

A landscape photograph of a rural area with rolling hills. The foreground is filled with tall, green grass. In the middle ground, there are fields of yellow and green crops, possibly corn or wheat, with some trees scattered across the landscape. The background shows more hills under a dramatic sky with a rainbow visible on the right side. The text is overlaid on the upper part of the image.

MINISTERUL AGRICULTURII SI DEZVOLTĂRII RURALE
PROIECT SECTORIAL
ADER 2.1.6

PROIECT SECTORIAL: ADER 2.1.6

**CERCETĂRI PRIVIND CREAREA ȘI IDENTIFICAREA
UNOR GENOTIPURI DE ORZ ȘI/SAU ORZOAICĂ DE
TOAMNĂ CU PRETABILITATE SUPERIOARĂ PENTRU
PRODUCEREA SUCULUI DE ORZ VERDE**

Conducător proiect (CP) :
**Institutul Național de Cercetare Dezvoltare
Agricolă FUNDULEA**



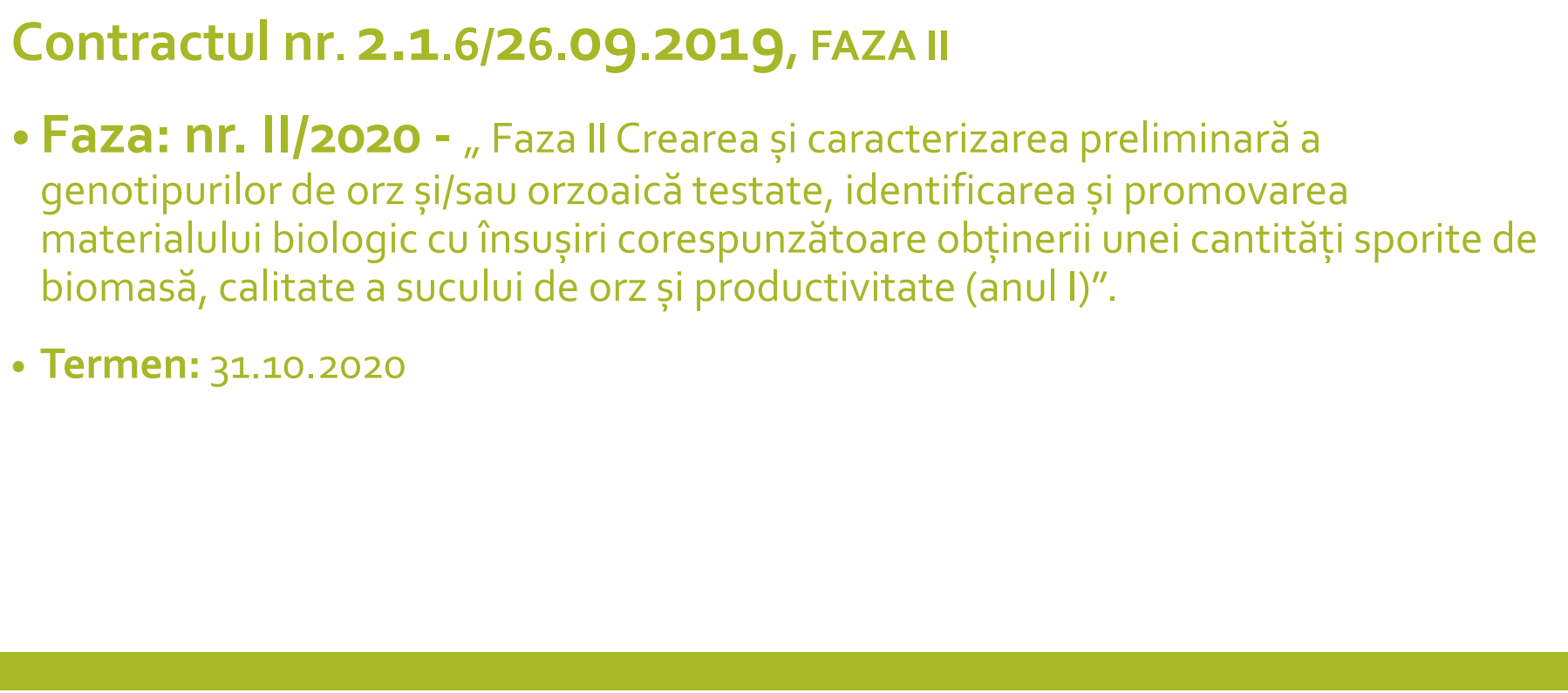
Parteneri (P):

P₁ – Institutul Național de Cercetare Dezvoltare Medico-Militară
"Cantacuzino"



RAPORT DE ACTIVITATE AL FAZEI

Contractul nr. 2.1.6/26.09.2019, FAZA II

- **Faza: nr. II/2020** - „ Faza II Crearea și caracterizarea preliminară a genotipurilor de orz și/sau orzoaică testate, identificarea și promovarea materialului biologic cu însușiri corespunzătoare obținerii unei cantități sporite de biomasă, calitate a sucului de orz și productivitate (anul I)”.

- **Termen:** 31.10.2020

Rezumatul fazei:

Etapa II a proiectului a vizat următoarele activități:

- **Activitate II.1** Crearea de materialului biologic nou prin realizarea de hibridări în vederea obținerii de material de preameliorare cu caractere specifice obiectivului proiectului
- **Activitate II.2.** Caracterizarea comportării genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă sub aspectul indexului de diferențiere vegetativ, corespunzător condițiilor diferite de cultivare, analize moleculare pentru detectarea unor regiuni genomice implicate în "stay-green"
- **Activitate II.3.** Recoltarea și evaluarea preliminară a cantității și randamentului biomasei genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă în condiții de cultivare diferite (densități variabile și plantă premergătoare leguminoasă)
- **Activitate II.4.** Recoltarea și evaluarea preliminară a capacității de producție a genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă testate în câmpul experimental în diverse condiții de cultivare (densități variabile și plantă premergătoare leguminoasă), identificarea și promovarea materialului biologic pe baza producției de biomasă și a potențialului productiv
- **Activitate II.5.** Lucrări specifice în câmpul experimental, înființarea experiențelor în câmpurile experimentale cu genotipurile selectate conform evaluării anterioare a materialului biologic (pentru evaluarea biomasei, a nivelului productiv și multiplicare a semințelor în vederea obținerii necesarului aferent anului următor de experimentare).
- **Activitate II.6** Prezentarea unei lucrări științifice în cadrul unui simpozion/conferință internațională/națională; publicarea unui articol științific în revistă de specialitate
- **Activitate II.7** Obținerea prin diverse metode a sucului de orz/orzoaică și caracterizarea preliminară a acestuia din punct de vedere biochimic și al capacității antioxidante și stabilirea variantei optime de prelucrare a materialului biologic în vederea obținerii de suc de orz și/sau orzoaică

Activitate II.1.

- Crearea de materialului biologic nou prin realizarea de hibridări în vederea obținerii de material de preameliorare cu caractere specifice obiectivului proiectului (au fost obținuți 30 hibrizi noi prin hibridarea unor genitori cu însușiri corespunzătoare în ceea ce privește biomasa și productivitatea).
- Hibridările au fost realizate în luna aprilie-mai (foto 1 și foto 2) în cadrul câmpului special înființat pentru hibrizii de orz și orzoaică de toamnă. Din câmpul de hibrizi F_0 au fost recoltate combinațiile în luna iunie, acestea fiind promovate în F_1 iar în urma condiționării manuale a spicelor obținute au fost semănate în parcele a câte 2 rânduri.



Foto 1. Imagine din câmpul de hibrizi de orz de toamnă



Foto 2. Imagine din câmpul de hibrizi de orzoaică de toamnă

Activitate II.2.

- Caracterizarea comportării genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă sub aspectul indexului de diferențiere vegetativ, corespunzător condițiilor diferite de cultivare a fost realizată prin analize moleculare pentru detectarea unor regiuni genomice implicate în "stay-green" pe un număr de 50 genotipuri.

Tabelul 1

Condiția de mediu 1	Înălțimea medie de recoltare a plantelor în verde (cm)	Condiția de mediu 2	Înălțimea medie de recoltare a plantelor în verde (cm)
01-01 D1	28.3	01-01 D2	25.0
01-02 D1	28.3	01-02 D2	25.0
01-03 D1	30.0	01-03 D2	37.7
01-04 D1	30.0	01-04 D2	33.3
01-05 D1	21.7	01-05 D2	31.7
01-06 D1	26.7	01-06 D2	31.7
01-07 D1	26.7	01-07 D2	31.7
01-08 D1	28.3	01-08 D2	32.7
01-09 D1	33.3	01-09 D2	30.0
01-10 D1	26.7	01-10 D2	28.3
01-11 D1	28.3	01-11 D2	25.0
01-12 D1	33.3	01-12 D2	32.7
01-13 D1	28.3	01-13 D2	37.7
01-14 D1	35.0	01-14 D2	28.3
01-15 D1	35.0	01-15 D2	36.7
01-16 D1	28.3	01-16 D2	35.0
01-17 D1	30.0	01-17 D2	31.7
01-18 D1	25.0	01-18 D2	35.0
01-19 D1	30.0	01-19 D2	37.3
01-20 D1	30.0	01-20 D2	38.3
01-21 D1	28.3	01-21 D2	33.3
01-22 D1	28.3	01-22 D2	36.7
01-23 D1	26.7	01-23 D2	33.3
01-24 D1	28.3	01-24 D2	35.0
01-25 D1	25.0	01-25 D2	28.3

În vederea obținerii rezultatelor preconizate au fost executate mai multe determinări în perioada de vegetație în două condiții diferite de cultivare. Prima determinare a fost înălțimea plantei la care a fost recoltat manual materialul biologic în stare verede pentru extragerea sucului (tabelul 1 și 2).

Analiza varianței a arătat că sursa variației reprezentată de condiția de mediu în care au fost testate genotipurile (de la 01-01 D1 la 01-25 D2) a influențat semnificativ înălțimea plantelor, acest caracter fiind o însuțire de bază care se ia în considerare pentru aprecierea momentului de recoltare a materialului biologic în verde ($F=17.459^{**}$).

Tabelul 2

Condiția de mediu 1	Înălțimea medie de recoltare a plantelor în verde (cm)	Condiția de mediu 2	Înălțimea medie de recoltare a plantelor în verde (cm)
21-01 D1	26.7	21-01 D2	21.7
21-02 D1	25.0	21-02 D2	30.0
21-03 D1	28.3	21-03 D2	33.3
21-04 D1	28.3	21-04 D2	31.7
21-05 D1	25.0	21-05 D2	36.7
21-06 D1	30.0	21-06 D2	35.0
21-07 D1	26.7	21-07 D2	36.7
21-08 D1	26.7	21-08 D2	35.0
21-09 D1	28.3	21-09 D2	35.0
21-10 D1	21.7	21-10 D2	31.7
21-11 D1	26.7	21-11 D2	28.3
21-12 D1	26.7	21-12 D2	36.7
21-13 D1	28.3	21-13 D2	31.7
21-14 D1	23.3	21-14 D2	36.7
21-15 D1	31.7	21-15 D2	35.0
21-16 D1	30.0	21-16 D2	31.7
21-17 D1	30.0	21-17 D2	36.7
21-18 D1	25.0	21-18 D2	33.3
21-19 D1	35.0	21-19 D2	40.0
21-20 D1	30.0	21-20 D2	40.0
21-21 D1	26.7	21-21 D2	38.3
21-22 D1	28.3	21-22 D2	30.0
21-23 D1	25.0	21-23 D2	33.3
21-24 D1	23.3	21-24 D2	28.3
21-25 D1	23.3	21-25 D2	26.7

În cazul variantelor de la 21-01 D1 până la 21-25 D2, atât condiția de mediu cât și genotipul au avut o influență semnificativă asupra înălțimii plantelor ($F=52.246^{**}$).

Tabelul 3

Condiția de mediu 1	Valori Green Seeker (unități SPAD)	Condiția de mediu 2	Valori Green Seeker (unități SPAD)
01-01 D1	0.72	01-01 D2	0.64
01-02 D1	0.71	01-02 D2	0.66
01-03 D1	0.70	01-03 D2	0.73
01-04 D1	0.72	01-04 D2	0.71
01-05 D1	0.63	01-05 D2	0.76
01-06 D1	0.75	01-06 D2	0.75
01-07 D1	0.73	01-07 D2	0.76
01-08 D1	0.74	01-08 D2	0.76
01-09 D1	0.74	01-09 D2	0.70
01-10 D1	0.58	01-10 D2	0.71
01-11 D1	0.76	01-11 D2	0.76
01-12 D1	0.71	01-12 D2	0.71
01-13 D1	0.71	01-13 D2	0.70
01-14 D1	0.74	01-14 D2	0.71
01-15 D1	0.76	01-15 D2	0.74
01-16 D1	0.74	01-16 D2	0.76
01-17 D1	0.73	01-17 D2	0.72
01-18 D1	0.74	01-18 D2	0.78
01-19 D1	0.62	01-19 D2	0.74
01-20 D1	0.57	01-20 D2	0.72
01-21 D1	0.72	01-21 D2	0.73
01-22 D1	0.73	01-22 D2	0.78
01-23 D1	0.77	01-23 D2	0.75
01-24 D1	0.71	01-24 D2	0.78
01-25 D1	0.58	01-25 D2	0.71

Analiza varianței a arătat că sursa variației reprezentată de condiția de mediu în care au fost testate genotipurile (de la 01-01 D1 la 01-25 D2) a influențat semnificativ ($F=22.867^{**}$) valorile SPAD obținute (tabelul 3), în cazul variantelor de la 21-01 D1 până la 21-25 D2, genotipul având o influență semnificativă asupra acestor valori (tabelul 4, $F=9.885^{**}$).

Tabelul 4

Condiția de mediu 1	Valori Green Seeker (unități SPAD)	Condiția de mediu 2	Valori Green Seeker (unități SPAD)
21-01 D1	0.73	21-01 D2	0.73
21-02 D1	0.69	21-02 D2	0.73
21-03 D1	0.79	21-03 D2	0.78
21-04 D1	0.75	21-04 D2	0.75
21-05 D1	0.61	21-05 D2	0.69
21-06 D1	0.79	21-06 D2	0.77
21-07 D1	0.77	21-07 D2	0.76
21-08 D1	0.76	21-08 D2	0.77
21-09 D1	0.78	21-09 D2	0.75
21-10 D1	0.71	21-10 D2	0.76
21-11 D1	0.76	21-11 D2	0.74
21-12 D1	0.77	21-12 D2	0.78
21-13 D1	0.79	21-13 D2	0.76
21-14 D1	0.72	21-14 D2	0.77
21-15 D1	0.71	21-15 D2	0.67
21-16 D1	0.76	21-16 D2	0.77
21-17 D1	0.76	21-17 D2	0.77
21-18 D1	0.76	21-18 D2	0.79
21-19 D1	0.62	21-19 D2	0.61
21-20 D1	0.68	21-20 D2	0.67
21-21 D1	0.61	21-21 D2	0.53
21-22 D1	0.65	21-22 D2	0.58
21-23 D1	0.60	21-23 D2	0.63
21-24 D1	0.74	21-24 D2	0.69
21-25 D1	0.73	21-25 D2	0.74

Activitate II.3.

- Recoltarea și evaluarea preliminară a cantității și randamentului biomasei genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă (50 genotipuri) în condiții de cultivare diferite (densități variabile și plantă premergătoare leguminoasă)

Tabelul 5

Condiția de mediu 1	Biomasa (kg/ha)	Condiția de mediu 2	Biomasa (kg/ha)
01-01 D1	4687	01-01 D2	5627
01-02 D1	4367	01-02 D2	4653
01-03 D1	5260	01-03 D2	7720
01-04 D1	5067	01-04 D2	5707
01-05 D1	3107	01-05 D2	6853
01-06 D1	6800	01-06 D2	7427
01-07 D1	4473	01-07 D2	5740
01-08 D1	5820	01-08 D2	6947
01-09 D1	7113	01-09 D2	5807
01-10 D1	3187	01-10 D2	4820
01-11 D1	4720	01-11 D2	4713
01-12 D1	4693	01-12 D2	6147
01-13 D1	5327	01-13 D2	7433
01-14 D1	7387	01-14 D2	6573
01-15 D1	7220	01-15 D2	7713
01-16 D1	5500	01-16 D2	7413
01-17 D1	4893	01-17 D2	4027
01-18 D1	3947	01-18 D2	7853
01-19 D1	4980	01-19 D2	6813
01-20 D1	5040	01-20 D2	7493
01-21 D1	5327	01-21 D2	6187
01-22 D1	5033	01-22 D2	6720
01-23 D1	4733	01-23 D2	7027
01-24 D1	5053	01-24 D2	6627
01-25 D1	3313	01-25 D2	5533

Evaluarea cantității de biomasă s-a realizat prin recoltare manuală și cântărire în același timp (în câmp) pentru cele 2 condiții de cultivare diferite (2 densități de boabe/m² și plantă premergătoare mazăre) fără aplicare de azot (cantitatea de biomasă obținută fiind raportată la unitatea de suprafață).

Tabelul 6

Condiția de mediu 1	Biomasa (kg/ha)	Condiția de mediu 2	Biomasa (kg/ha)
21-01 D1	3727	21-01 D2	4940
21-02 D1	5873	21-02 D2	4780
21-03 D1	7173	21-03 D2	5833
21-04 D1	4847	21-04 D2	5807
21-05 D1	3940	21-05 D2	4900
21-06 D1	7793	21-06 D2	8133
21-07 D1	5807	21-07 D2	6060
21-08 D1	5513	21-08 D2	7973
21-09 D1	6660	21-09 D2	7233
21-10 D1	3820	21-10 D2	5560
21-11 D1	3780	21-11 D2	3380
21-12 D1	6100	21-12 D2	9460
21-13 D1	6627	21-13 D2	6840
21-14 D1	4207	21-14 D2	8133
21-15 D1	4847	21-15 D2	3647
21-16 D1	5560	21-16 D2	5593
21-17 D1	5240	21-17 D2	7400
21-18 D1	4287	21-18 D2	4360
21-19 D1	5153	21-19 D2	6773
21-20 D1	4427	21-20 D2	4887
21-21 D1	3793	21-21 D2	2533
21-22 D1	4640	21-22 D2	3413
21-23 D1	4507	21-23 D2	4187
21-24 D1	6073	21-24 D2	4887
21-25 D1	4120	21-25 D2	4687

Cantitatea de biomasă (tabelul 5 și 6) a fost diferită de la genotip la genotip și de la o condiție de cultivare la cealaltă. Cantitatea de biomasă realizată a fost influențată la unele de condiția de cultivare (tabelul 5, $F=18.666^{**}$) iar la unele de genotip (tabelul 6, $F=3.466^{**}$).

Activitate II.4.

- Recoltarea și evaluarea preliminară a capacității de producție a genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă (50 genotipuri) testate în câmpul experimental în diverse condiții de cultivare (densități variabile și plantă premergătoare leguminoasă), identificarea și promovarea materialului biologic pe baza producției de biomasă și a potențialului productiv

Tabelul 7				Tabelul 8			
Condiția de mediu 1	Producția (kg/ha)	Condiția de mediu 2	Producția (kg/ha)	Condiția de mediu 1	Producția (kg/ha)	Condiția de mediu 2	Producția (kg/ha)
01-01 D1	5627	01-01 D2	5931	21-01 D1	4859	21-01 D2	4958
01-02 D1	7902	01-02 D2	7781				
01-03 D1	6500	01-03 D2	7124	21-02 D1	5423	21-02 D2	5813
01-04 D1	5804	01-04 D2	5405	21-03 D1	5310	21-03 D2	6704
01-05 D1	7982	01-05 D2	6468	21-04 D1	4319	21-04 D2	5098
01-06 D1	5544	01-06 D2	6862	21-05 D1	5480	21-05 D2	5516
01-07 D1	6633	01-07 D2	6131	21-06 D1	5274	21-06 D2	5847
01-08 D1	6572	01-08 D2	6224	21-07 D1	4917	21-07 D2	5167
01-09 D1	5802	01-09 D2	4329	21-08 D1	5297	21-08 D2	5609
01-10 D1	5957	01-10 D2	5286	21-09 D1	4741	21-09 D2	4828
01-11 D1	6835	01-11 D2	7468	21-10 D1	4385	21-10 D2	5008
01-12 D1	6786	01-12 D2	6203	21-11 D1	3732	21-11 D2	4691
01-13 D1	6498	01-13 D2	7394	21-12 D1	4905	21-12 D2	5276
01-14 D1	6289	01-14 D2	6186	21-13 D1	4469	21-13 D2	5214
01-15 D1	6241	01-15 D2	6106	21-14 D1	4756	21-14 D2	5151
01-16 D1	6271	01-16 D2	6828	21-15 D1	3658	21-15 D2	3629
01-17 D1	6580	01-17 D2	5704	21-16 D1	4803	21-16 D2	5686
01-18 D1	7395	01-18 D2	7116	21-17 D1	5909	21-17 D2	6354
01-19 D1	6448	01-19 D2	5710	21-18 D1	4453	21-18 D2	4634
01-20 D1	5854	01-20 D2	5498	21-19 D1	4103	21-19 D2	4658
01-21 D1	5868	01-21 D2	6135	21-20 D1	4138	21-20 D2	4494
01-22 D1	5976	01-22 D2	6582	21-21 D1	3421	21-21 D2	4132
01-23 D1	6646	01-23 D2	6642	21-22 D1	3763	21-22 D2	4964
01-24 D1	6733	01-24 D2	6814	21-23 D1	3908	21-23 D2	4298
01-25 D1	7347	01-25 D2	7350	21-24 D1	5443	21-24 D2	5624
				21-25 D1	5034	21-25 D2	5253

- Evaluarea nivelului productiv al genotipurilor de orz și/sau orzoaică de toamnă în condiții de cultivare diferite (2 densități de boabe/m² și plantă premergătoare mazăre) a fost realizată în urma recoltării cu o combină specială pentru parcele experimentale (cantitatea de semințe obținută pe parcelă fiind raportată la unitatea de suprafață și ulterior condiționată pentru efectuarea de analize diferite).
- Capacitatea de producție (tabelul 7 și 8) a fost influențată semnificativ numai de genotip în ambele condiții de cultivare ($F = 3.390^{**}$ și $F = 4.502^{**}$).
- Având în vedere că nu au fost aplicate îngrășăminte pe bază de azot, nivelul productiv a oscilat în prima condiție de la 3421 kg/ha (genotipul 21-21, tabelul 8) la 7902 kg (genotipul 01-02, tabelul 7).
- În a doua condiție de cultivare nivelul productiv a oscilat de la 3629 kg/ha (genotipul 21-15, tabelul 14) la 7781 kg (genotipul 01-02, tabelul 8).

- Genotipurile testate (50 genotipuri de orz și orzoaică de toamnă) au fost analizate cu mai mulți markeri moleculari.
- Deoarece conținutul în clorofilă este diferit de la un genotip la altul (fiind afectat de condițiile de mediu), acesta este ideal pentru analiza QTL-urilor și selecția asistată de markeri moleculari. Acești markeri indică absența sau prezența unor caractere calitative specifice dar acestea sunt întotdeauna detectabile, indiferent de mediul de cultivare sau de tehnologia aplicată.

- SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) este o tehnică moleculară bazată pe PCR (Polymerase Chain Reaction) și dezvoltată în anul 2001 de către Li și Quiros.
- Acești markeri SRAP sunt foarte utili pentru caracterizarea gemoplasmei, identificarea soiurilor, cartare moleculară, etc. Deși nu este specifică unei anumite culturi de câmp, tehnica SRAP, permite identificarea cu ușurință a unor produși de amplificare pentru secvențiere, a caracterelor cantitative sau multi alelice, motiv pentru care, acești markeri pot fi eficienți pentru aceste studii.
- Din cei 5 Markeri SRAP utilizați pentru acest studiu, doar patru perechi de primeri au generat polimorfism pentru cele 50 de linii de orz și orzoaică supuse.
- Analiza PCR cu markerul SRAP 14 a generat un fragment polimorfic de 310 pb, acesta putând fi identificat la 20 din cele 50 de linii de orz analizate cu acest marker (Figurile 1, 2 și 3).

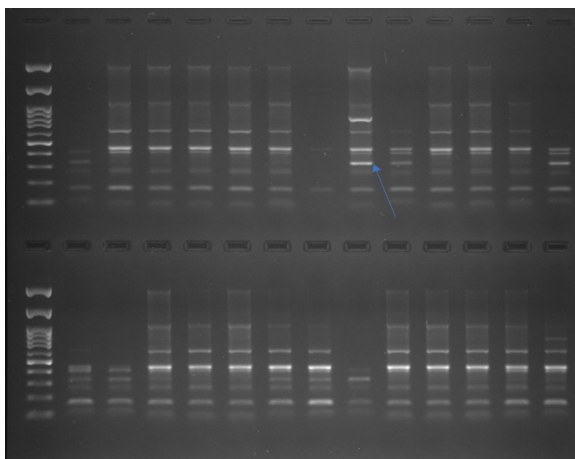


Figura 1. Profil electroforetic obținut prin analiza PCR cu markerul SRAP 14. Sus: 1- Marker 100 pb (Cleaver), 2-14: de la 01-01 pana la 01-13. Jos: 1- Marker 100 pb, 2-14: de la 01-14 pana la 21-01.

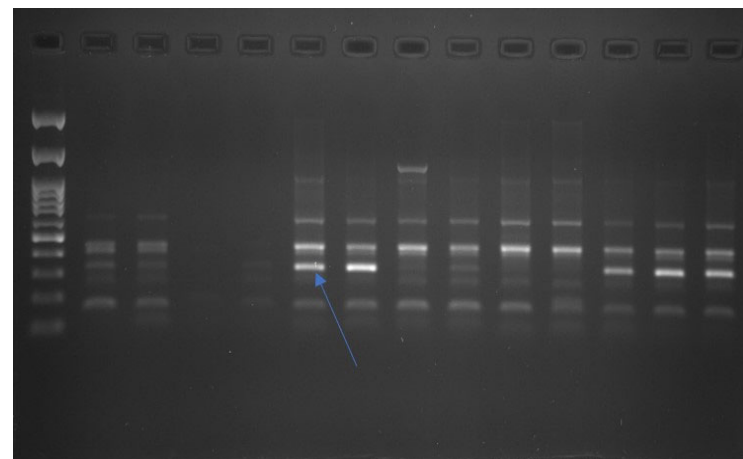


Figura 2. Profil electroforetic obținut cu markerul SRAP 14. Probe: 1 - Marker 100 pb, 2-14: de la 21-02 pana la 21-14.

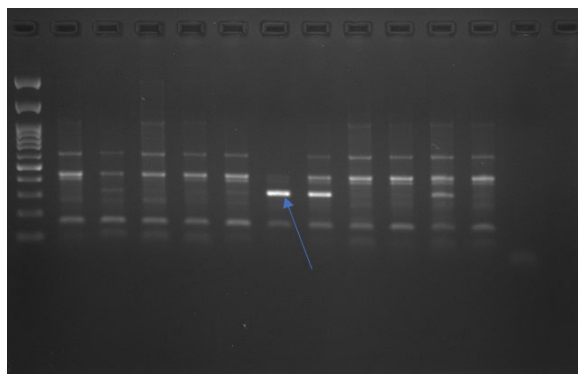


Figura 3. Profil electroforetic obținut cu markerul SRAP 14. Probe: 1 - Marker 100 pb, 2-14: de la 21-15 pana la 21-25.

- Analiza datelor fenotipice și genetice (ADN) obținute în această fază va permite asocierea polimorfismului ADN cu trăsăturile de interes (clorofilă și senescentă).

Activitate II.5.

- Lucrări specifice în câmpul experimental, înființarea experiențelor în câmpurile experimentale cu genotipurile selectate (50 genotipuri) conform evaluării anterioare a materialului biologic (pentru evaluarea biomasei, a nivelului productiv și multiplicare a semințelor în vederea obținerii necesarului aferent anului următor de experimentare).

- Pentru obținerea unui material semincer de calitate necesar înființării următoarelor experiențe din cadrul proiectului, s-a fertilizat cu azot, s-a erbicidat, s-a aplicat un tratament cu fungicid și s-a efectuat purificarea biologică.
- În vederea multiplicării și asigurării necesarului de semințe aferent anului următor de experimentare s-au semănat 50 de înmulțiri de orz și orzoaică de toamnă (variante componente ale celor 2 culturi comparative) pe o suprafață de 9500 m².
- Semănatul culturilor comparative cu orz și orzoaică de toamnă s-a efectuat în perioada 15-16 octombrie, 2020, iar în prezent au răsărit complet și uniform datorită umidității corespunzătoare din sol.

Activitate II. 6.

- Prezentarea unei lucrări științifice în cadrul unui simpozion/conferință internațională/națională; Publicarea unui articol științific în revistă de specialitate;
- În cadrul conferinței internaționale "Agriculture for Life, Life for Agriculture", desfășurată în perioada 4-6 iunie, 2020 la USAMV București a fost prezentată o lucrare științifică (anexată) după care a fost publicată în volumul de lucrări AgroLife Scientific Journal, Vol. IX, Issue 2/2020 (Genotype, seed rate and climate conditions influences on winter barley agronomic performances)

Activitate II.7.

Partener P1

- Obținerea prin diverse metode a sucului de orz/orzoaică și caracterizarea preliminară a acestuia din punct de vedere biochimic și al capacității antioxidante și stabilirea variantei optime de prelucrare a materialului biologic în vederea obținerii de suc de orz și/sau orzoaică

- Sucul de orz verde a fost obținut prin tocarea și presarea frunzelor tinere de orz, aceste etape fiind urmate de filtrare. Am obținut astfel, pentru fiecare probă, un lichid limpede, brun-roșcat. Volumele utilizate pentru testele efectuate în laborator au fost suficient de mici încât să nu creeze artefacte experimentale.
- Pentru cuantificarea conținutului în proteine a fost utilizată metoda Bradford. Principiul metodei constă în aceea că reactivul Coomassie Brilliant Blue se leagă în mediu acid de grupările carboxil ale proteinelor, formând un complex de culoare albastră. Intensitatea culorii din soluția finală este direct proporțională cu concentrația de proteine din probă și poate fi evaluată cantitativ prin citirea absorbției la 570nm și raportarea rezultatelor obținute la curba standard de albumină serică bovină.
- Metoda Bradford este rapidă și cu sensibilitate crescută. Un alt avantaj față de alte metode de cuantificare a proteinelor constă în susceptibilitatea scăzută a interferențelor datorate altor compuși existenți în probe (minerale, carbohidrați etc).

- Capacitatea antioxidantă totală a fost evaluată utilizând Total Antioxidant Assay Kit, Sigma, MAK187-1KT, respectând protocolul producătorului. Metoda se bazează pe capacitatea compușilor antioxidanți (proteine și compuși cu greutate moleculară mică) de a reduce ionii Cu^{2+} la Cu^+ . Ulterior, acești ioni Cu^+ reacționează cu un cromogen, ducând la formarea unei soluții colorate, a cărei absorbanță la 570nm este direct proporțională cu cantitatea de antioxidanți din probă.
- Testarea în paralel a probelor ca atare și a probelor cu „protein mask” (amestec de compuși ce blochează capacitatea proteinelor de a reduce Cu^{2+}) permite identificarea și evaluarea contribuției moleculelor mici la capacitatea antioxidantă totală.
- Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul nr. 15

Conținutul în proteine și capacitatea antioxidantă totală pentru cele 100 de loturi de orz verde testate

Tabelul 9

	Conținut în proteine (mg/ml)		Capacitate antioxidantă totală (umol/L)	
Proba	filtrat	nefiltrat	proba - protein mask	proba + protein mask
CC01 D1				
Valoare minimă	0.27	0.51	650	2200
Valoare maximă	5.14	5.46	49050	69020
Media	2.56	2.88	14570	19331
CC01 D2				
Valoare minimă	0.31	0.49	3040	3920
Valoare maximă	2.92	2.93	52010	49220
Media	1.69	1.71	25868	27470
CC21 D1				
Valoare minimă	0.06	0.75	2050	1650
Valoare maximă	3.69	4.38	58360	48900
Media	2.45	2.73	20980	21316
CC21 D2				
Valoare minimă	0	0.15	2050	1650
Valoare maximă	1.93	2.15	58360	48900
Media	0.74	1.07	20980	21316

Aspectele luate în considerare pentru prelucrarea datelor și selectarea genotipurilor cu potențial ridicat pentru obținerea unui supliment alimentar antioxidant sunt următoarele:

- eventuale dificultăți în prelucrarea probelor, ceea ce influențează capacitatea de a concepe și implementa un flux tehnologic cu randament crescut pentru obținerea unui supliment alimentar antioxidant;
- conținutul în proteine, evaluat prin raportarea la sucul de orz stabilit ca referință (control);
- raportul între conținutul în proteine corespunzător probelor filtrate și cel al probelor nefiltrate (pentru a evalua pierderile de proteine prin filtrare);
- capacitate antioxidantă totală evaluat prin raportarea la sucul de orz stabilit ca referință (control);
- raportul între valorile obținute pentru probele ca atare și cele cu protein mask.

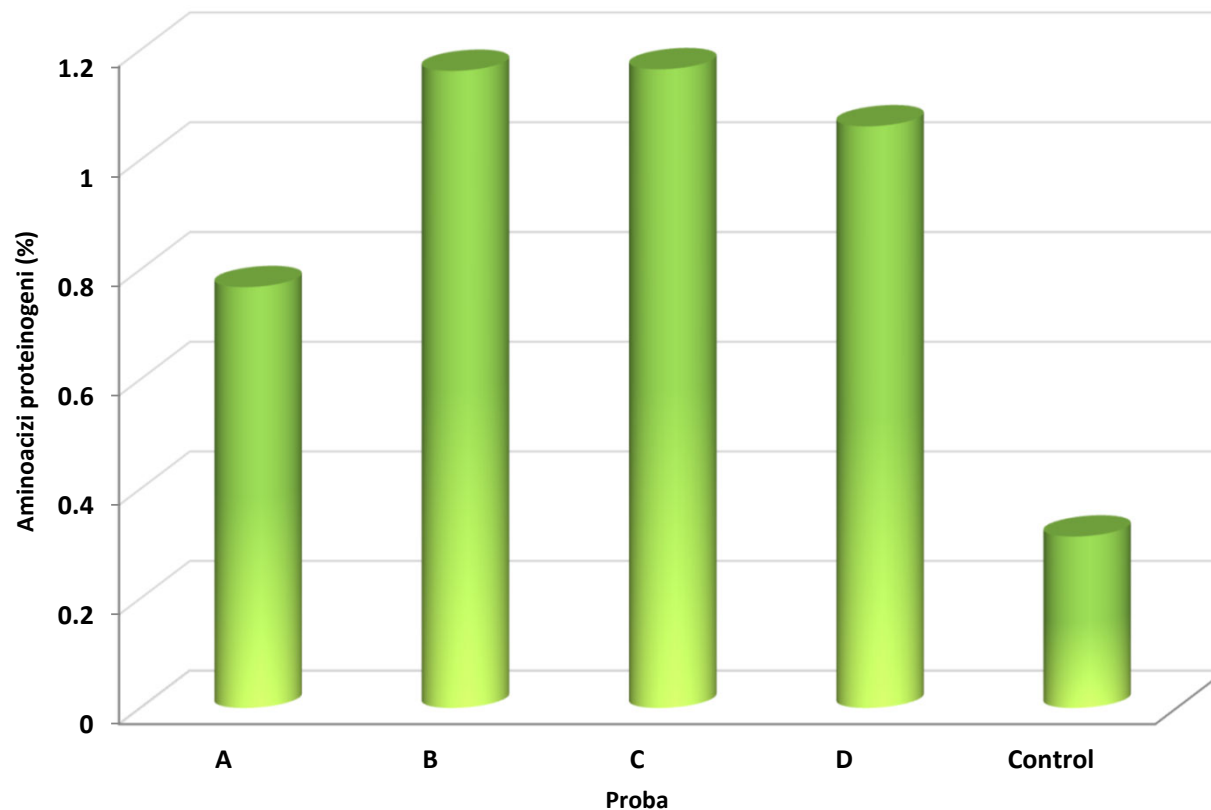


Fig 4. Conținutul în aminoacizi proteinogeni conform PB-53/HPLC ed II/30.12.2008.

În cadrul activității 1.4. a fost elaborat un protocol de obținere a sucului de orz verde, urmând ca acest protocol de lucru să fie optimizat în etapele următoare ale proiectului.

Testarea conținutului în proteine și a capacității antioxidante totale au dus la selectarea, din cele 100 de loturi de orz testate, a 4 probe cu potențial crescut pentru obținerea unor suplimente alimentare antioxidante.

În urma analizei au fost identificate 4 probe, recodificate A, B, C și D cu potențial crescut pentru obținerea unui supliment alimentar antioxidant. Pentru acestea a fost testat conținutul în aminoacizi proteinogeni, conform PB-53/HPLC ed II / 30.12.2008 (prestări servicii).

Rezultatele sunt prezentate în graficul următor (figura 4.), unde se poate observa clar diferența dintre martor și genotipurile selectate.

- În etapa următoare a proiectului vor fi continuate studiile privind evaluarea capacității antioxidante (în special a soiurilor selectate în această etapă), urmărindu-se și contribuția compușilor cu greutate moleculară mică, alții decât aminoacizii proteinogeni cu rol antioxidant.
- Se va urmări de asemenea optimizarea protocolului de obținere a sucului de orz verde, astfel încât să fie minimizată pierderea de proteine și să fie valorificat potențialul antioxidant al produsului final.
- Echipa de la INCDA Fundulea a semănat în această etapă 4 genotipuri de orz plus unul ce va fi utilizat ca martor în două condiții de cultivare diferite (cele 4 genotipuri au fost selectate în urma testelor de laborator).
- Masa verde rezultată la începutul anului următor va fi prelucrată în cadrul INCDMM Cantacuzino la scara tehnologică și testată utilizând metodele descrise mai sus. Rezultatele obținute vor contribui atât la identificarea genotipului cel mai potrivit, cât și la optimizarea protocolului de lucru.
- Ținând cont că se preconizează ca lucrările de cercetare dezvoltare să ducă la obținerea unor rezultate brevetabile, în etapa următoare a proiectului va fi finalizat și semnat acordul de colaborare între parteneri, privind validarea rezultatelor de către beneficiari, confidențialitatea și modalitatea de diseminare a rezultatelor, proprietatea intelectuală, modul de distribuție între parteneri a drepturilor de proprietate și exploatare a rezultatelor obținute pe parcursul proiectului.

Concluzii

- Activitățile prevăzute în cadrul fazei 2 a proiectului s-au derulat conform planului de realizare propus, rezultatele obținute până în prezent demonstrează că există genotipuri cu un potențial deosebit (cantitativ referitor la biomasă și calitativ cu privire la suc) și de aceea constituie argumentul pentru continuarea finanțării proiectului.