

ADER 116/2015

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.

PLAN SECTORIAL – ADER 2015-2018

- **Contractor:** INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE AGRICOLĂ FUNDULEA
- **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.
- **Codul proiectului:** ADER 1.1.6
- **Contract:** 1.1.6/01.10.2015
- **Anul începerii:** 2015
- **Anul finalizării:** 2018
- **Durata:** 38 luni
- **Denumirea proiectului:** ADER 1.1.6. 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.
- **Denumirea fazei I:** Optimizarea colaborării pentru extinderea caracterizării materialului.
- **Persoana de contact:** Ciuca Matilda
- **E-mail:** mcincda@gmail.com

Obiectivul Proiectului

Utilizarea metodelor biotehnologice pentru creșterea variabilității genetice a materialului de ameliorare și accelerarea progresului genetic în privința nivelului și stabilității recoltelor la culturile de grâu și orz.

Obiectivele specifice ale proiectului:

- 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, reflectanța lanului, longevitate a frunzelor 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.

Obiectivul Fazei I/2015

Optimizarea colaborării pentru extinderea caracterizării materialului.

ADER 116/2015

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	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	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

Principalele activități întreprinse în desfășurarea fazei I/2015 (01.10.2015-22.12.2015)

- **Activitate I.1.** Precizarea planului de activitate al consorțiului centrelor participante (CP, P1, P2, P3, P4);
- **Activitate I.2.** Transfer de material inițial de introgresie și de linii DH mutante/ recombinante (CP);
- **Activitate I.3.** Realizarea dispozitivului experimental pentru testarea materialului biologic (CP, P1, P2, P3, P4) și întocmirea planului experimental pentru obținerea de haploizi și linii DH de grâu, orz/ orzoaică, triticale și noi linii de introgresie (CP, P1).

Rezultate preconizate

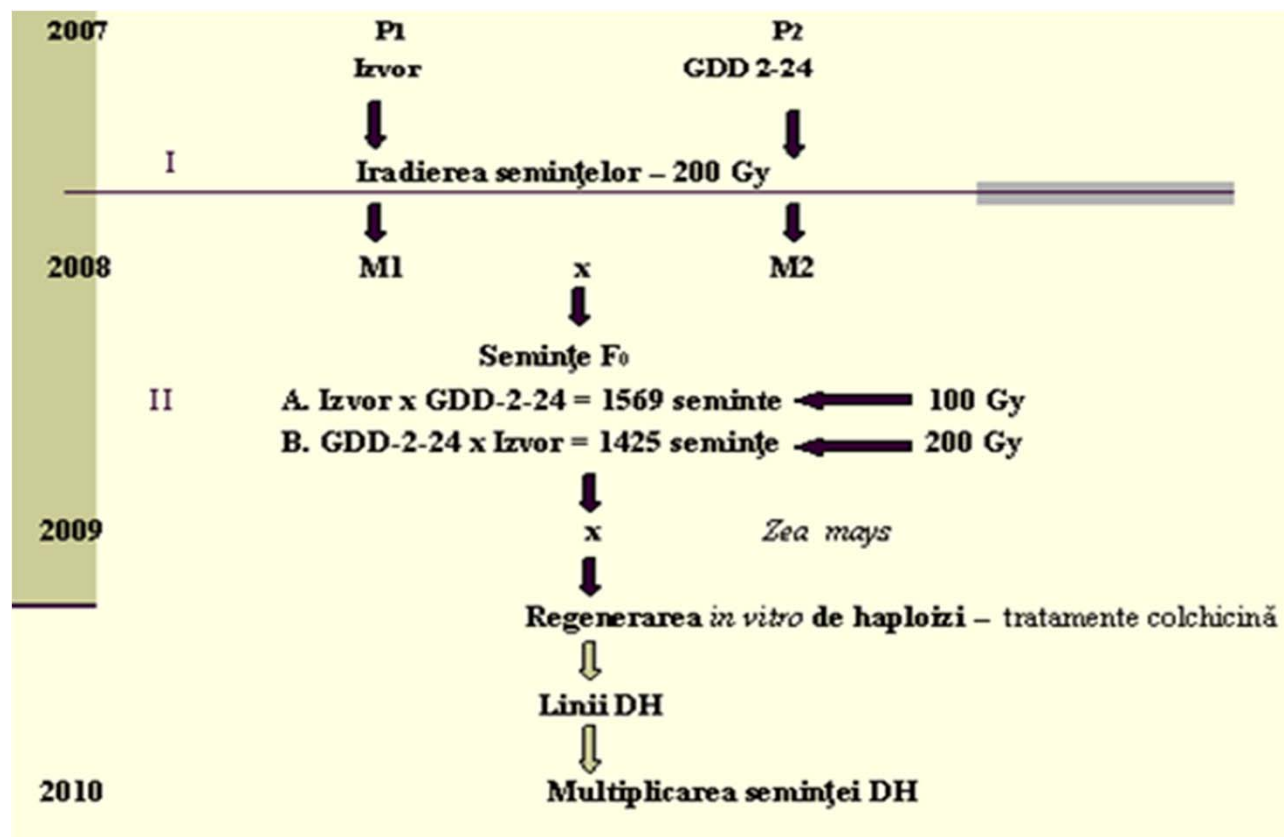
- Plan de lucru;
- Extinderea caracterizării materialului inițial de introgresie și a unor linii DH mutante/ recombinante;
- Realizarea experiențelor de câmp și achiziționarea reactivilor pentru metodele de laborator.

Material biologic

Nr.	Cod	Genealogie		Țara de origine
		Genotip T. durum	Biotip Ae. squarrosa	
1	E 1-A	Pandur	Ae. squarrosa typica - 2472	Iran
2	E 5-A	Agedur	Ae. squarrosa strangulata - 2475	Iran
3	E 6-A	Agedur	Ae. squarrosa meyeri - 2530	Iran
4	E 7-A	Elidur	Ae. squarrosa meyeri - 2386	Pakistan
5	E 17-A	Amadur	Ae. squarrosa typica - 2472	Iran
6	E 19-A	Grandur	Ae. squarrosa strangulata - 2377	Iran
7	E 24-A	Condur	Ae. squarrosa strangulata – 2464	Iran
8	E 25-A	Condur	Ae. squarrosa typical - 2472	Iran
9	E 32-A	DDU 297	Ae. squarrosa strangulata - 2569	Zona Kazahstanului
10	E 35-A	Grandur	Ae. squarrosa strangulata - 2569	Zona Kazahstanului

Material biologic

- 25 linii mutante/recombinante obținute după următoarea schemă:



REZULTATE OBȚINUTE

Plan de lucru

- Pentru a atinge obiectivul propus, partenerii din cadrul proiectului au stabilit planul de activitate al consorțiului (INCDA Fundulea, SCDA Turda, SCDA Pitești, Universitatea din Craiova-SCDA Caracal și SCDA Șimnic), respectiv, observațiile fenotipice, noi încrucișări, analize moleculare, etc.

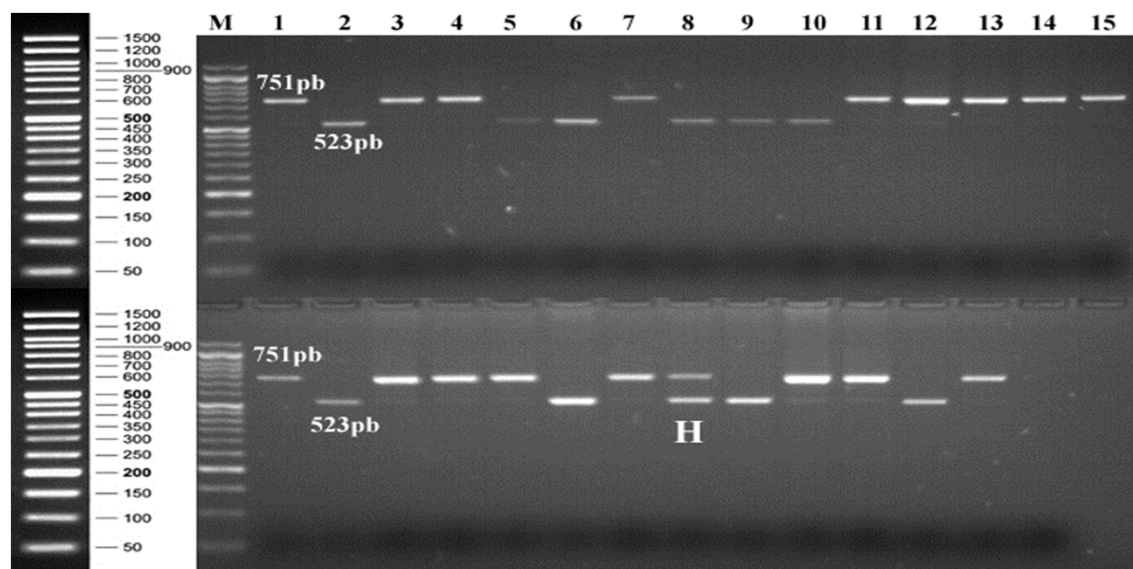
REZULTATE OBȚINUTE

Extinderea caracterizării materialului inițial de introgresie și a unor linii DH mutante/ recombinante;

- Cercetările efectuate în această fază au evidențiat linii DH cu translocția 1RS.1AL, cu variații de dimensiune a regiunii telomerice a brațului scurt 1R, linii ce conțin alela de rezistență la rugina brună, *Lr34*. De asemenea, s-a observat o variație alelică a markerului wmc603.
- Observațiile fenotipice din câmpurile experimentale din cele cinci zone vor demonstra valoarea/nonvaloarea genetică a acestor variabilități genetice.

REZULTATE OBȚINUTE

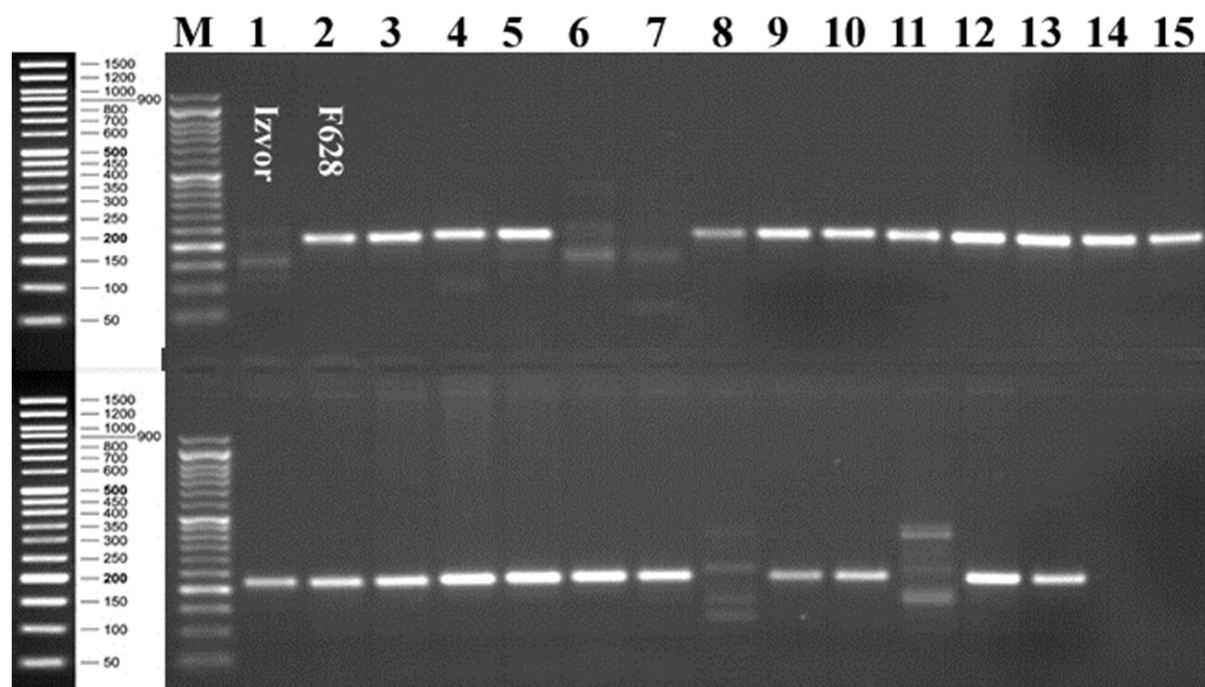
- Prezența alelei de rezistență (751pb - *Lr34+*) în 16 genotipuri din 25, reprezentând un procent de 64%;



Profil electroforetic obținut cu markerul funcțional *cssfr5*.

REZULTATE OBȚINUTE

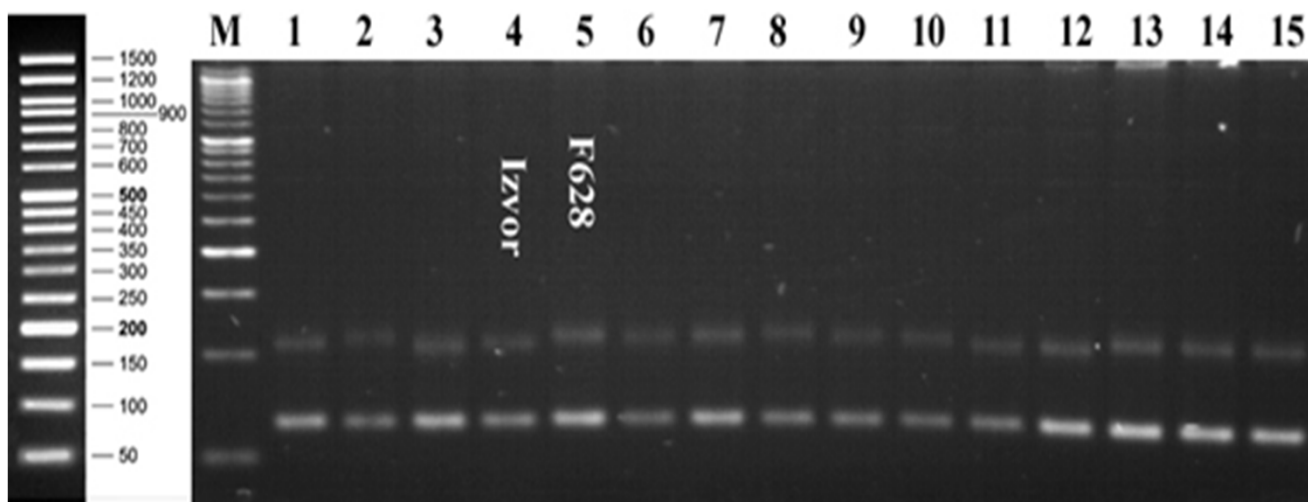
- Translocăția **1RS.1AL** în 21 de linii DH (84%) din totalul celor analizate



Profilul electroforetic obținut cu markerul SCM9.

REZULTATE OBTINUTE

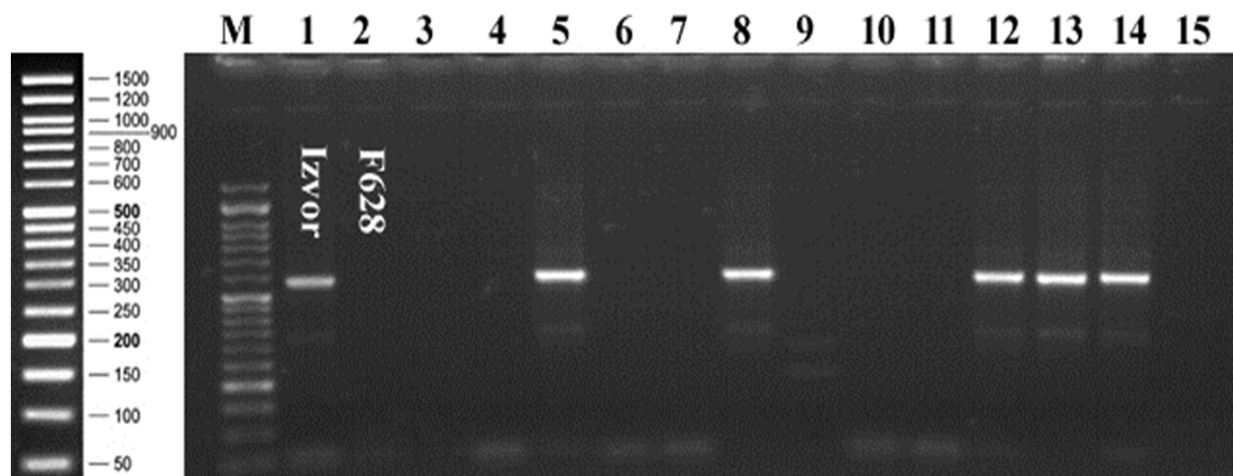
- Gena **or** a fost pusă în evidență cu markerul wmc603 în 11 genotipuri, ceea ce reprezintă doar 44%.



Profil electroforetic obținut cu markerul wmc603.

REZULTATE OBȚINUTE

- Locusul Glu-A3 a fost detectat atât în liniile la care este absentă cromatina de secară dar și în două linii la care s-a observat prezența translocației 1RS.1AL. Acest rezultat sugerează ca sub acțiunea radiațiilor gamma și/sau a recombinării a avut loc o inserție de cromatină de grâu în brațul scurt al cromozomului 1R;



Profil electroforetic obținut cu markerul Glu-A3ac

REZULTATE OBȚINUTE

Nr. crt.	LINII MUTANTE/ RECOMBINANTE		Markeri moleculari (ADN)					
			cssfr5	GluA3	Scm9	Secalina	Wmc603	WMS1223
1	A i- I	18	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
2		27	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
3		69	Lr34+	Glu+	W	sec-	or-	W
4		75	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
5		77	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
6	Ai- II	27-A	Lr34+	Glu+	W	sec-	?????	W
7		47	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
8		55	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
9		107	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
10		123	Lr34+	Glu+	1RS:1AL	Sec+	or+	W
11		126	Lr34+	Glu+	W	sec-	or-	W
12		131	Lr34+	Glu+	W	sec-	or-	W
13		152	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
14		172	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
15		183	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
16		193	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
17		201	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
18		223	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
19	Bi – I	3	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
20		40	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R
21	Bi- II	47	H?	Glu+	1RS:1AL	Sec+	or-	W
22		44	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
23		47-A	lr34-	Glu+	1RS:1AL	Sec+	or+	W
24		89	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
25		98	Lr34+	glu-	1RS:1AL	Sec+	or+	R
	Parinte	Izvor	Lr34+	Glu+	W	sec-	or+	W
	Parinte	GDD2-24 (F00628G-34)	lr34-	glu-	1RS:1AL	Sec+	or-	R

Notă: Lr34+ “alela de rezistență”; lr- “alela de sensibilitate”; Glu+ prezența locusului Glu-A3; glu- absența locusului Glu-A3; W- cromatină de grâu; R – cromatină de secară; 1RS.1AL- prezență translocția de la secară; Sec+ prezent locusul pentru secaline Sec-1; sec- absent locusul pentru secaline; or+ prezență gena pentru osmoreglare; or- absența gena pentru osmoreglare; ??????- produs PCR diferit.

REZULTATE OBȚINUTE

- **Realizarea experiențelor de câmp și achiziționarea reactivilor pentru metodele de laborator.**

In luna octombrie (a doua decadă) s-a realizat semănatul materialului biologic și deci înființarea câmpurilor experimentale în cele cinci zone. În câmp, răsăritul a fost uniform. Ritmul de creștere este foarte bun, la jumătatea lunii noiembrie grâul a fost în faza de două frunze complet dezvoltate și în plus pe alocuri s-au remarcat și frații coleoptilari. La începutul lunii decembrie grâul se afla în faza de înfrățire.

REZULTATE OBȚINUTE



SCDA Turda



INCDA Fundulea



SCDA Simnic



SCDA Pitesti



SCDA Caracal

Concluzii

- Analiza moleculară a materialului biologic, ce va fi testat în câmpurile experimentale din cele cinci centre (INCDA Fundulea, SCDA Turda, SCDA Pitești, SCDA Caracal și SCDA Șimnic), a evidențiat introgresie de cromatină de secară cât și variabilitate genetică ce ar putea aduce progres genetic;
- Pregătirea terenului și semănatul experiențelor s-a realizat în toate cele cinci centre;
- Activitățile și obiectivele prevăzute în cadrul primei faze a proiectului s-au efectuat conform planului de realizare propus.

Propuneri pentru continuarea proiectului

- Rezultatele activităților din această primă fază de desfășurare a proiectului constituie premisele pentru continuarea finanțării proiectului în vederea obținerii și testării unui număr mai mare de linii DH mutante/recombinante, de amfiploizi sintetici și de elite extrase din linii sintetice de retroîncrucișare (amfiploizi x forme moderne de grâu comun), în vederea creării de linii de introgresie cu gene utile transferate de la specii sălbatice.
- Rezultatele obținute confirmă faptul că obiectivul fazei I/2015 și toate activitățile din planul de realizare au fost îndeplinite integral. Totodată, rezultatele evidențiază necesitatea continuării proiectului și creează premisele derulării în bune condiții a proiectului în anii următori dar și viabilitatea și șansele de succes ale proiectului.