului *Wmc606*
(Average yield according to marker *Wmc606* alleles)

Alela marker <i>Xwmc 606</i>	Valoare medie		Difer.	Valoare maximă		Difer.	Valoare minimă		Difer.
	Alela Favorit	Alela F26-70		Alela Favorit	Alela F26-70		Alela Favorit	Alela F26-70	
2005 N	2,4	2,5	0,1	3,5	3,8	0,3	1,2	1,5	0,3
2006 N	4	3,7	-0,3	4,9	4,3	-0,6	3,4	3,2	-0,2
2006 N ₀	3,6	3,5	-0,1	4,4	3,9	-0,5	2,9	3,2	0,3
2007 N	2,1	2,1	0	2,4	2,6	0,2	1,7	1,7	0,0
2007 N ₀	2	1,9	-0,1	2,4	2,2	-0,2	1,6	1,3	-0,3
$\sum N$	2,8	2,8	0	3,6	3,6	0	2,1	2,1	0
$\sum N_0$	2,8	2,7	-0,1	3,4	3,1	-0,3	2,3	2,3	0

Contrar binecunoscutei relații negative dintre producție și conținutul de proteine din bob, demonstrate de majoritatea studiilor din domeniu (Triboi și colab., 1996; Triboi și Triboi-Blondel, 2002), segregarea pentru genele de pe cromozomul 7B aparținând liniei F26-70 a rezultat în corelații nesemnificative pentru cei doi ani de experiență. De aceea, am considerat important să analizăm efectul alelelor markerului *Xwmc606* asupra relației dintre producția de boabe și concentrația de proteine în bob.

Se poate ușor observa că, în toate condițiile de experimentare, majoritatea liniilor purtătoare ale alelei de la F26-70 au prezentat abateri pozitive de la linia de regresie care descrie relația dintre producția de boabe și conținutul procentual de proteine în bob. Această constatare este valabilă inclusiv pentru condițiile în care corelația dintre cele două variabile a fost negativă. Deși liniile cu abateri pozitive față de regresia producție-conținut de proteine au variat de la o condiție la alta, majoritatea liniilor care au avut un conținut procentual de proteine superior celui așteptat pe baza regresiei au fost purtătoare ale alelei markerului provenite de la F26-70 (Figura 4: A - anul 2006, fertilizat și B - anul 2007, nefertilizat). Aceasta sugerează că selecția pentru prezența alelei de la F26-70 poate contribui la creșterea frecvenței liniilor cu abateri pozitive față de regresia producție-conținut de proteine, capabile să acumuleze în bob cantități de proteine superioare celor ce pot fi așteptate pe baza relației cu producția de boabe.

Pentru a verifica dacă locusul implicat în controlul conținutului de proteine în bob și asociat cu markerul *Xwmc606* este asemănător cu cel identificat de Khlestkina și colaboratorii (2009), am analizat asocierea dintre acest locus și data înspicatului, ca indicator al precocității.



Legendă: **rosu** - linii purtătoare ale alelei provenind de la parintele F26-70 cu valori superioare acestuia;
mov - linii purtătoare ale alelei provenind de la parintele F26-70;
negru - linii purtătoare ale alelei provenind de la parintele Favorit.

Figura 4 – Relația dintre producție și concentrația de proteine dependent de alelele markerului *Xwmc606*, în condiții de fertilizat (A) și nefertilizat (B)

[Grain yield-grain protein content relationship based on *Xwmc606* marker alleles, fertilized (A) and unfertilized conditions (B)]

După cum se poate observa (Figura 5: A – 2006, fertilizat și B – 2007, fertilizat) există un excedent de forme cu înspicare timpurie în cadrul liniilor purtătoare ale alelei de la F26-70 pentru markerul *Xwmc606*, față de liniile purtătoare ale alelei de la Favorit.

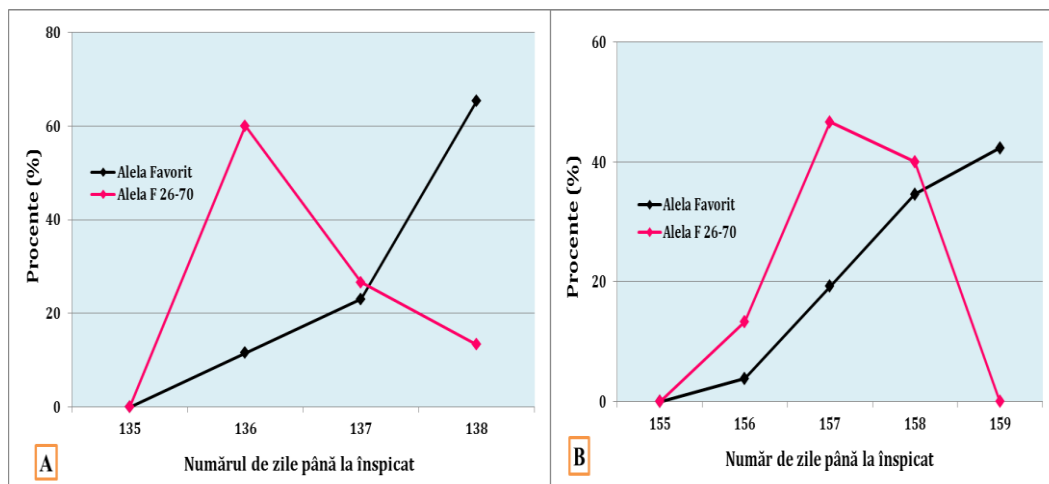


Figura 5 – Distribuția LRS privind precocitatea, în funcție de alelele markerului *Wmc606* (RLS distribution for earliness according to *Wmc606* marker alleles)

În medie, liniile purtătoare ale alelei de la F26-70 pentru acest marker au înspicat cu aproape 2 zile mai devreme în experiențele fertilizate, dar au înspicat concomitent cu liniile purtătoare ale alelei de la Favorit în experiențele nefertilizate. Pe această bază se poate afirma că markerul *Wmc606* este asociat cu data înspicării, alela provenită de la F26-70 corespunzând unei înspicări mai timpurii, în condiții normale de vegetație (Tabelul 3).

Tabelul 3

Data medie a înspicării în funcție de alelele markerului *Wmc606*
(Average heading date and marker alleles of *Wmc606*)

Alela marker <i>Xwmc606</i>	Valoare medie		Difer.	Valoare maximă		Difer.	Valoare minimă		Difer.
	Alela Favorit	Alela F26-70		Alela Favorit	Alela F26-70		Alela Favorit	Alela F26-70	
2005 N	136	133	-3	137	136	-1	131	131	0
2006 N	138	137	-1	138	138	0	136	136	0
2006 N ₀	137	137	0	138	138	0	135	136	1
2007 N	158	157	-1	159	158	-1	156	156	0
2007 N ₀	158	158	0	159	159	0	157	156	-1
$\sum N$	144	142,3	-1,7	144,7	144	-0,7	141	141	0
$\sum N_0$	141	139,7	-0,8	148,5	148,5	0	146	146	0

CONCLUZII

Dintre markerii folosiți în studiul prezent, numai markerul *Xwmc606* s-a dovedit a fi asociat atât cu concentrația de proteine în bob, cât și cu precocitatea. Markerul nu a fost asociat și cu producția.

Rezultatele acestui studiu argumentează folosirea selecției asistată de markeri moleculari în lucrările de ameliorare vizând transferul genei/genelor pentru conținut ridicat de proteine în bob și precocitate cu localizare pe cromozomul 7BS de la linia recombinante ori de la linia de ameliorare F26-70, în genofonduri moderne de grâu.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- BOGARD, M., ALLARD, V., MARTRE, P., HEUMEZ, E., SNAPE, J.W., ORDFORD, S., GRIFFITHS, S., GAJU, O., FOULKES, J., LE GOUIS, J., 2013 *Identifying Wheat Genomic Regions for Improving Protein Concentration Independently of Grain Yield using Multiple Inter-Related Populations*. Molecular Breeding, volume 31, issue 3: 587-599. DOI: 10.1007/s11032-012-9817-5.
- CEAPOIU, N., SĂULESCU, N.N., ITTU, Gh., ȚAPU, C., EUSTAȚIU, N., OPROIU, E., CERNESCU, L., 1978 – *Cercetări privind ameliorarea conținutului ridicat de proteine la grâul comun*. Probleme de genetică teoretică și aplicată, X, 5: 479-491.
- CONȚESCU, E.L., SĂULESCU, N.N., 2007 – *Grain Protein Content and Yield in Chromosome 7B Recombinant Substitution Lines of Wheat (Triticum aestivum L.)*. Romanian Agricultural Research, 24: 11-16.
- CONȚESCU, E.L., MARINCIU, C., SĂULESCU, N.N., 2008 – *Studiul cromozomului 7B, influența acestuia asupra conținutului de proteină și a producției, prin utilizarea unor linii recombinante de substituție*. Lucrări științifice, USAMVB, Seria A, volumul LI: 890-898.
- GIURA, A., 1982 – *Transferul de gene pentru gliadine de la Aegilops crassa (6x) la grâul comun*, An. ICCPT, L: 56-68.
- GIURA, A., 2003 – *Genetic Effect of Chromosome 7B on some Quality Traits and Earliness in Wheat*. Cercetări Științifice, Seria a VII-a, Biotehnologie și Biodiversitate, Edit. Agroprint, USAMV-Timișoara, p. 271-279.
- GIURA, A., CONȚESCU, E.L., MUSTĂȚEA, P., ITTU, G., SĂULESCU, N.N., 2008 – *Effects of Chromosome 7B Genes on Grain Protein Concentration in Wheat (Triticum aestivum L.)*. Cereal Research Communications, volume 36, 4: 669-676. DOI: 10.1556/CRC.36.2008.4.16.
- GIURA, A., ITTU, GH., 1986 – *Genetic Analysis of Protein Content in The Wheat Line F26-70 using Whole Chromosome Substitutions*. Cereal Research Communications, 14, 1: 5-10.
- GIURA, A., ITTU, GH., OPROIU, E., 1986 – *Studiul genetic al conținutului în proteine și al unor însușiri de calitate la linia de grâu F26-70*. Probleme de genetică teoretică și aplicată, XIII, 2: 83-93.
- HWAYOUNG, H., SHERMAN, J., 2013 – *Identification of QTL for Grain Protein Content and Grain Hardness from Winter Wheat for Genetic Improvement of Spring Wheat*. Plant Breeding and Biotechnology, 1, 4: 347-353. DOI: 10.9787/PBB.2013.1.4.347.
- KHLESTKINA, E.K., GIURA, A., RÖDER, M.S., BÖRNER, A., 2009 – *A New Gene Controlling the Flowering Response to Photoperiod in Wheat*. Euphytica, 165, 3: 579-585. DOI: 10.1007/s10681-008-9783-5.
- KHUR, S.L., WILHELMI, K.D., JOHNSON, V.A., MATTERN, P.J., SCHMIDT, J.W., 1977 – *Results of the ninth international winter wheat performance nursery grown in 1977*. Research Buletin, 228, Univ. of Nebraska.
- MESFIN, A., FROHBERG, R.C., ANDERSON, J.A., 1999 – *RFLP markers associated with high grain protein from Triticum turgidum L. var. dicoccoides introgressed into Hard Red Spring Wheat*. Crop Science, volume 39, 2: 508-513. DOI: 10.2135/cropsci1999.0011183X003900020035x.

- MORRIS, P., MATTERN, P.J., SCHMIDT, J.W., JOHNSON, V.A., 1978 – *Studies of protein, lysine and leaf rust reactions in the wheat cultivar Atlas 66 using chromosome substitutions*. Proc. 5th Wheat Genetic Symposium, New Delhi, pp: 447-454.
- TRIBOI, E., TRIBOI, A.M., MARTIGNAC, M., FALCIMAGNE, R., 1996 – *Experimental device for studying post-anthesis canopy functioning in relation to grain quality*. Proceedings of the 4th ESA Congress, Wageningen, The Netherlands, pp. 68-69.
- TRIBOI E., TRIBOI-BLONDEL A.M., 2002 – *Productivity and Grain Composition: A New Approach to an Old Problem*. European Journal of Agronomy, 16, 3: 163-186. DOI: 10.1016/S1161-0301(01)00146-0.

Prezentată Comitetului de redacție la 12 iunie 2015