



ADER 116
2015-2018

Utilizarea metodelor biotehnologice pentru creșterea variabilității genetice a materialului de ameliorare și accelerarea progresului genetic în privința nivelului și stabilității recoltelor la principalele culturi agricole, în contextul schimbărilor climatice.

Ciuca Matilda

E-mail: mcincda@gmail.com

ADER 116 2015-2018

Cod	PARTENERI (denumirea) :	Responsabilul proiectului în cadrul unității partenere (nume, prenume, funcție)	Adresa de contact (e-mail, adresa poștală)
CP	Institutul Național de Cercetare - Dezvoltare Agricolă, Fundulea	CIUCA Matilda, CS I GIURA Aurel, CS I	mcincda@gmail.com , Str. Nicolae Titulescu; nr. 1; Loc. Fundulea; Jud. Călărași; cod 915200
P1	Stațiunea de cercetare - dezvoltare agricolă Turda (SCDA Turda)	RUSSU Florin, CS III	russuflorin@yahoo.com , Turda, str. Agriculturii nr, 27, jud.Cluj CP 401100
P2	Statiunea de cercetare dezvoltare agricola PITESTI (SCDA Pitesti)	VOICA Maria, CS II	scda.pitesti@gmail.com , Soseaua Pitesti Slatina km. 5, com. Albota, jud. Arges 0742332308, voica_maria@yahoo.com .
P3	Universitatea din Craiova- SCDA Caracal	IANCU Paula	office_scdacaracal@yahoo.com , paula.iancu76@gmail.com , Str. Vasile Alecsandri, Nr. 106, Caracal, jud. Craiova.
P4	Statiunea de cercetare - dezvoltare agricola SIMNIC	PĂUNESCU GABRIELA CS I	paunescucraiova@yahoo.com , Soseaua Bălcești nr.54, Simnicu de Jos Craiova, jud. Dolj

ADER 116 2015-2018

Obiectiv general: Îmbunătățirea rezultatelor economice ale fermelor, prin creșterea eficienței de utilizare a resurselor naturale și a inputurilor tehnologice, pentru o agricultură durabilă, în contextul schimbărilor climatice.

Obiective specifice:

- Creșterea eficienței metodelor biotehnologice abordate, în vederea obținerii de linii DH;
- Evaluarea unor linii DH mutante/recombinante (cu sau fără translocatie 1AL.1RS) pentru rezistența la boli foliare, alți factorii biotici și abiotici de stres și alte însușiri de interes agronomic în condiții pedoclimatice diferite;
- Testarea și caracterizarea de linii de introgresie derivate din hibridări îndepărtate grâu x specii înrudite pentru rezistența la principalele boli foliare și la factori abiotici de stres în condiții ecologice diferite în vederea creșterii variabilității genetice;
- Obținerea de noi linii DH de grâu, orz și triticale din combinații hibride ale unor forme parentale remarcate pentru însușiri agronomice superioare, mai adaptate decât genotipurile existente în cultură și schimbărilor climatice.

ADER 116 2015-2018

Rezultat scontat 1:

- Crearea a cel puțin 2-3 genotipuri cu introgresii noi superioare, care să deschidă noi perspective de progres genetic pentru nivelul și stabilitatea recoltelor în condițiile schimbărilor climatice.

Rezultat obținut 1:

- ✓ 11 linii sintetice obținute din retroîncrucișări amfiploizi sintetici (*Triticum durum* x *Aegilops tauschii*) cu soiuri de grâu comun (E5A/Faur -3 linii, E16A/Faur- 1linie, E23A/Faur - 1 linie, E25A/Faur-1 linie, E7A/Glosa-3 linii și E18A/Glosa - 2 linii) au fost selectate și folosite în programul de ameliorare a grâului ca genitori datorită caracteristicilor lor pentru calitate, dimensiunea boabelor, MMB, toleranță la stresul biotic și abiotic (INCDA Fundulea).

Nr.crt	Cod linie	Combinație	Proteina %	Sediment	Tenacitatea aluatului (W)	Taria bobului
1	25F1101P2	E25A x Faur	15.6	57.2	330	56.1
2	16F352	E16A x Faur	14.9	50.4	258	26.5
3	5F622	E5A x Faur	14.9	48.6	304	24.4
4	5F635	E5A x Faur	15.4	53.7	309	31
5	5F1073	E5A x Faur	15.6	59.7	321	33.5
6	23FS1-5	E23 x Faur	18.1	66.2	390	52.8

ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 1 - Au fost obținute noi combinații pentru diversificarea germoplasmei:

- ✓ 19 noi combinații hibride (amfiploizi sintetici) între 6 genotipuri - linii moderne de *Triticum durum* (Agedur, Condur, Pandur, Grandur, DDU-8, DDU-156, DDU-2-24, GCO-3-25) și 7 biotipuri ale speciei *Aegilops tauschii* (*Aegilops squarrosa*)/ *Aegilops tauschii* sq. *strangulate* (generația F1 la finalizarea proiectului) (INCDA Fundulea).

Nr.crt.	Mamă	Tată
1	Agedur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2468
2	Condur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2448
3	Condur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2453
4	Condur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2568
5	Grandur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2453
6	Grandur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2468
7	Pandur	<i>Ae. tauschii</i> sq. <i>strangulata</i>
8	Pandur	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2569
9	DDU-8	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2448
10	DDU-8	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2468
11	DDU-8	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2453
12	DDU-8	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2530
13	DDU-2-24	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2448
14	DDU-2-24	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2453
15	DDU-2-24	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2468
16	DDU-156	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2448
17	DDU-156	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2468
18	GCO-3-25	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2453
19	GCO-3-25	<i>Ae. tauschii squarrosa</i> 2468

ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 1 - Au fost obținute noi combinații pentru diversificarea germoplasmei:

- ✓ 7 noi combinații dintre linii elită extrase din hibrizi interspecifici și genotipuri moderne de grâu comun (INCDA Fundulea).

Cod	Genealogia părinte matern	Părinte patern
H.53- b	DDU - 217 / <i>T. timopheevi</i> (pop)	Miranda
H.54	DDU - 8 / <i>T. dicoccoides</i> 4-3 (pop)	Pitar
H.58	DDU-2-24 / <i>T.dicoccoides</i> 4-10 (pop)	Pitar
H.64	Glosa / <i>T.dicoccoides</i> 4-10 (pop)	Miranda
H72	DDU- 8 / <i>T. charlicum</i> 6-3 (pop)	Pitar
H75	DDU - 156 / <i>T. charlicum</i> 6-2 (pop)	Litera
H.85- a	Gliadine (397-2-83) / Glosa (pop)	Pitar

ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 1 - Au fost obținute noi combinații pentru diversificarea germoplasmei:

- ✓ 3 noi combinații dintre amfiploizi sintetici și linii moderne de grâu comun E35-A / A38-04, E32-A / 11248G2-1 (generația F2 la finalizarea proiectului) și o altă nouă combinație A35-14/E 32-A în generația F1 la finalizarea proiectului (SCDA Pitești).
- ✓ O combinație hibridă amfiploid sintetic x soi modern de grâu - AS5/PAJURA (generația F2) (SCDA Șimnic).
- ✓ 10 linii DH din combinația (Izvor x F000628) sunt introduse ca genitori în programul de ameliorare a grâului la INCDA Fundulea, alte 6 linii (Al -II- 20, Al -II- 45, Al -II- 78, Al -II- 236, Al -II- 27A și Al -II- 268) în programul de ameliorare de la SCDA Turda, 11 linii DH au fost folosite ca genitori la SCDA Pitești, 16 linii DH au fost folosite ca genitori la Universitatea din Craiova - SCDA CARACAL, 6 linii DH au fost folosite ca genitori la SCDA Șimnic
- ✓ Linia DH de triticale 09498TD2-111 a fost reținută ca genitor pentru programul de ameliorare la triticale.

ADER 116 2015-2018

Rezultat scontat 2:

- Introducerea în sistemul oficial de testare și înregistrare a cel puțin 2 genotipuri create prin metoda biotehnologică DH și asigurarea nucleelor de sămânța amelioratorului pentru multiplicarea și extinderea rapidă în ferme.

Rezultat obținut 2:

- ✓ **Linia Zamfira (F13347GP1)** este un haploid dublat, obținut prin metoda biotehnologică *Zea*, selectat din combinația F06659G1-1/2*OTILIA, în prezent este înscrisă în sistemul oficial de testare ISTIS, anul II (INCDA Fundulea).
- ✓ **Linia de orz DH406-3**, obținută prin metoda biotehnologică *Bulbosum*, a fost introdusă în sistemul oficial de testare ISTIS în anul 2018 (INCDA Fundulea).

ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 2: Linii de perspectivă

- ✓ Introducerea în sistemul oficial de testare și înregistrare a liniei **LM 16** și asigurarea nucleului de sămânța pentru multiplicare și extinderea rapidă în ferme (toamna 2019). La această linie, toți indicatorii de calitate au fost la nivelul martorului - soiul Izvor (SCDA Șimnic).
- ✓ Liniile DH de grâu Ai- II 193, Ai- II 223, Bi- I 3, Bi- I 40, Bi- II 40, Bi- II 58 și Bi- II 69 sunt recomandate spre cultivarea în partea de Sud a țării și nuclee de sămânță au fost asigurate pentru doi fermieri din zonă (Universitatea din Craiova-SCDA Caracal).
- ✓ Liniile DH de grâu AI -II- 183, AI -II- 193, AI -II- 55, BI -I- 3, BI -I- 40, BI -I- 39, BI -II- 65 și BI -II- 68 reprezintă linii care vor intra în structura culturilor comparative de orientare și eventual pentru o testare viitoare în rețeaua ISTIS (SCDA Turda).
- ✓ Liniile DH de grâu Ai- II-201, Bi-I-47, Bi-II-82 s-au reținut pentru a fi înmulțite în continuare în vederea omologării, dar și pentru a fi folosite ca genitori în programul de ameliorare (SCDA Pitești).

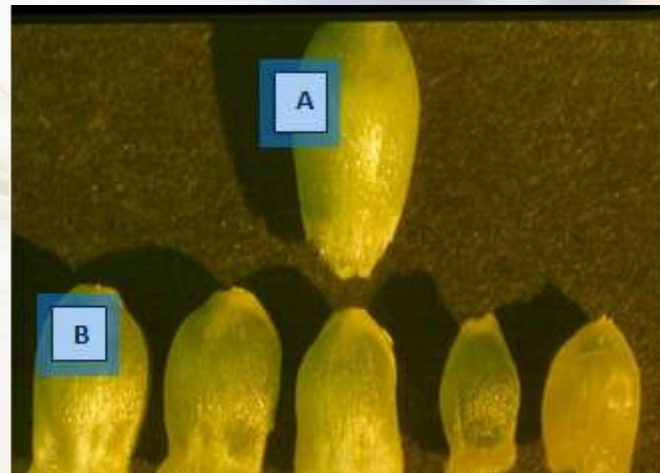
ADER 116 2015-2018

Rezultat scontat 3:

- Creșterea eficienței metodelor biotehnologice abordate, prin optimizarea parametrilor de lucru, în vederea obținerii de rezultate superioare în cercetările viitoare.

Rezultat obținut 3:

- ✓ Protocol de dublare a setului haploid de cromozomi prin aplicarea tratamentului “in vitro”;



Cariopse formate prin autofecundare (A) și prin polenizare cu porumb (B)

ADER 116 2015-2018

Schema simplificată de producere a liniilor DH de grâu

- P1 x P2 (Genitori de grâu)



- Hibrid F1 x Porumb



- Embrioni haploizi de grâu ($n=21$; cu cromozomi gametici recombinanți P1/P2)



cultura *in vitro* de embrioni și regenerarea de plante haploide



vernalizarea plantelor și inducerea stadiului de înfrățire



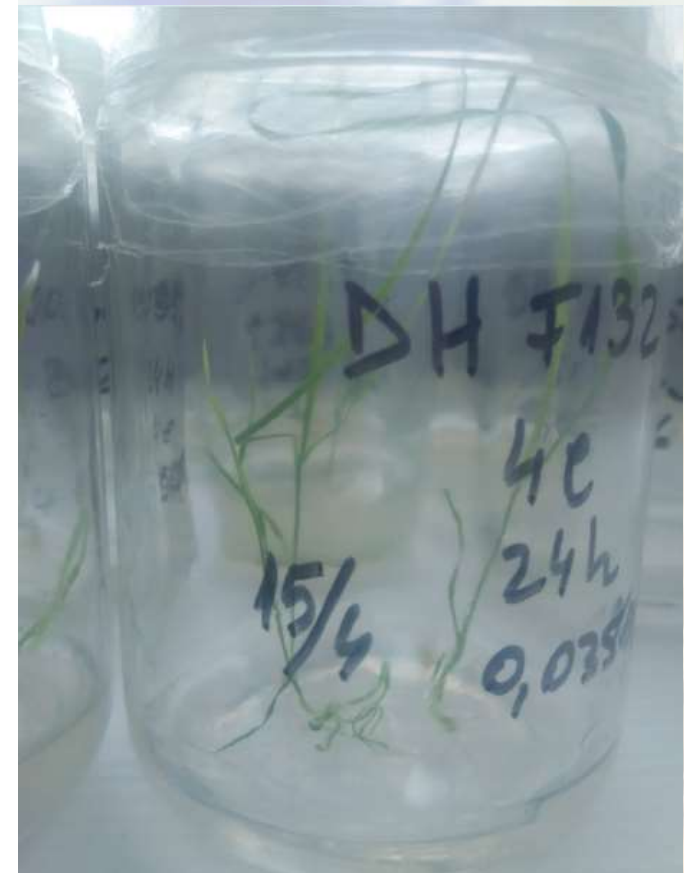
tratamente cu colchicină pentru stabilirea stării diploide ($2n=42$)



recoltarea semințelor dublu haploide



- Linii DH, complet homozigote



ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 3:

- ✓ Metodă de izolare ADN dintr-un singur bob pretabilă pentru trei cereale (grâu, orz și tritricale).
- ✓ Evidențierea de noi variante alelice utilizând markeri moleculari (ADN) cât și a unor combinații de alele favorabile cu impact pozitiv asupra masei a o mie de boabe.

Markeri moleculari localizati pe cromozomul 1RS asociati cu MMB

Marker	Dif MMB	p
wms1223	3,0	0,000254
TSM592	3,2	0,000285
PSC200	3,0	0,002512
TSM120	2,6	0,003774

Combinatii de alele favorabile si asocierea lor cu MMB

Combinatie	P	F+F	F+I	I+F	I+I
TaFLO D1+TaTPP-6AL1	0,000149	45,8	43,7	50,2	47,1
Secară+TaFLO D1	0,000319	45,8	49,6	43,3	46,4
Secară+TaTPP-6AL1	0,000991	48,6	47,0	46,7	43,0
Secară+TaSST-D1	0,0023	46,8	49,7	43,9	45,7
TaSST-D1+TaFLO-D1	0,028519	43,7	48,5	47,0	49,0

Analize cu markeri moleculari

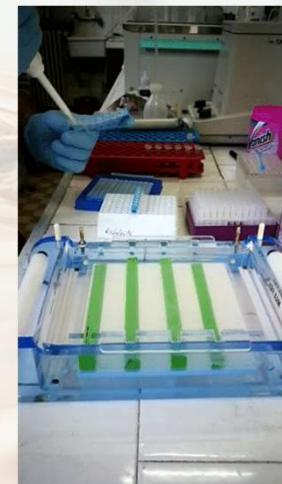
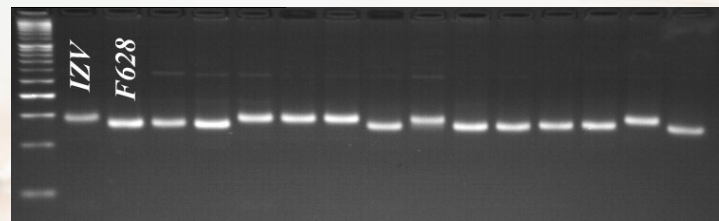
Izolare ADN

Amplificare ADN
(PCR)

Clivare cu enzime
de restricție

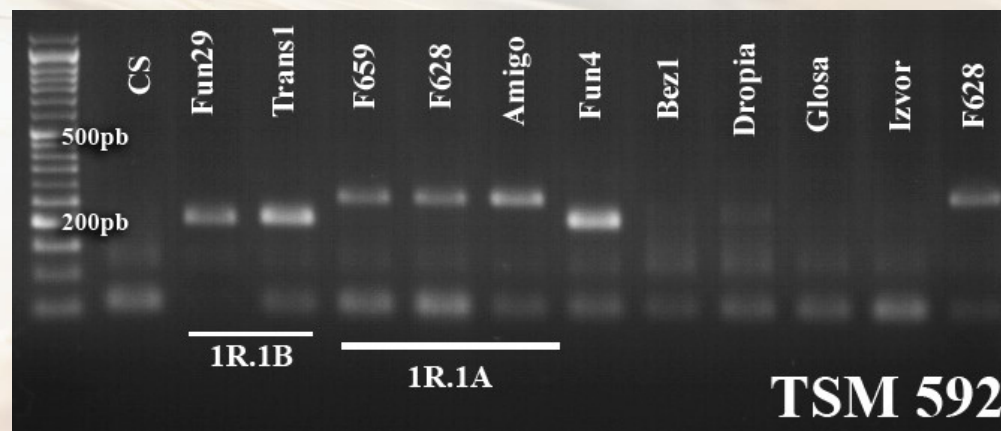
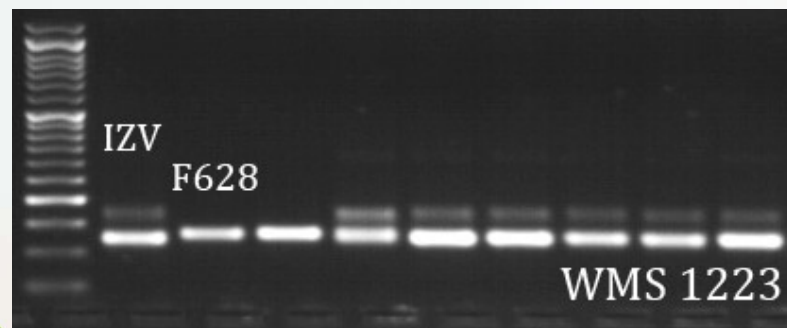
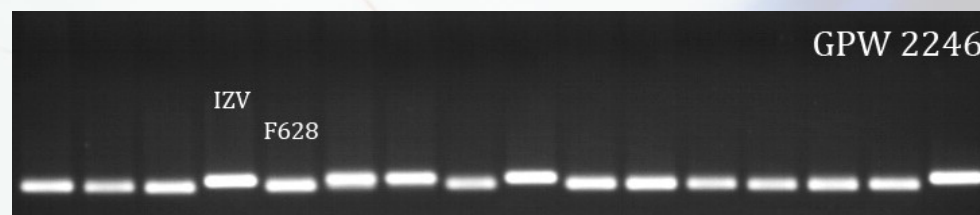
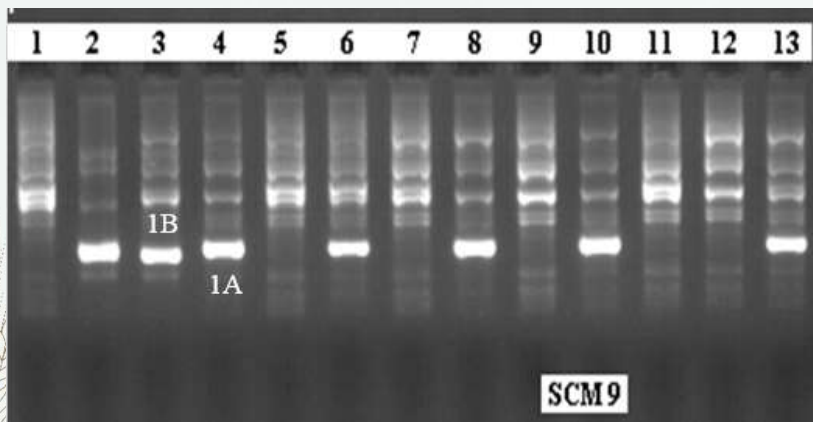
Electroforeză

Analiză rezultate



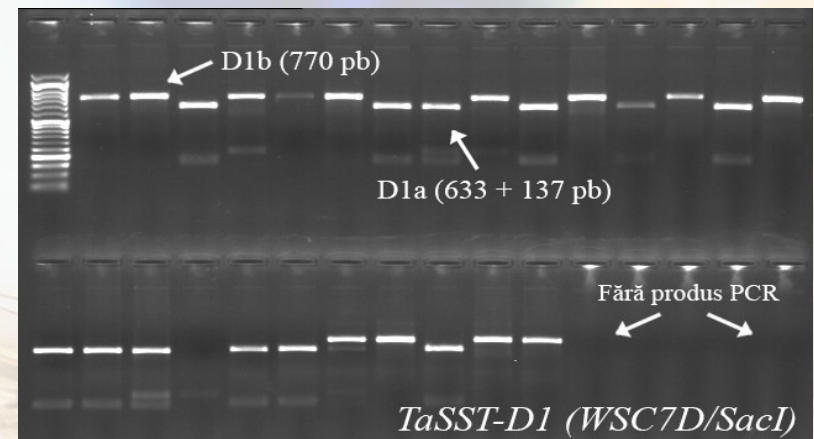
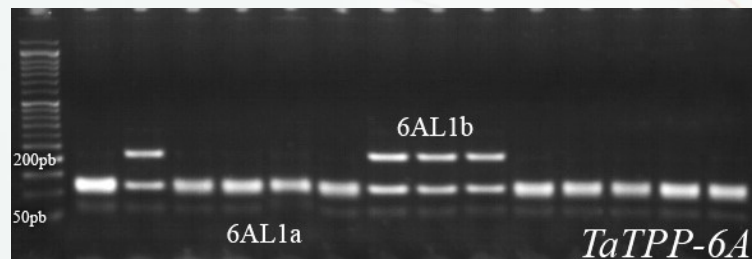
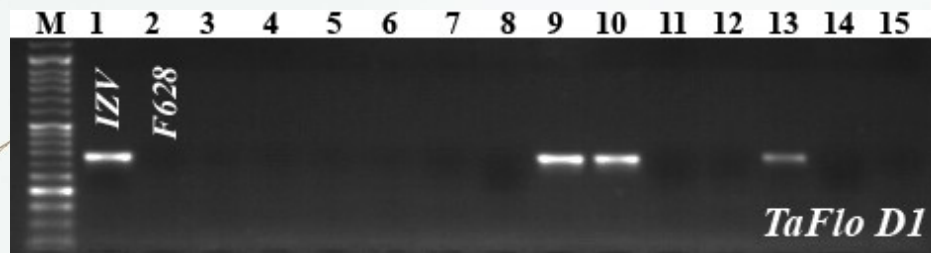
ADER 116 2015-2018

Markeri moleculari pentru validarea transferului cromatinei de secară
în genomul grâului



ADER 116 2015-2018

Variabilitatea genetică la nivelul unor loci implicați în controlul dimensiunilor și greutateii bobului la grâu



ADER 116 2015-2018

Rezultat scontat 4:

- Diseminarea rezultatelor obținute în cadrul proiectului.

Rezultat obținut 4:

- ✓ Organizare Conferință Internațională: 17th EWAC - The European Cereals Genetics Cooperative EUCARPIA Cereals Section International Conference, 03-08 iunie 2018

Locul desfășurări: București (Hotel Capital Plaza), 54 de participanți;

- Din străinătate - 26 (cercetători și studenți) din 11 țări (Algeria, Bulgaria, Canada, Rusia, Ucraina, Ungaria, Serbia, Germania, Mexic, Marea Britanie, Polonia)
- Din România - 28 (14,8% participare din mediul universitar și 85,2% din domeniul cercetării)

Lucrări prezentate - 23 de lucrări în plen și 14 postere;

Activități desfășurate: vizite în câmpurile experimentale.

ADER 116 2015-2018



17th EWAC Eucarpia International Conference June 3-8, Bucharest, Romania



ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 4:

✓ Participare la manifestări științifice:

- **Nationale:** Sesiunea anuală de referate Științifice a INCDA Fundulea (2016/2017/2018); Sesiunea de referate de la SCDA Secuieni (2016/2017/2018); Perspective ale Agriculturii Mileniului III”-USAMV Cluj-Napoca (2017); Sesiunea de referate a USAMV Timișoara (2016/2017/2018), Agriculture for Life, Life for Agriculture, USAMV Bucuresti (2016, 2017, 2018).
- **Internationale:** 13th International Wheat Genetics Symposium (2017); „Fifth international conference on radiation and applications in various fields of research (2017); International Multidisciplinary Scientific GeoConferences SGEM (2016/2018).

ADER 116 2015-2018

Rezultat obținut 4:

✓ Publicarea rezultatelor :

- Articole publicate în reviste de specialitate cotate ISI - 4;
- Aricole publicate în reviste de specialitate indexate ISI - 1;
- Aricole in reviste de specialitate indexate BDI - 12.