

Fișa de prezentare a rezultatelor proiectului de cercetare

- I. Codul(cifrul) și denumirea proiectului
16.80013.5107.20/Ro: Evaluarea unor hibrizi de floarea soarelui, privind rezistența la stresul hidric și termic, în România și Republica Moldova
- II. Denumirea programului de stat, denumirea direcției strategice
Biotehnologii
- III. Obiectivele proiectului
- Colectarea și caracterizarea materialului preconizat pentru cercetare;
 - *Screening*-ul genotipurilor de floarea-soarelui rezistente la stresul hidric prin aplicarea testelor fiziologice de laborator;
 - Identificarea markerilor moleculari asociați cu rezistența la factorii abiotici și testarea germoplasmei de floarea-soarelui;
 - Analiza expresiei genelor asociate cu rezistența la factorii abiotici și elucidarea unor aspecte ale mecanismelor genético-moleculare;
 - Sporirea mobilității, transferul de cunoștințe în domeniul geneticii și ameliorării plantelor.
- IV. Termenul executării
 01.09.2016-31.08.2018
- V. Volumul total al finanțării
- | | |
|---|----------------------------|
| <i>Finanțarea planificată (mii lei)</i> | <i>Executată (mii lei)</i> |
| 235,0 | 235,0 |
- VI. Volumul cofinanțării (mii lei)
 -
- VII. Organizațiile, subdiviziunile – executori ai proiectului (institut, laborator, secție, sector etc.)
 Universitatea de Stat "Dimitrie Cantemir" (USDC), Centrul universitar Genetică Funcțională
- VIII. Organizația partener în executarea proiectului, conducătorul de proiect
- Stațiunea de Cercetare Dezvoltare Agricolă Brăila (SCDA), România
 Institutul Național de Cercetare Dezvoltare Agricolă Fundulea (INCDA), România
- IX. Executorii
- | | <i>Nume, prenume, anul nașterii, titlul științific, funcția în cadrul proiectului</i> |
|----|---|
| 1. | Duca Maria, 1956, acad., dr. hab., director de proiect |
| 2. | Port Angela, 1973, dr., conf. univ, cercetător științific coordonator |
| 3. | Clapco Steliana, 1978, dr., conf. cercet., cercetător științific |
| 4. | Nechifor Victoria, 1987, cercetător științific |
| 5. | Mutu Ana, 1986, cercetător științific |
| 6. | Tabără Olesea, 1986, cercetător științific |
- X. Sumarul activităților proiectului realizate
- | | <i>Activități planificate</i> | <i>Activități realizate și rezultate noi obținute în cadrul proiectului (150 de cuvinte)</i> |
|----|---|--|
| 1. | Colectarea și caracterizarea materialului preconizat pentru cercetare | În calitate de material biologic au fost analizate un șir de genotipuri de floarea-soarelui – linii consangvinizate și hibrizi, ce prezintă o serie de caractere agronomice superioare, în special productivitate stabilă în condiții de stres. Au fost caracterizate 10 linii consangvinizate de perspectivă (linii cu androsterilitate citoplasmatică - ASC și linii restauratoare de fertilitate, de tip <i>Rf</i>), 8 hibrizi comerciali și 20 experimentali de floarea-soarelui, potențiale surse de germoplasmă rezistentă la factori abiotici (stres termic și hidric). |
| 2. | Elaborarea metodologiei de analiză a materialului de studiu | Au fost descrise aspecte morfo-anatomice, fiziologice și moleculare ale mecanismului de rezistență la stresul hidric și termic și pusă în evidență complexitatea și interdependența acestora în asigurarea răspunsului plantei la acțiunea stresogenilor abiotici.
A fost elaborată schema integrată a metodologiei de stabilire a potențialului de toleranță la stres hidric și termic a diferitor genotipuri de floarea-soarelui, ce implică metode moderne de genetică, genomică și biologie moleculară fiind oportună pentru elucidarea elementelor cheie în rețele de reglare a răspunsului la secetă și facilitarea procesului de ameliorare a plantelor. |
| 3. | Evaluarea genotipurilor de floarea-soarelui privind rezistența | A fost testată și adaptată, în funcție de reacția genotipurilor de floarea-soarelui, metodologia de evaluare a toleranței la secetă în condiții de laborator bazată pe inducerea artificială a stresului hidric cu aplicarea PEG6000.
Au fost evaluați privind rezistența la secetă 40 de genotipuri de floarea- |

	la secetă prin aplicarea testelor fiziologice de laborator și obținerea eșantioanelor de studiu.	soarelui, inclusiv 20 de hibrizi autohtoni și 20 oferiți de partenerii români, prin aplicarea testelor fiziologice de laborator. În baza rezultatelor preliminare au fost selectați câte 5 hibrizi rezistenți și 5 sensibili din ambele loturi de hibrizi analizate. Au fost colectate și congelate în azot lichid 600 probe (plante integral, rădăcini, tulpini și frunzulițe cotiledonale) pentru studiul ulterior al expresiei genelor implicate în mecanismele de rezistență la secetă.
4.	Identificarea genelor implicate în reacția de răspuns și de adaptare la secetă.	S-a constatat că răspunsul și toleranța la stres sunt mediate de procese biologice complexe, la diferite specii de plante fiind identificate un număr mare de gene induse de secetă (ca ex. gene codificatoare a enzimelor antioxidante, dihidrinelor, aquaporinelor, diverși factori de transcripție etc.). Cu toate acestea datele privind mecanismele de răspuns la stresul hidric sunt fragmentare, iar dovezile directe privind implicarea unei gene în adaptarea la secetă sunt insuficiente. Au fost puse în evidență un șir de componente moleculare cu rol cheie în reacția de răspuns și de adaptare la secetă și elaborată o listă de primeri pentru evaluarea nivelului de expresie a genelor asociate cu stresul hidric la hibridii de floarea-soarelui din Republica Moldova și România, selectate în baza testelor fiziologice de laborator la faza anterioară.
5.	Obținerea eșantioanelor de ARN, ADNc și AND pentru expresia genelor.	Au fost obținute cca 100 de eșantioane de ARN din rădăcinile și frunzulițele plantulelor de floarea-soarelui rezistente și susceptibile (provenite din Republica Moldova și România) crescute în condiții de stres hidric indus artificial cu utilizarea polietilenglicolului (PEG6000). Prin revers-transcripție au fost obținute probe de ADN complementar de la genotipurile rezistente și susceptibile, în trei variante experimentale (martor fără adaos de PEG și două modele experimentale – 10%, 20% PEG).
6.	Analiza Real Time PCR a genelor de interes.	Probele de ADNc obținute în etapa anterioară au fost utilizate pentru expresia genelor la floarea-soarelui în scopul evidențierii componentelor moleculare implicate în mecanismele de rezistență la secetă, declanșate la nivelul diferitor organe ale plantei. Au fost testate două genotipuri de floarea-soarelui, rezistent și sensibil la secetă, prin evaluarea modificării activității transcripționale a trei dehidrine (<i>Sdi-5</i> , <i>Sdi-8</i> și <i>Cor47</i>) în condiții de stres hidric indus artificial.
7.	Corelarea expresiei genelor cu particularitățile fenotipice, fiziologice.	Analiza comparativă a profilului de expresie genică a pus în evidență acumularea diferită a produșilor de transcripție a dehidrinelor în dependență de genotip, concentrație PEG și tipul de țesut. Cele mai reduse valori ale nivelului de expresie au fost stabilite pentru gena <i>Cor47</i> la plantele control și cele tratate, comparativ cu celelalte două dehidrine studiate. Gena <i>Sdi-5</i> , în condiții de stres hidric moderat (PEG 10%) a manifestat un nivel de supraexpresie în cotiledoane, rădăcină și tulpină la ambele genotipuri în raport cu plantele control. În condițiile unui stres hidric mai pronunțat (PEG 20%) reacția de răspuns a genotipului rezistent și sensibil s-a diferențiat prin supraexpresie la genotipul rezistent și subexpresie la cel sensibil în toate tipurile de țesuturi analizate.

XI. Lista lucrărilor științifice (monografii, articole, obiecte de proprietate intelectuală, teze de licență, masterat, doctorat susținute sau pregătite) cu referință la proiectul realizat

- **articole din alte reviste editate în străinătate**
- 1. CLAPCO, S.; TABARA, O.; MUTU, A.; GISCA, I., PORT, A.; JOITA-PĂCUREANU, M.; DUCA, M. Screening of some sunflower hybrids for drought tolerance under laboratory conditions, *Lucrări Științifice* – vol. 61/2018, seria Agronomie (*în publicare*)
- 2. DUCA, M.; CERNOLEV, E.; GÎSCĂ, I.; CUCEREA VII, A. Sunflower hybrids evaluation for productivity in the Republic of Moldova, *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, 2018 (*în publicare*).
- **articole din reviste naționale:**
- categoria B,**
- 1. MUTU, A.; RÎȘNOVEANU, L.; DUCA, M.; JOIȚA-PĂCUREANU, M.; CLAPCO, S.; CUCEREA VII A. Rezistența diferiților hibrizi de floarea-soarelui la unii agenți fitopatogeni, în condiții naturale de cultivare, *Revista Știința Agricolă*, nr. 2, 2018 (*în publicare*)
- 2. TABĂRĂ, O.; RÎȘNOVEANU, L.; GÎSCĂ, I.; CLAPCO, S.; JOIȚA-PĂCUREANU, M.; DUCA M. Evaluarea unor hibrizi de floarea-soarelui privind rezistența la secetă în Republica Moldova și

– **articole în culegeri:**

1. NEDEALCOV, M., DUCA, M., COJOCARI, R., RĂILEANU, V., CLAPCO, S., Impactul perioadelor uscate asupra productivității culturii de floarea-soarelui, Materialele Conferinței științifice cu participare internațională Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice, Chișinău, 25 noiembrie, 2016, p. 153-157.
2. DUCA, M., NEDEALCOV, M., COJOCARI, R., CLAPCO, S., Riscul stresului termic în perioada de creștere și dezvoltare a florii-soarelui, Materialele Conferinței științifice cu participare internațională Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice, Chișinău, 25 noiembrie, 2016, p. 187-191.

– **rapoarte publicate/Teze ale comunicărilor la congrese, conferințe, simpozioane, în culegeri (naționale / internaționale),**

1. DUCA, M., PORT, A., CLAPCO, S., TABĂRĂ, O., ABDUSA, D., Evaluation of some sunflower genotypes related to drought stress. International Plant Breeding Conference, Kyrenia, Turcia, 15-20 Octombrie, 2017, p. 88.
2. CLAPCO, S.; TABARA, O.; MUTU, A.; GISCA, I., PORT, A.; JOITA-PACUREANU, M.; DUCA, M. Screening of some sunflower hybrids for drought tolerance under laboratory conditions, Simpozionul de Agricultură și inginerie alimentară, organizat în perioada 18-19 octombrie 2018, Iași, p. 74.
3. CLAPCO, S.; MUTU, A.; PORT, A.; DUCA, M. Effects of drought stress on the seed germination in sunflower, Effects of drought stress on the seed germination in sunflower, International congress on oil and protein crops, Chisinau, Republic of Moldova, May 20-24, 2018, Abstract Book, p. 125.

- **teze de licență susținute**

1. DUCA, T., Studiul expresiei unor gene la floarea-soarelui sub acțiunea stresului hidric și termic, Chișinău, 2017
2. JENTEMIR, V., Aspecte genetico-moleculare și fiziologice ale rezistenței florii-soarelui la secetă, Chișinău, 2017

- XII. Lista propunerilor de proiecte prezentate/ câștigate în cadrul concursurilor naționale și internaționale cu tangență la tematica cercetării proiectului realizat

În perioada de derulare a proiectului (2017) a fost depus la concurs și s-a aprobat pentru finanțare un grant pentru studii superioare de doctorat intitulat: *Aspecte privind rezistența florii-soarelui la secetă în condițiile schimbărilor climatice.*

- XIII. Lista colaborărilor inițiate în cadrul proiectului

În perioada de derulare a proiectului au fost consolidate parteneriatelor anterioare și stabilite noi relații de colaborare cu un șir de cercetători din instituții notorii și reprezentanți ai companiilor private în domeniul ameliorării florii-soarelui, precum: SOLTIS, Sunflower Molecular Breeder, Toulouse, Franța; RAGT 2n, Franța; Mogyi Kft. Ungaria; Breeding assistant agricultural engineer, Germania; Strube Research GmbH&Co. KG Neue StraBe 11, Germania; Aspria seeds, Ucraina; Seed&grain trade facilitation, PBR, IP, biotech and more; Instituto de Agricultura Sostenible, Spania; College of Agronomy, Inner Mongolia, Agricultural University, China; Biogemma S.A.S., Franța; SADI Ukrayini, Agrofirma, Ucraina; Добруджански Земеделски институт, Bulgaria ș.a.

Echipa centrului Genetică Funcțională a aderat la consorțiul "*International Consortium on Sunflower Broomrape Resistance*" ce reunește parteneri din instituții publice și private din Franța, Spania, România, China, Serbia, Turcia, Moldova etc. și urmează să elaboreze o propunere de proiect în cadrul programelor internaționale axate pe studiul rezistenței florii-soarelui.

- XIV. Lista evenimentelor organizate / la care s-a participat în cadrul proiectului

Pe parcursul derulării proiectului echipele partenere au organizat, diseminând totodată rezultatele proiectului, 3 evenimente științifice de amploare:

1. *Conferința științifică cu participare internațională Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice*, Chișinău, 25 noiembrie, 2016, organizată de echipa din Republica Moldova
2. *Congresul Internațional privind culturile proteice și oleaginoase* (International Congress on Oil and Protein Crops – Meeting of the EUCARPIA Oil and Protein Crops Section) organizat de echipa din Republica Moldova la Chișinău, 20-24 Mai, 2018.
3. *International Symposium on Broomrape In Sunflower*, organizat de echipa din România, la București, 2-4 iulie, 2018.

Adițional, echipele partenere au participat la:

1. *International Plant Breeding Conference*, Kyrenia, Turcia, 15-20 Octombrie, 2017;
2. *Simpozionul internațional Sunflower and climate change*, Toulouse, Franța, 4-6 februarie 2018;
3. *Simpozionul de Agricultură și inginerie alimentară*, Iași, România, 18-19 octombrie 2018.

XV. Lista de mobilități efectuate în cadrul proiectelor

Pe parcursul derulării proiectului, în scopul planificării activităților, schimbului de experiență, însușirea de noi metode, realizarea activităților de cercetare în comun și a lucrărilor și rapoartelor științifice, precum și diseminarea rezultatelor au fost organizate 4 vizite ale echipei din Republica Moldova la INCDA Fundulea și la SCDA Brăila:

1. 10-15 iulie 2017;
2. 4-10 decembrie 2017;
3. 01-08 iulie 2018;
4. 23-25 august 2018.

și 3 vizite ale echipei din România la USDC:

1. 4-7 noiembrie 2017;
2. 20-24 mai 2018;
3. 27-31 august 2018.

XVI. Informații despre infrastructura utilizată în realizarea proiectului

Cercetările de laborator au fost realizate în cadrul laboratoarelor Genomică și Proteomică a centrului Genetică Funcțională, USDC, cu utilizarea tehnicii de calcul și echipamentului performant din dotare, precum: Calculatoare; Sistemul de PCR cantitativ în timp real QuantStudio 5 (Applied Biosystems); Amplificator Gene Amp PCR System 9700; Aparat p/u producerea gheții EVERmed FLM-90A; Aparat pentru electroforeză ORIZONTALă, CONSORT; Autoclav; Baie de apă cu ultrasunet, Bandelin Sonorex; Balanța analitică, AXIS AGN 200; Bidistilator, OAO “Химлаборприбор”; Camera de cultivare BMT Friocell 222; Centrifuga cu răcire Heraeus Biofuge Fresco; Centrifugă cu răcire, Nuve; Congelator Panasonic MDF-U3386S-PE; Deionizator SARTORIUS; Etuva, Advantage – Lab; Microcentrifuga, SIGMA; Microscop BelEngineering BIO2T; pH-metru, Sartorius; Shaker Incubator, BIOSAN ES-20; Sistem de fotodocumentare a gelurilor, Uvitec Cambrige; Sistem de fotodocumentare geluri, electroforeză DOC-PRINT-VX2; Spectrofotometru UV VIS T60.

Cercetările în vase de vegetație s-au realizat în serele din cadrul INCDA Fundulea, iar cele din câmp - pe terenurile experimentale ale SCDA Brăila, INCDA Fundulea, AMG Agroselect Comerț, Soroca.

XVII. Dificultăți/ impedimente apărute pe parcursul realizării proiectului

-

XVIII. Relevanța rezultatelor științifice obținute (până la 200 de cuvinte).

Au fost acumulate date noi privind expresia genelor asociate reacției de răspuns la stresul hidric la genotipuri de floarea soarelui cu reacție distinctă (sensibile și tolerante), ce vor contribui la elucidarea unor aspecte ale mecanismelor genetico-moleculare ale rezistenței la factorii abiotici. Valorificarea rezultatelor proiectului de către instituții de cercetare și companii private, ce activează în domeniul agriculturii va oferi un șir de avantaje: din punct de vedere *tehnologic* – îmbunătățirea programelor de ameliorare a florii-soarelui rezistentă la acțiunea factorilor nefavorabili; *economic* – crearea și cultivarea de noi hibrizi rezistenți ce va asigura diminuarea pierderilor în randamentul producției de floarea-soarelui și, drept consecință, reducerea pierderilor economice.

Screening-ul a 40 hibrizi experimentali de floarea-soarelui privind rezistența la secetă, prin aplicarea testelor fiziologice de laborator și evaluări în câmp (evaluarea indicilor de productivitate în condiții climaterice diferite din România (Brăila) și Moldova (Soroca) timp de 2 ani consecutivi) a pus în evidență genotipuri rezistente ce pot fi incluse în programele de ameliorare sau/și testări pentru omologare. Metodologiile de identificare a surselor de rezistență la factorii abiotici nefavorabili și datele obținute vor fi recomandate amelioratorilor în vederea evaluării rapide a germoplasmei și valorificării eficiente a potențialului genetic cu rezistență sporită în crearea noilor soiuri și hibrizi.

XIX. Beneficiarul (ministere, instituții de stat sau private, întreprinderi etc.)

Potențialii beneficiari sunt cercetătorii din domeniile biologice și agricole, producătorii de material semincer (ex. AMG Agroselect Comerț, Novasem, Limagrain Moldova) interesați în elucidarea reacției de răspuns și adaptare a plantelor la factorii abiotici, obținerea hibridilor rezistenți, cu indici de productivitate stabili în condițiile schimbătoare de mediu.