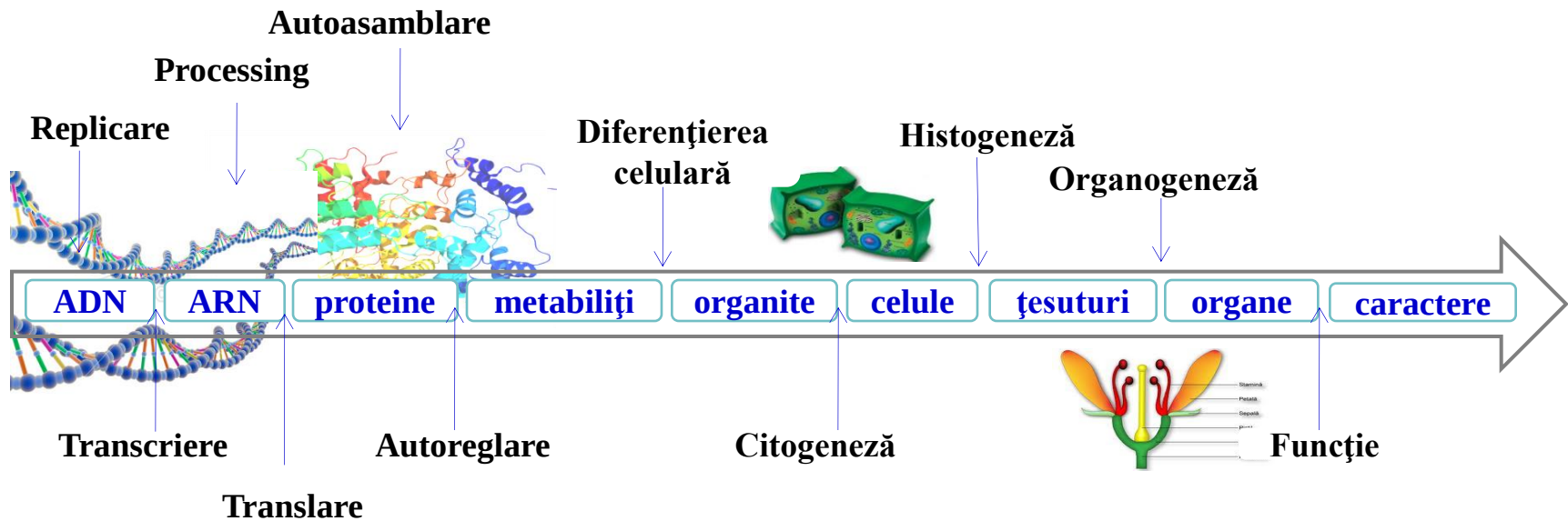


ASPECTE DE GENETICĂ FUNCȚIONALĂ LA PLANTE



Maria DUCA
profesor universitar, academician



**UNIVERSITATEA
ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A
MOLDOVEI**



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



**Organizat în baza Hotărârei CSȘDT
nr. 38 din 26.03.2009**

**Acreditat în baza Hotărârei Comisiei de acreditare a CNAA
nr. AC-2/3 din 24 martie 2011**

GENOMICĂ FUNCȚIONALĂ ȘI BIOINFORMATICĂ

**CENTRUL UNIVERSITAR
DE CERCETARE ȘI FORMARE PROFESIONALĂ
*BIOLOGIE MOLECULARĂ***

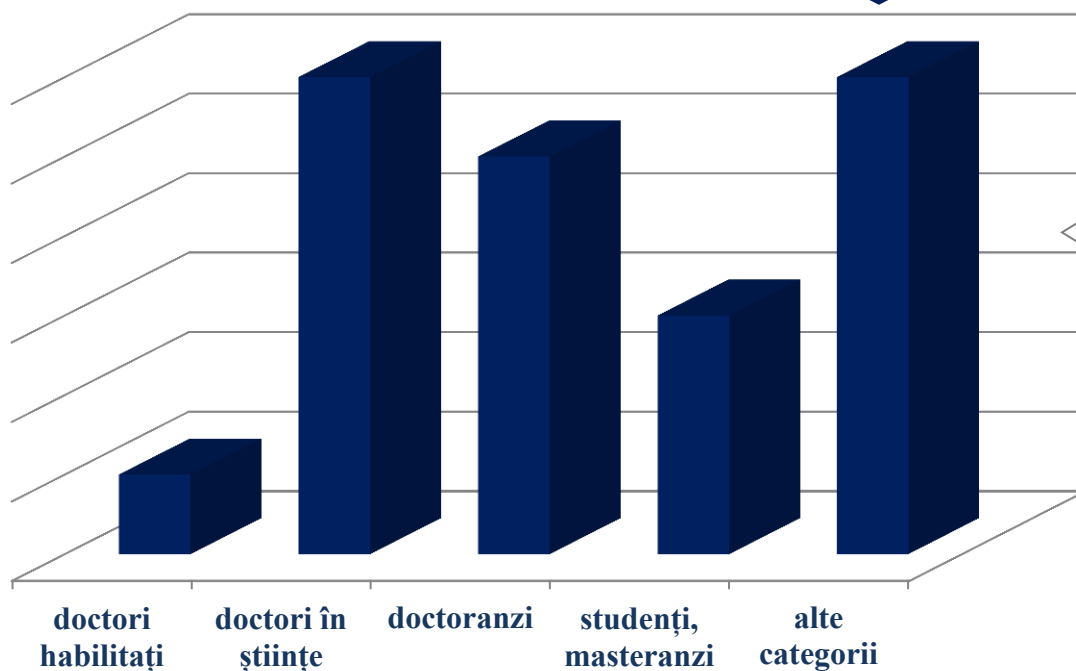
POTENȚIALUL UMAN 2016

Genomică

Proteomică

Bioinformatică

14,5 unități



52%

cu vârsta
până la
35 ani

în formare

72%

TEZE ÎN CURS DE REALIZARE

1. **Port Angela** *“Factori și procese de semnalizare retro- și anterogradă la floarea - soarelui”*
2. **Abdușa Daniela** *“Identificarea și evaluarea unor gene potențial implicate în bolile cardiovasculare.”*
3. **Acciu Adriana** *“Variabilitatea genetico-moleculară și distribuția rasial-geografică a populațiilor de Orobanche cumana Wallr. din Republica Moldova”*
4. **Nechifor Victoria** *“Acțiunea AG3 asupra microsporogenezei la floarea-soarelui”*
5. **Mutu Ana** *“Diversitatea structurală și funcțională la Origanum”*
6. **Tabără Olesea** *“Estimarea modificărilor fiziologice și genetico-moleculare ale răspunsului defensiv în sistemul gazdă-parazit (Helianthus annuus L. - Orobanche cumana Wallr.)”*

TEZE SUSȚINUTE

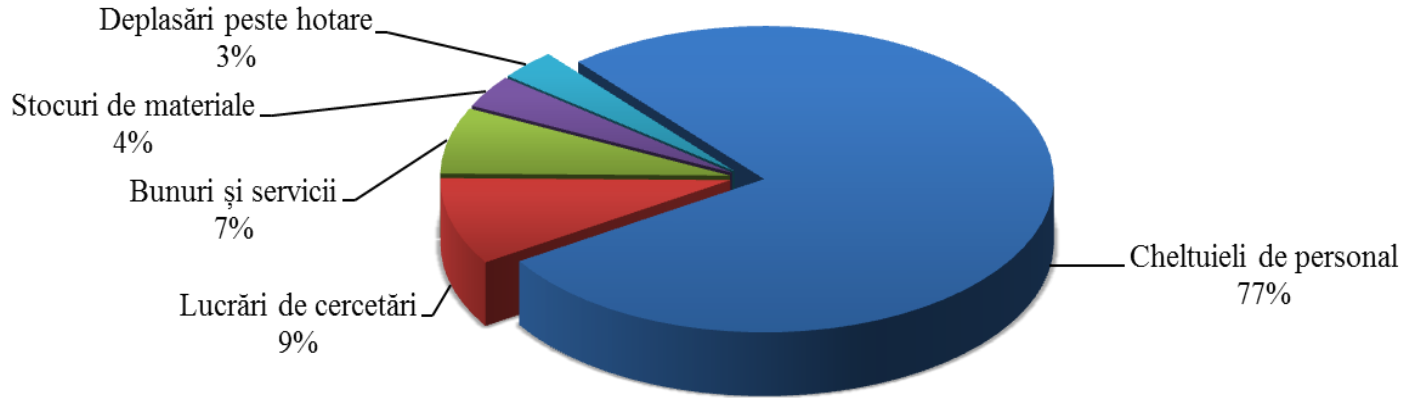
1. **Șestacova Tatiana** *“Controlul genetico-molecular al rezistenței florii-soarelui la mana (Plasmopara halstedii F. Berl et de Toni)”* **2015**
2. **Martea Rodica** *“Variabilitatea genetico-moleculară la genotipurile de Salvia sclarea L.”* **2016**

RESURSE FINANCIARE, 2016

Alocații BUGETARE – 1154,6 mii lei

cercetări fundamentale

75%



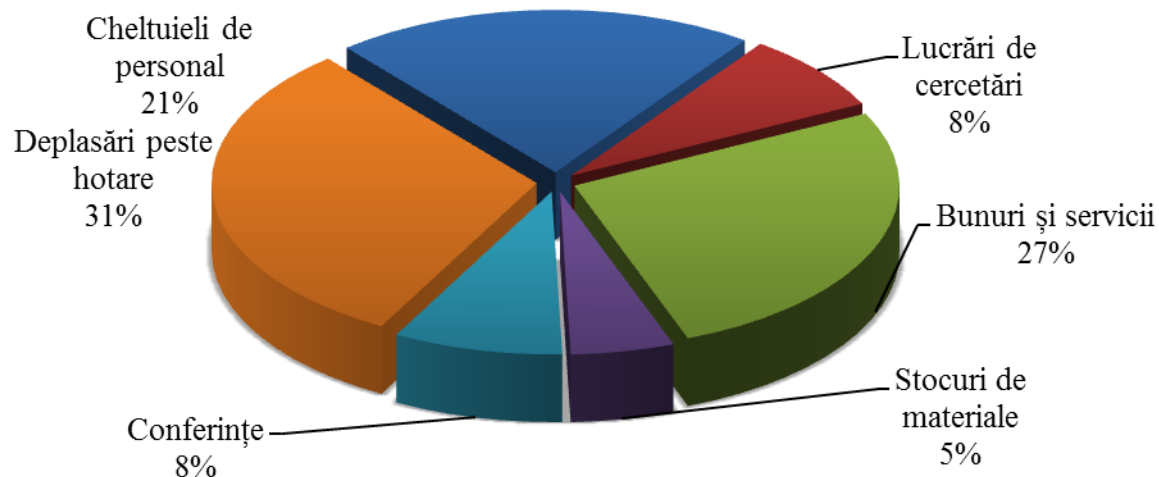
Alocații EXTRABUGETARE – 380,4 mii lei

135,0 – proiecte bilaterale

150,0 – grant internațional

95,4 – venituri colectate

25%



PROIECTE DE CERCETARE REALIZATE ÎN 2016

CERCETĂRI FUNDAMENTALE

Direcția strategică: Biotehnologie

15.817.05.03F. Rezistența florii – soarelui (*Helianthus annuus* L.) la lupoaie (*Orobanche cumana* Wallr.): mecanisme genetico-moleculare și fiziologice

Conducător științific: acad. Duca Maria

1254,6 mii lei

instituțional

CERCETĂRI APLICATIVE

Direcția strategică: Biotehnologie

16.80013.5107.20/Ro. Evaluarea unor hibrizi de floarea soarelui, privind rezistența la stresul hidric și termic, în România și Republica Moldova

Conducător științific: acad. Duca Maria

60,0 mii lei

bilateral,
moldo-român

Direcția strategică: Sănătate și biomedicină

15.820.1804.10/B. Screening-ul proteinelor alergene, prin metode proteomice și genomice, în soiurile de mere create în Belarus și Republica Moldova

Conducător științific: dr. Port Angela

75,0 mii lei

bilateral,
moldo-belorus

GENOMICA FUNCȚIONALĂ MULTIDISCIPLINARĂ PENTRU PROCESE BIOLOGICE DE BAZĂ

**G
E
N
O
M
I
C
A**

IDENTIFICAREA GENELOR

INTERACȚIUNEA GENELOR

EXPRESIA GENELOR

PCR

RT-PCR

RAPD-PCR

MARKERI SSR

ANALIZĂ HIBRODOLOGICĂ

ELECTROFOREZA PROTEINELOR

ANALIZA MORFOFENOTIPICĂ

PROTEOMICA

METABOLOMICA

CARACTER AGRONOMIC

BIOCHIMIE

GENETICĂ CLASICĂ

GENETICĂ MOLECULARĂ

FIZIOLOGIE VEGETALĂ

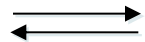
BIOINFORMATICA

METODOLOGIA CERCETĂRILOR

ASPECT
FUNDAMENTAL

METABOLISM

Nucleu



Citoplasmă

Proteine

FT

Factori de creștere,
stres biotic și abiotic

Procese redox,
fosforilare, transport etc.

FUNCȚIE

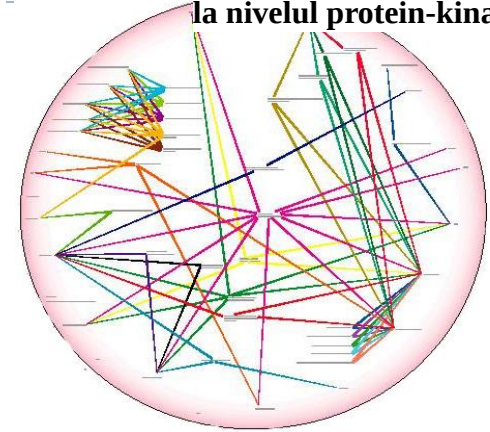


FENOTIP

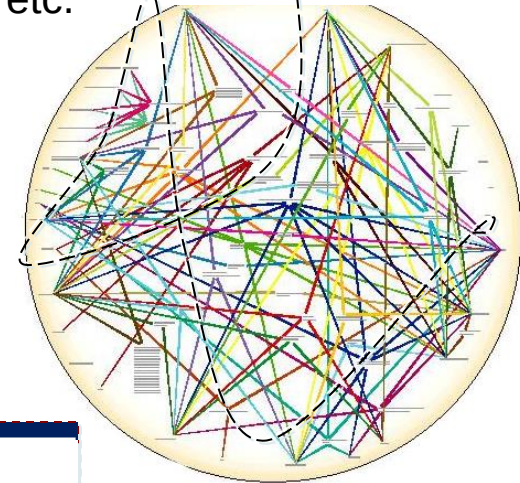
Ameliorarea caracterelor
cantitative și calitative

Rezistență, compoziție biochimică și dezvoltare
modificată

Conexiuni de semnalizare
la nivelul protein-kinazelor



Conexiuni de semnalizare la
nivelul FT



ASPECT
APLICATIV

Iraida Ciobanu
Floarea-soarelui



SUNFLOWER CULTIVATION IN RM



1845

First documentation about sunflower in RM.

1867

First evidence of oil production from sunflower seeds

19th

RM place regarding world sunflower seeds production.

17th

RM place regarding world sunflower oil export.

65%

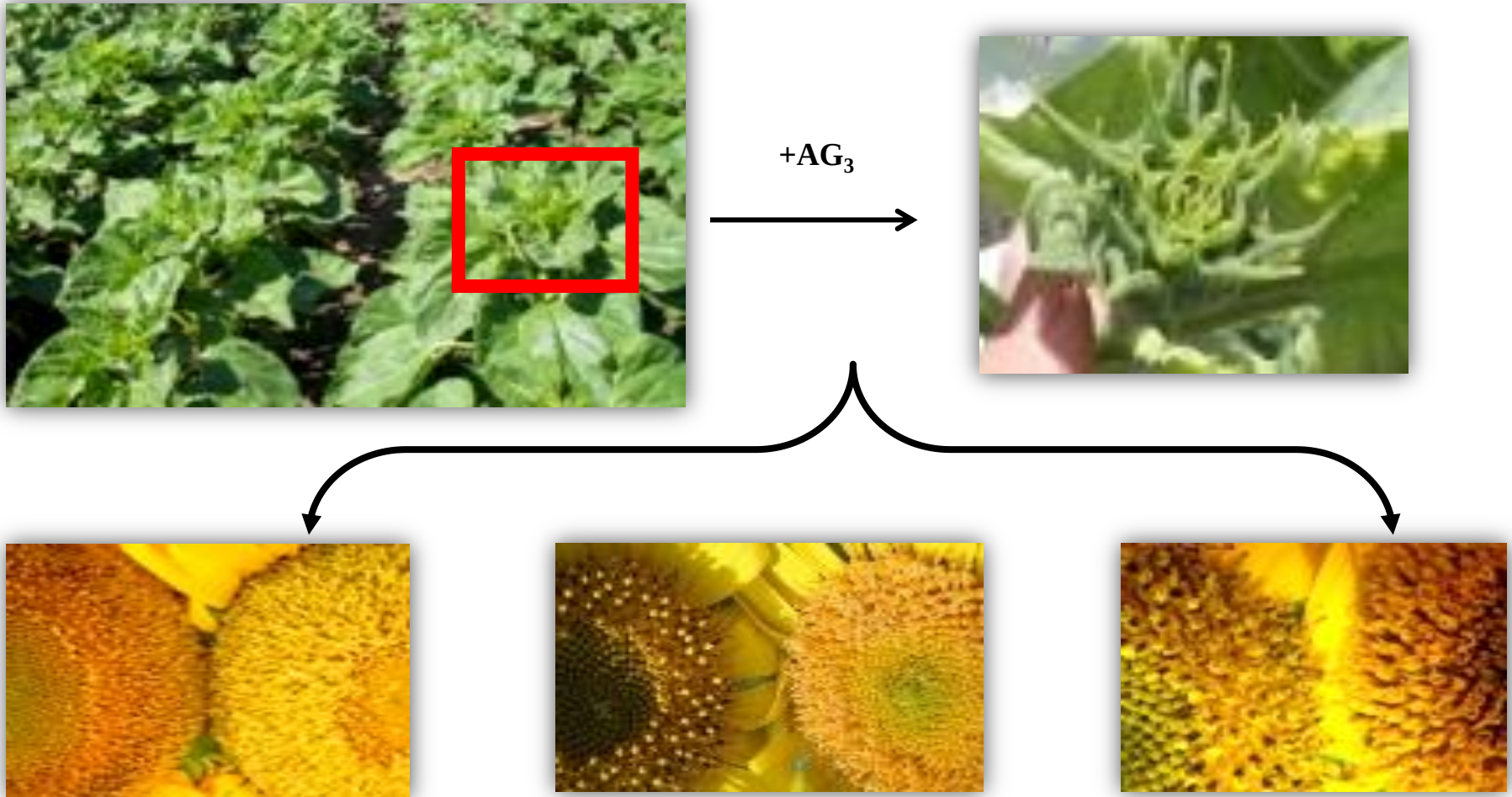
Total agricultural land

3th

Place after wheat and corn

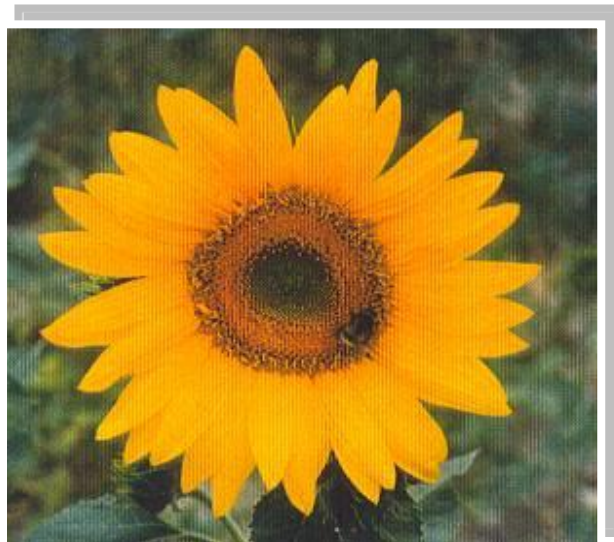
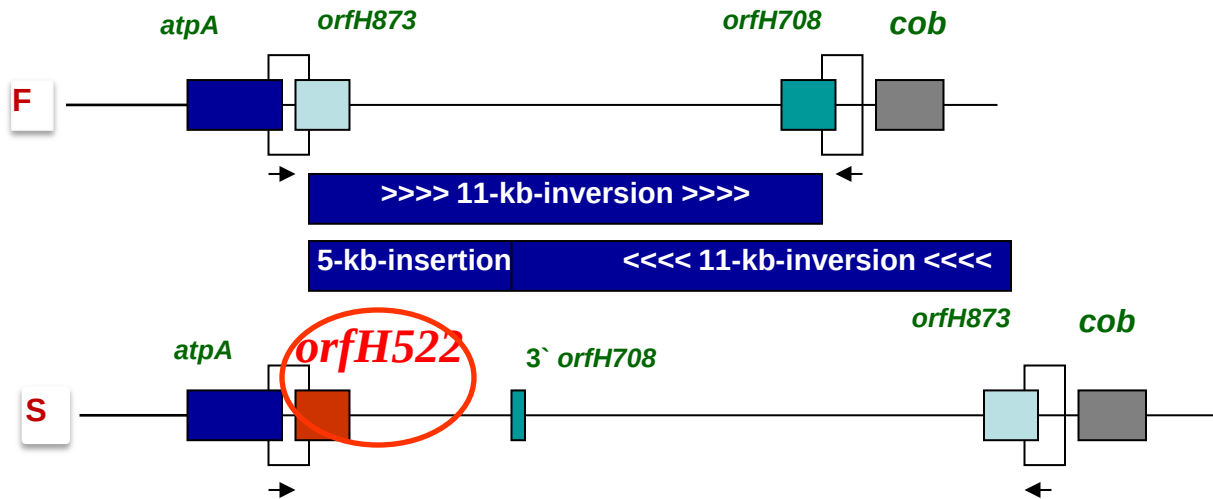
SISTEME GENETICE MODEL

ASC-Rf și *ASI-AG₃*



Fenotipul plantelor fertile , cu androsterilitate citoplasmatică și androsterilitate indusă de giberelină

SISTEMUL MODEL ASC – *Rf*

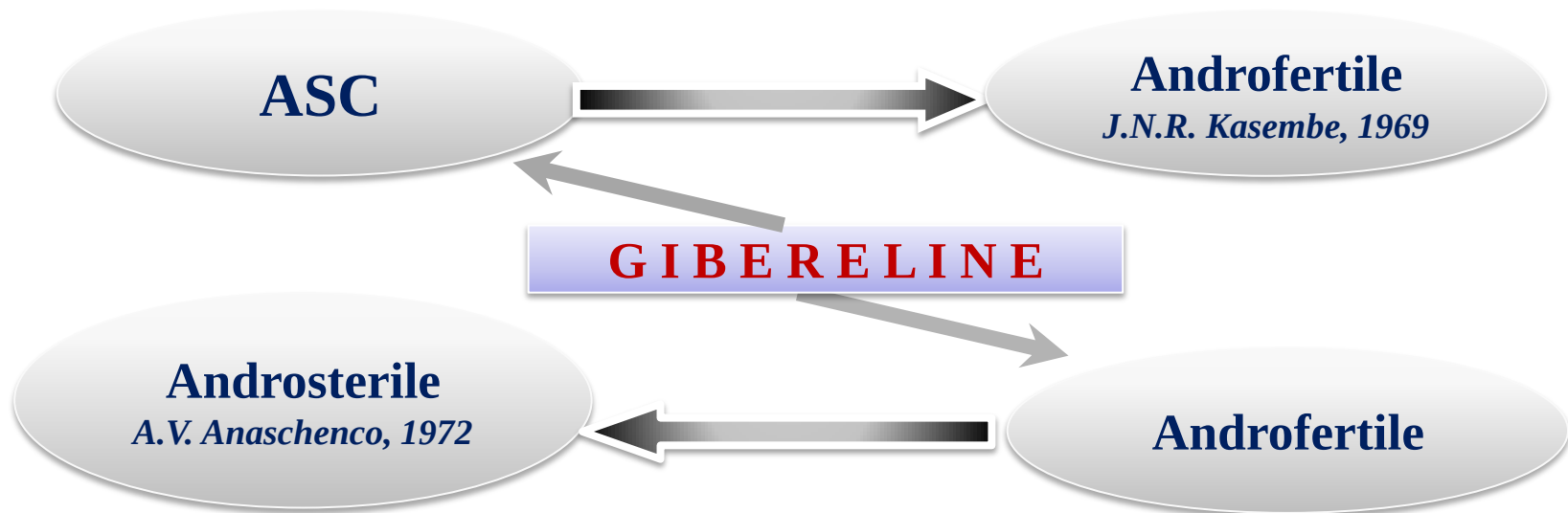


Rf – Gena nucleară reastauratoare
de androfertilitate
în genotipurile cu ASC.

La floarea-soarelui genele restauratoare
au fost identificate în *H. petiolaris* Nutt.
de către M. L. Kinman în 1970.

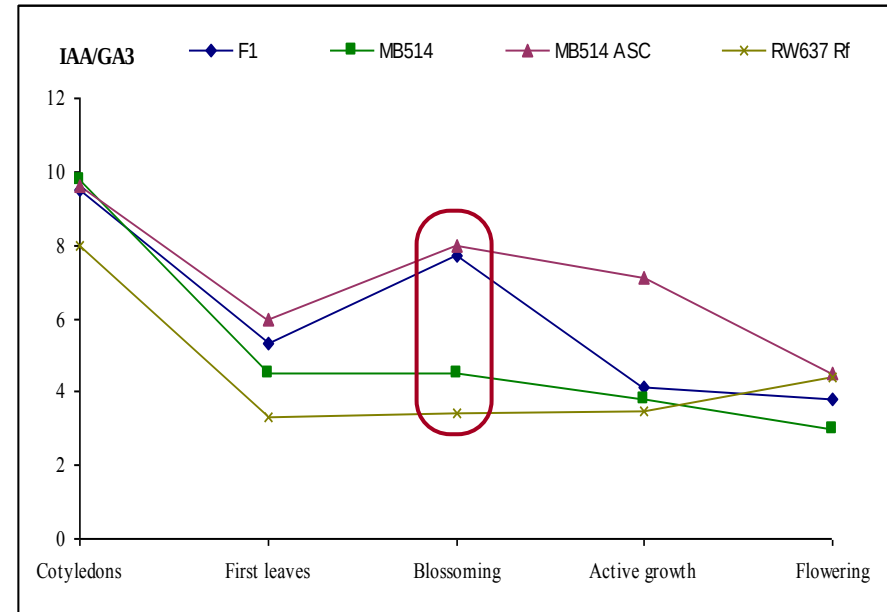
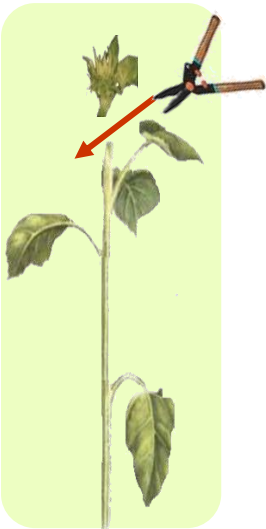
Ulterior ele au fost descoperite și în alte
specii din flora spontană.

SISTEMUL MODEL ASC-ASI

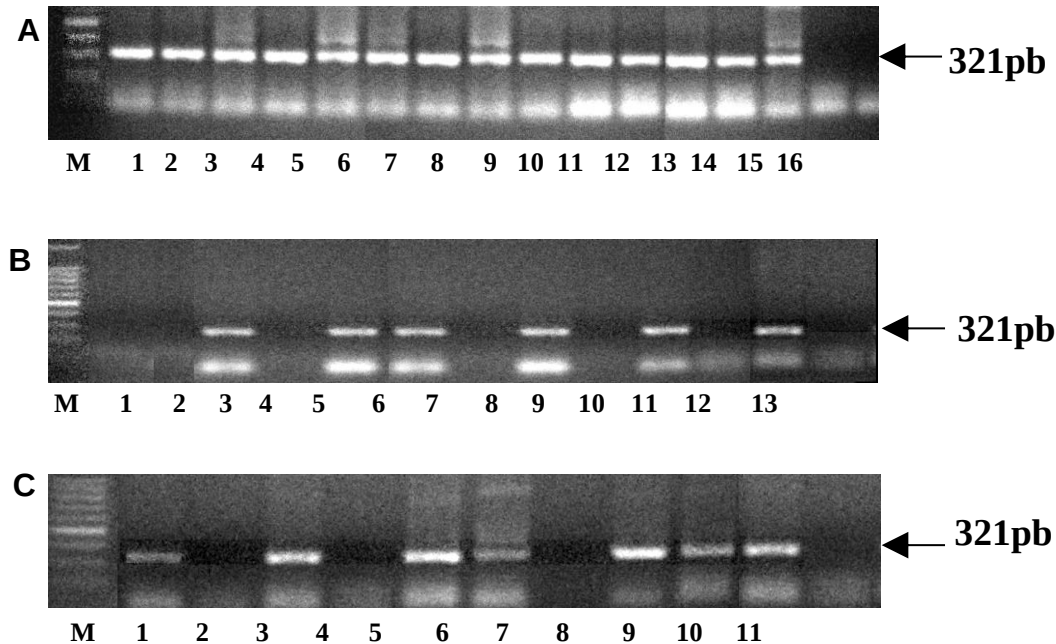
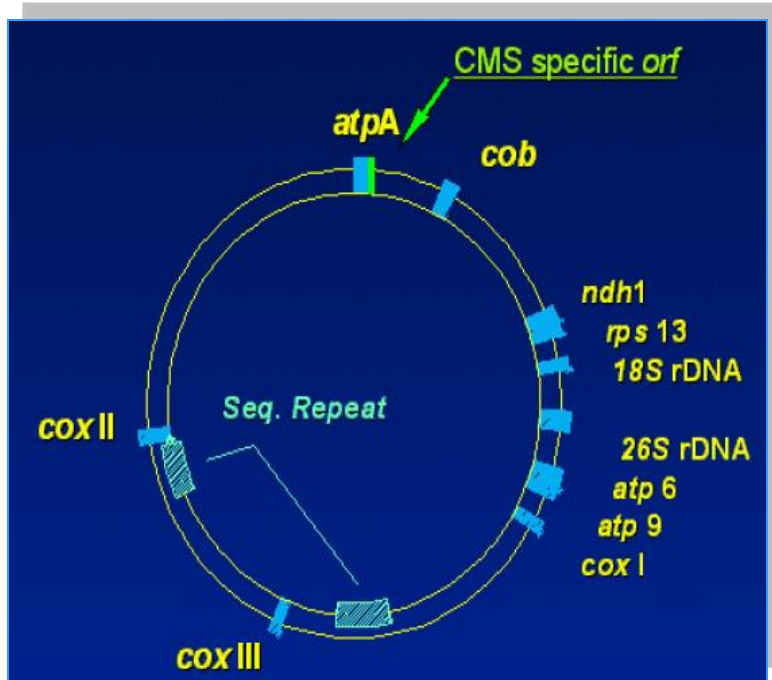


GA_3

Sterilă Fertilă



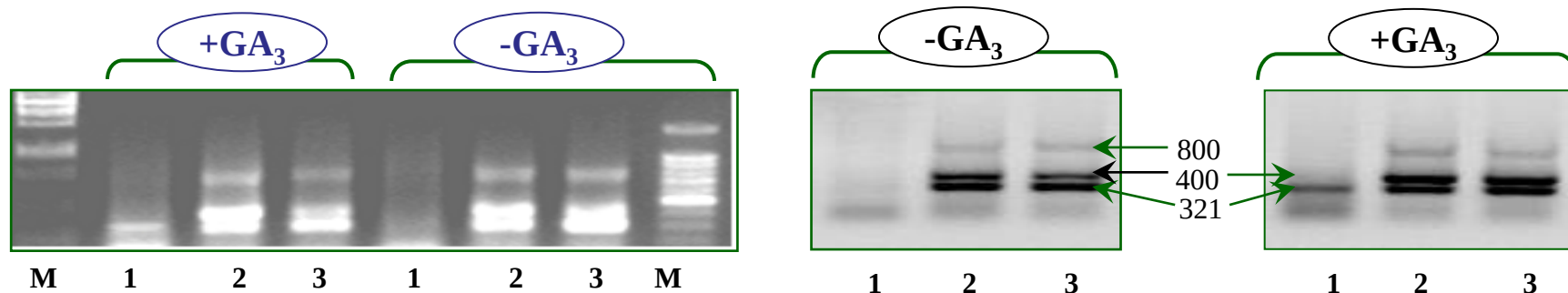
IDENTIFICAREA GENELOR ASC



A. 1-14 – forma ♀; 15 - Xenia F₁; 16 – forma ♂;
 B. 1-11 – forma ♀; 12 - Drofa F₁; 13 – forma ♂;
 C. 1-9 - forma ♀; 10 - Valentino F₁; 11 - forma ♂

- A FOST IDENTIFICATĂ GENA ANDROSTERILITĂȚII
- METODA DE DETERMINARE A GRADULUI DE STERILITATE

IDENTIFICAREA UNUI NOU CADRU DE CITIRE LA APLICAREA EXOGENĂ A GIBERELINELOR



1 - SW501

2 – SW501ASC

3 – Sambred

**GIBERELINELE
APPLICATE EXOGEN
INDUC SINTEZA
TRANSCRIPTILOR
IDENTICI CELOR
IMPLICAȚI ÎN
ANDROSTERILITATEA
CITOPLASMATICĂ**

Gena orf H 522 la linia SW501 ASC cu primerul sens

CTNGGGGGTGGGTGTGCAACCCCTACGCAAGGGACGGATCCCGCGCTCGGGCTAAAATTTCAAGAACGAGTTGCCGG
AGTAAACTCACGGCTGCGGTTGCAGTGTCTTAGACACAGGGACTTTCTTTCTATTGGGTCATCGCCGGATCCACCA
GGGAGGGGAGAATGCTTTGAGCATTGGACCAGAAATACTTCGGCCTTTATAGGGCGTGATCTGTTCCATAAACACG
GAACAGGCTACTAATATCAAAAAATAAAAAAGACAGAAAAAGAGGAGTGCGCCACACGTCGNAAGGCNTCNCNCTG
CNATTCTGGA

Gena orf H 522 la linia SW501 ASC cu primerul antisens

NGGNNNTATNTNACAGATGCNTGACTNGNTAAATTANCANTATNTANACANGTTCGTANCTGGTTTATGCGCTTTTNT
NCTTGANGGCAGTCNCCTCCCCCTNCCTGGGTGGATCCGGCGATGACCCAAATAGAAAGAAAGTCCCTGTGTCTAAGG
ACACTGCAACCGCAGCCGTGAGTTTACTCCGGCAACTCGTTCTTGAAATTTANCCCGAGCGCGGGATCCGTCCTGTG
GTGAGGGTTTGACAACCCAACCAACCAAGCGTGGAATAGGGCCATCACCCTGCCATTCAAGATCCGGCAACTCGTT
CTTGAAATTTTAGCCCGAGCGCGGGATCCGTCCTTGCGTGAGGGTTTGACAACCCAACCAACCAAGCGTGGAATAGG
GCCATCACCCTGCCATTCAAGA

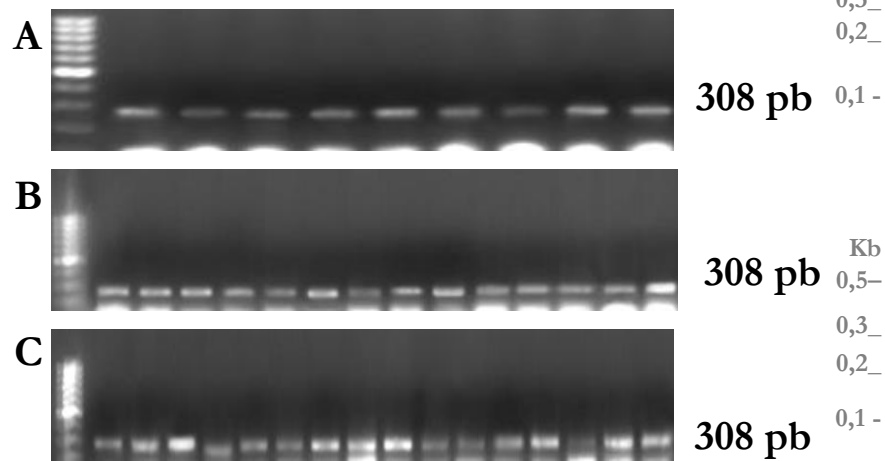
Gena orf H 522 la linia SW501 ASI cu primerul sens

CTNNCGTGGGGTGGNTGTGCAACCCCTCAGGCGAGGGACGGATCCCGCGCGTCGGGCNAAAATTTANCCANTTNAGT
TGNCGGAGNAAACTCANGGCTGNGGTTGNGGATGCCNTTANACACAGGGACTTTCTTTCTATTGGGTCATCGCCGG
ATCCACCAGGGAGGGGAGAATGCTTTGAGCNTTTGGACCANAAATACTTCGGCCTTTATAGGGCGTGATCTGTTCCA
TAAACACGGAACAGGCTACTAATATCAAAAAATAAAAAAGACCGAAAAAGAGAGTGCGCCACAAGTNGAAAAGGCNTA
ACCANAAAGATTGTGNNAANAAAGTGAATTTTCCNGTTNAGGNATNTTGATCANAGAATAANAGGATNTNCCCCCCC
NNCNCAAAAAAGGGCGCCCANAAANGTNAATCGNCTCANNGTNNCNAANNCTTTTTTGGGNGGGGGGAACC
ATNTCCNC

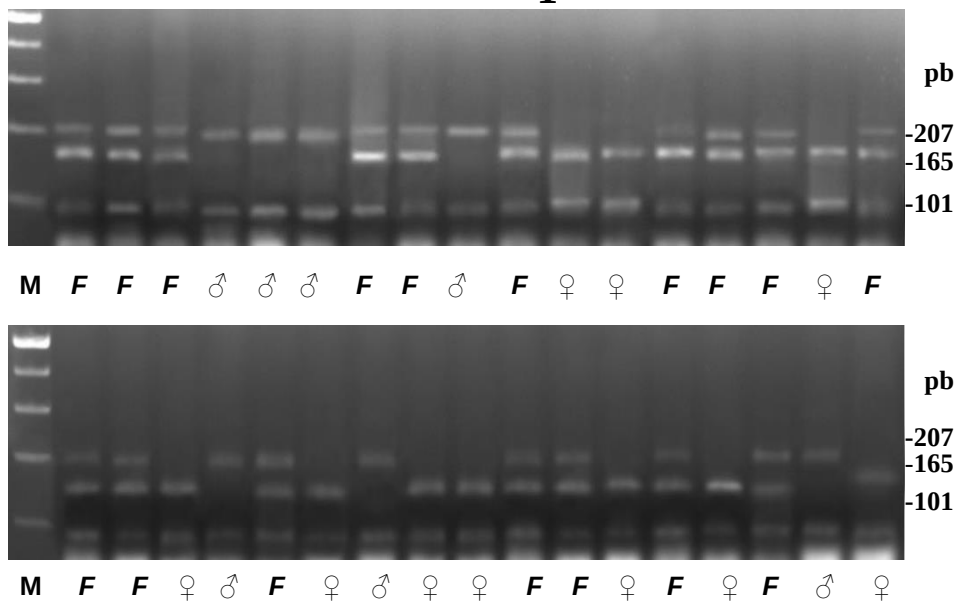
Gena orf H 522 la linia SW501 ASI cu primerul antisens

NTTTGATAGNGCCTGTTCTGTGTTATGGAACAGATCACGCCCTATAAAGGCCGAAGTATTTCTGGTCCAAATGCTCAA
AGCATTCTCCCCCTCCCTGGTGATCCGGCGATGACCCAAATAGAAAGAAAGTCCCTGTGTCTAAGGACACTGCAAC
CGCAGCCGTGAGTTTACTCCGGCAACTCGTTCTTGAAATTTTAGCCCGAGCGCGGGATCCGTCCTTGCGTGAGGGTT
TGCACAACCCAACCAACCAAGCGTGGAATAGGGCCATCACCCTGCCATTCAAGAAA

SEGREGAREA MOLECULARĂ A GENELOR Rf₁ ÎN ASC PET 1



Electroforeza produsului de amplificare cu primerul H 13 la liniile materne (A), paterne (B), formele hibride F₁ (C)



Produsele de digestie enzimatică la genotipul Drofa F₂
M- marker molecular; ♀- *rf1rf1* ; ♂- *Rf1Rf1*; F- *Rf1rf1*

METODA DE DETERMINARE A GRADULUI DE HIBRIDARE

Genotipul și diverse generații	Numărul de indivizi	Genotipuri conform analizei CAPS			Raportul teoretic așteptat	valoarea χ^2
		<i>RfRf</i>	<i>Rfrf</i>	<i>rf¹rf</i>		
combinăția hibridă Drofa						
F ₂	34	7	17	10	1:2:1	0,53 (2 DF)
BC ₁	17		8	9	1:1	0,06 (1 DF)
combinăția hibridă Valentino						
F ₂	34	9	18	7	1:2:1	0,35 (2 DF)
BC ₁	17		9	8	1:1	0,06 (1 DF)
combinăția hibridă Xenia						
F ₂	34	7	16	11	1:2:1	1,06 (2 DF)
BC ₁	17		9	8	1:1	0,06 (1 DF)

RESTAURAREA ANDROFERTILITĂȚII LA HIBRIDII DE FLOAREA-SOARELUI PE BAZĂ DE ASC

Indexul liniei	Generație	Segregare fertile : sterile		χ^2	Numărul de gene	Tip de interacțiune	Număr de familii
		real	teoretic				
SI 3376-3	F ₁	57:64	1:1	0,52	1	-	11
	F ₂	31:10	3.1	0,02			
	F _B	125:18	1:1	1,12			
SI 2986-2	F ₁	78:0	-	-	2	Polimerie necumulativă	12
	F _B	45:15	3:1	0:00			
	F ₂	30:5	15.1	2,98			
VIR 199	F ₁	80:0	-	-	2	Interacțiune complementară	4
	F ₂	19:18	9:7	0,23			
	F _B	13:30	1:3	0,60			
K 2288-287	F ₁	65:0	-	-	2	Polimerie cumulativă	8
	F _B	13:24:17	1:2:2	1,09			
	F ₂	26:18:3 ^x	9:6:1	0,36			
VIR 160-352	F ₁	62:8	7:1	0,06	3	Polimerie necumulativă	3

$$\chi^2_{0,05} = 3,84$$

MOȘTENIREA ȘI INTERACȚIUNEA GENELOR NUCLEARE Rf

	RfRf	SL 2986-2	SL 3372-1	RHA- 282-3	RHA- 265-1	f 4151-1	p 6175-1	Progres- 290	VIR 200-429	Progres- 161-4	<u>Incrucisări</u>
		1	p	p	p	p	p	1	p	p	F _a
SL 3376-3	p			68:0 15:0	1:0 8:9	55:0 56:0	57:17 70:9	46:3 135:31			ASC _p ASC ₁
RHA 274-2	p	35:45					341:9	59:49			ASC _p ASC ₁
p 6175-1	p	158:153								177:0	ASC _p ASC ₁
Progres 290	1	0:17 27:0					97:73				ASC _p ASC ₁
VIR 199-1	p	75:69 16:0		20:0 30:0		27:10 25:6			70:0 75:0		ASC _p ASC ₁
VIR 160-1	p				76:28	96:38					ASC _p ASC ₁
VIR 130-1	1	0:15 40:0	95:107		14:17		108:105		37:29 51:20	101:97	ASC _p ASC ₁

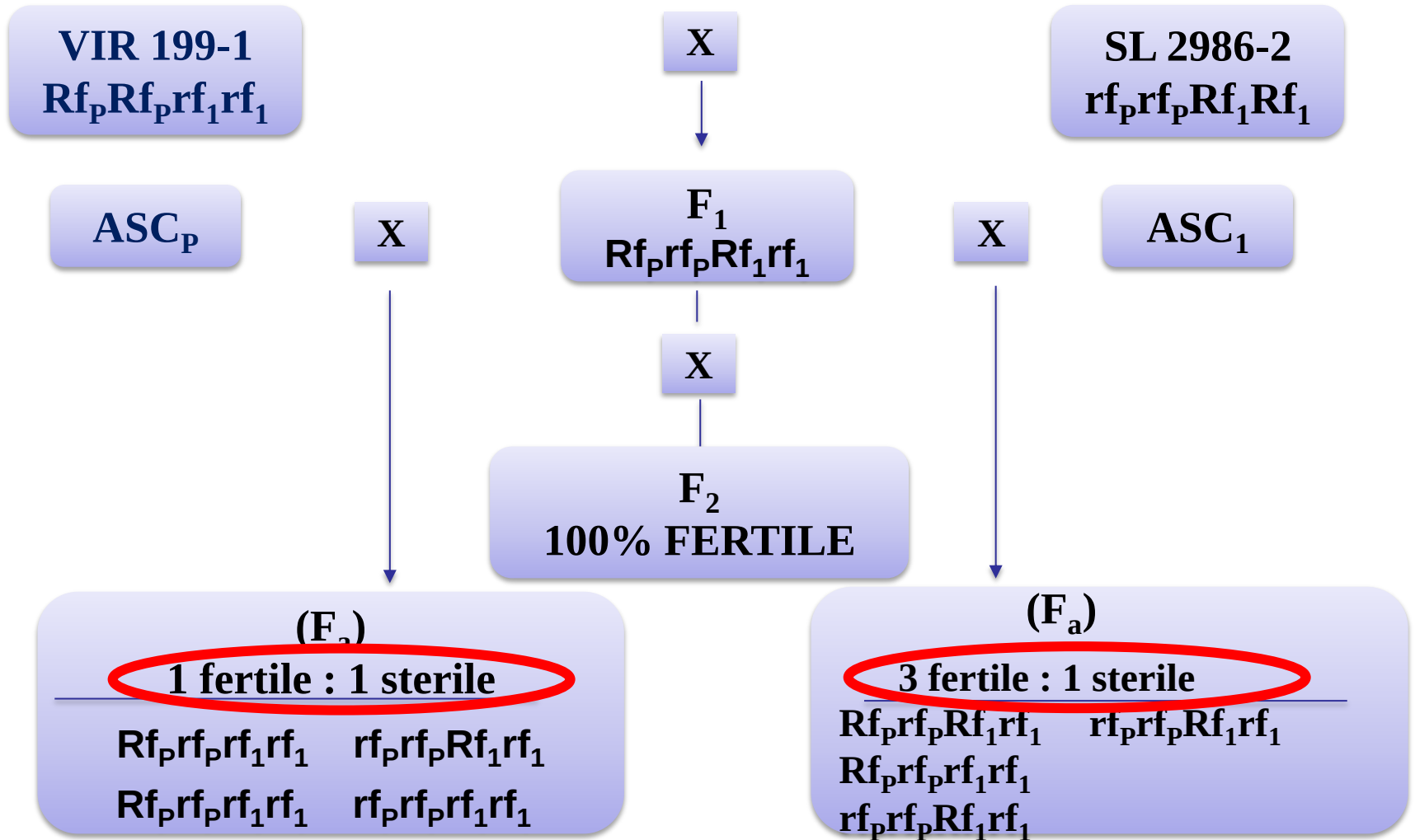
Rf_1 - Horn R., 2002

Rf_2 - Horn R., 2003

Rf_3 - Jan C.C., 2007

Rf_4 - Feng J., 2008

IDENTIFICAREA GENEI Rf_1 în ASC_1



A FOST IDENTIFICATĂ O GENĂ NOUĂ Rf_1

IDENTIFICAREA ȘI TIPIZAREA SURSELOR DE ASC

A1813
ASC₁

X

VIR200-328
Rf_pRf_pRf₁Rf₁

ASC_p

X

F₁
ASC₁
Rf_prf_pRf₁rf₁

X

ASC₁

Fa
33:35

1 : 1

1 Rf_prf_pRf₁rf₁ 1rf_prf_pRf₁rf₁
1 Rf_prf_pRf₁rf₁ 1rf_prf_pRf₁rf₁

X

Fa
32:10

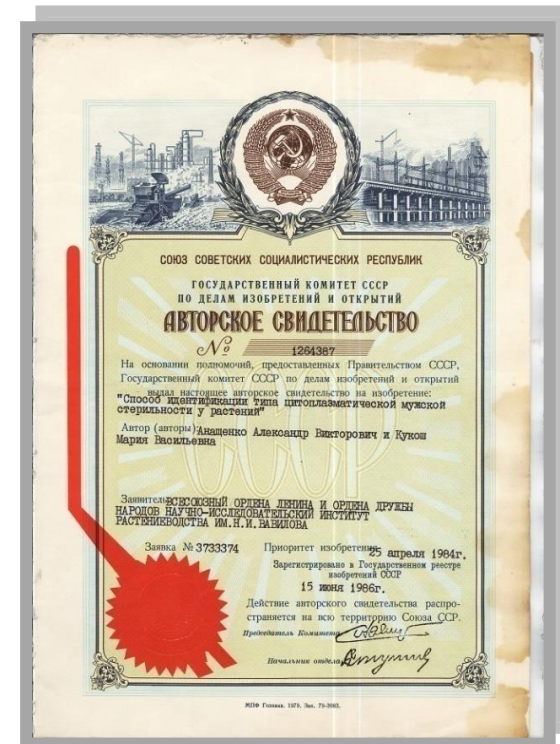
3 : 1

1 Rf_prf_pRf₁rf₁
1 Rf_prf_pRf₁rf₁
1 rf_prf_pRf₁rf₁ 1rf_prf_pRf₁rf₁

F₂
44:5
15 : 1

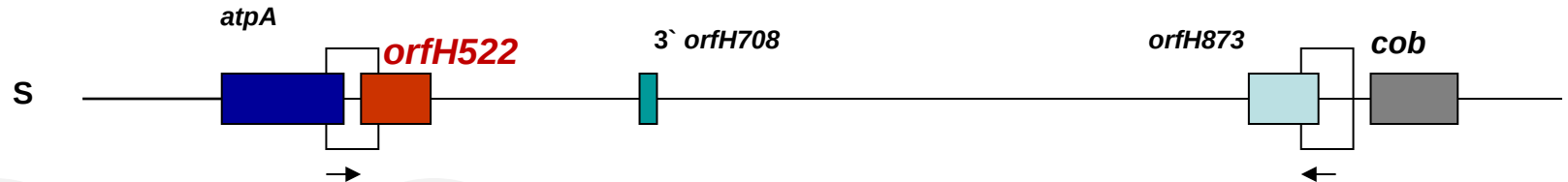
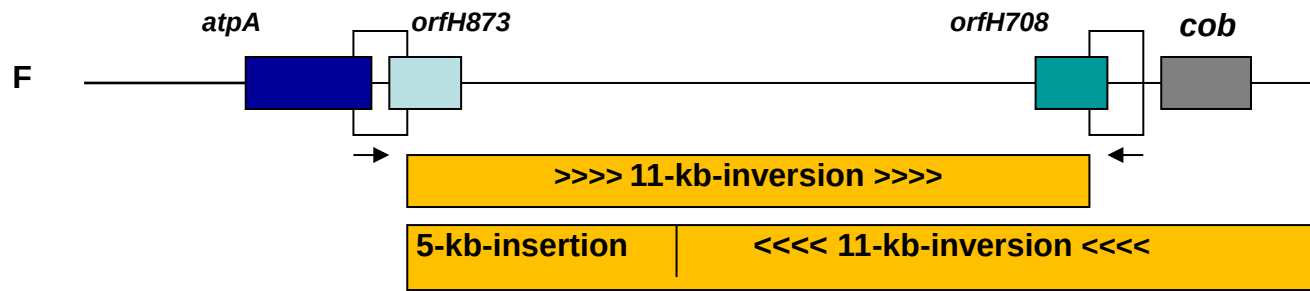
9 Rf_p- Rf₁-
3 Rf_p- rf₁rf₁
3 rf_prf_pRf₁-

1rf_prf_pRf₁rf₁



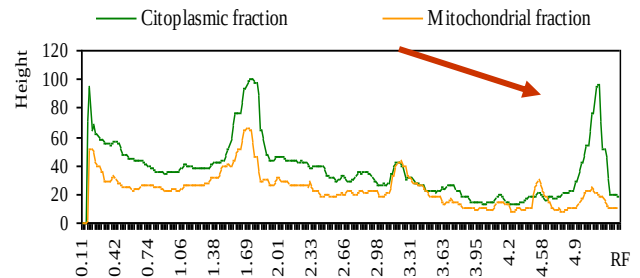
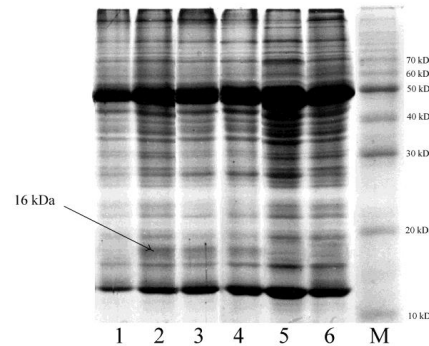
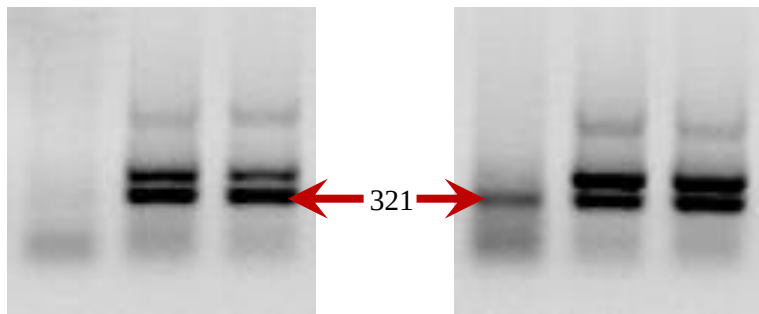
Eleonora Romanescu
Casa bătrânească, 1978





-GA₃

+GA₃



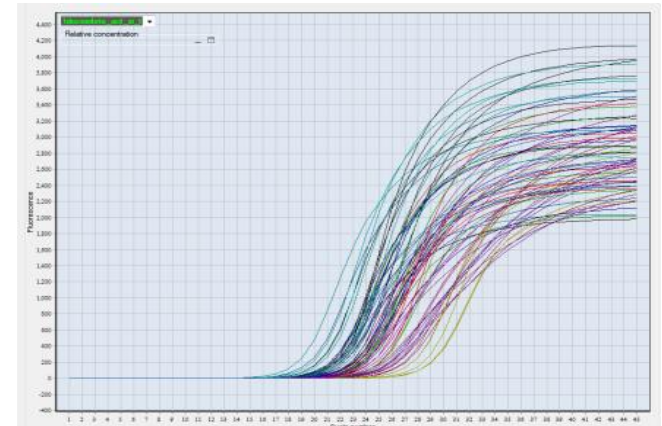
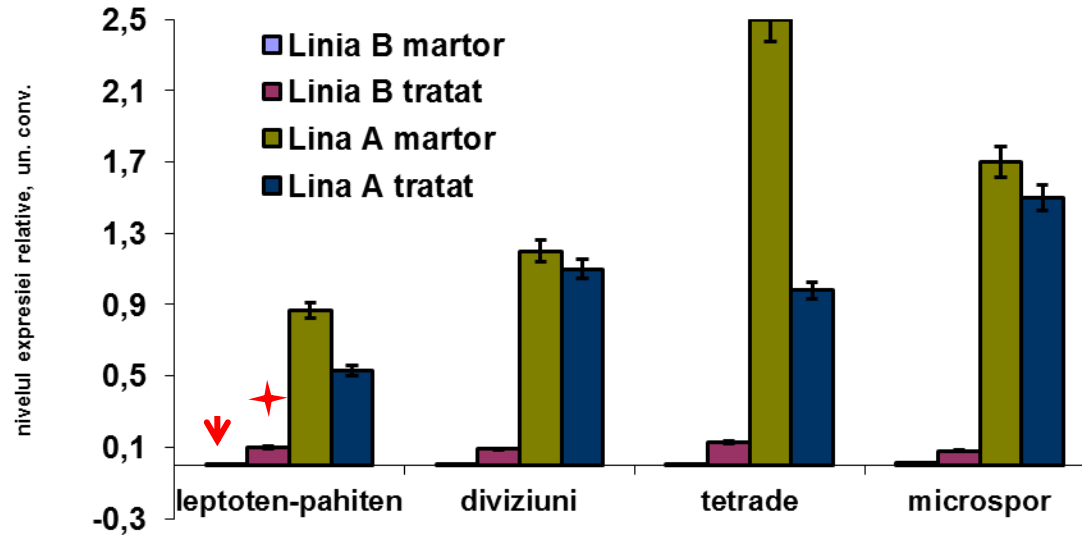
ACTIVEAZĂ O ZONĂ
REARANJATĂ, DEJA
EXISTENTĂ ÎN
GENOMUL MITOCONDRIAL

?

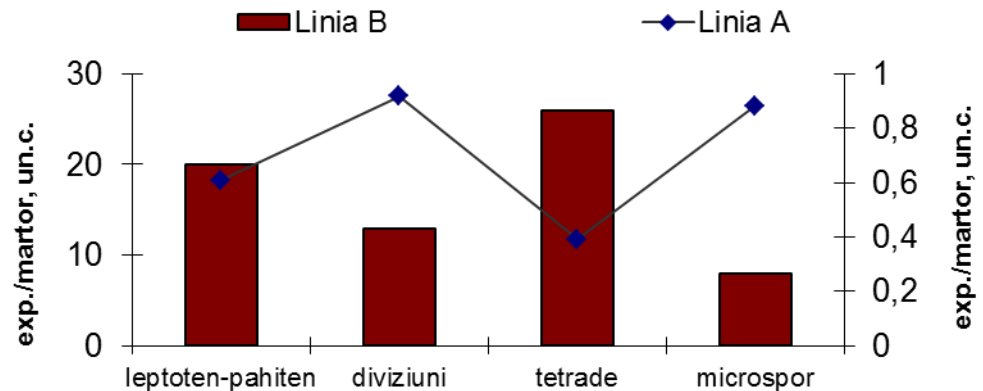
REORGANIZEAZĂ GENOMUL
MITOCONDRIAL CONTRIBUIND
LA APARIȚIA UNUI
NOU CADRU DE CITIRE

TRANSDUCEREA SEMNALELOR DE AG₃

NIVELUL DE EXPRESIE A GENEI *orfH522* LA DIVERSE LINII IZOGENE

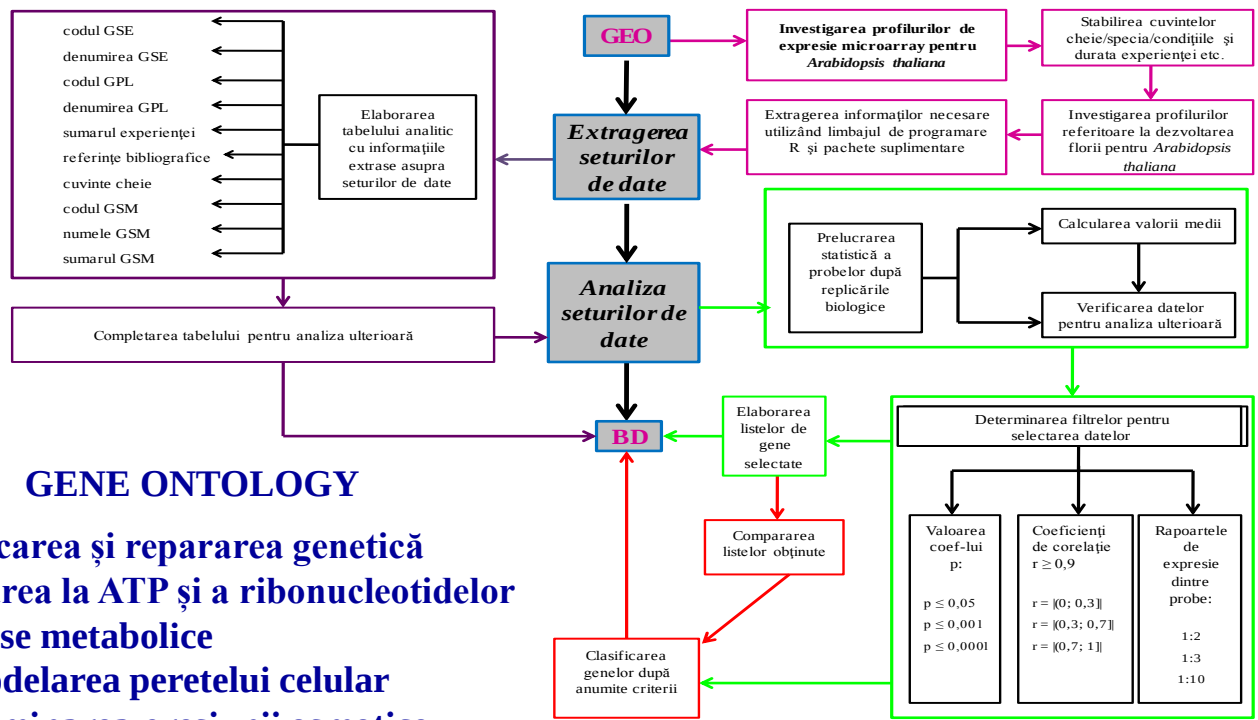
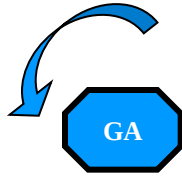


GA₃ induce expresia genei *orfH522* asociată cu ASC la plantele liniei fertile, fapt ce demonstrează similaritatea funcțională la nivel molecular între ASC și ASI-GA₃



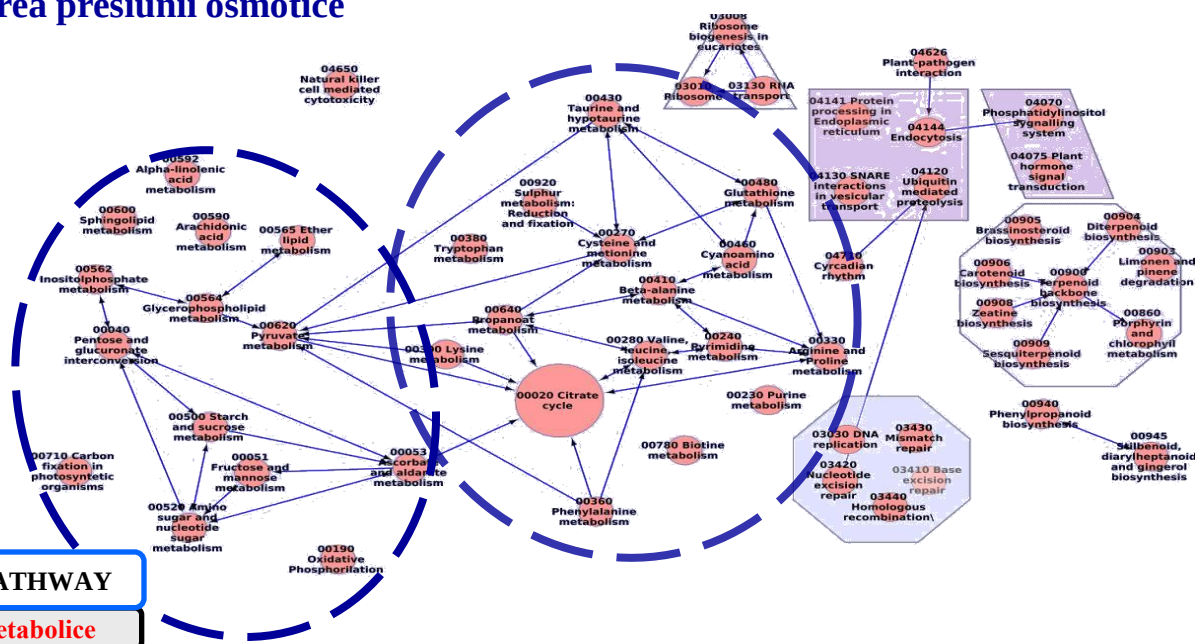
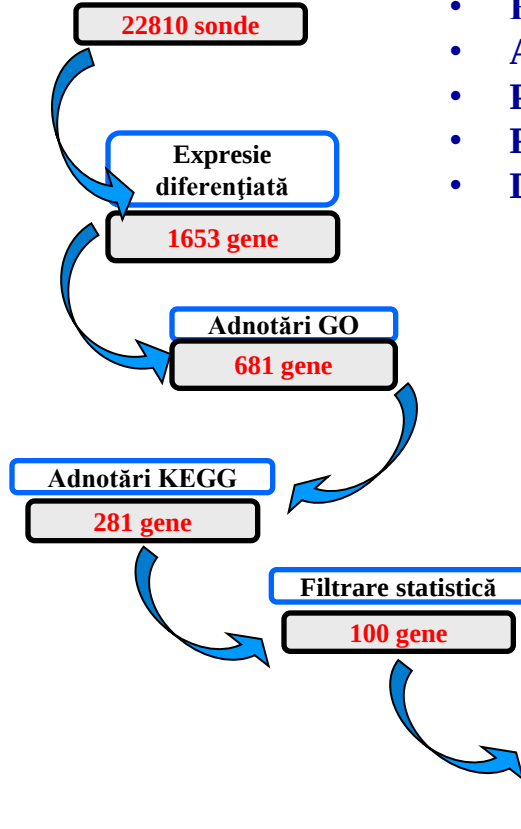
ANALIZA MICROARRAY

- 27 gene expresie ↑
- 80 gene expresie ↓
- 70% - ABA, MJ, AUX și ET

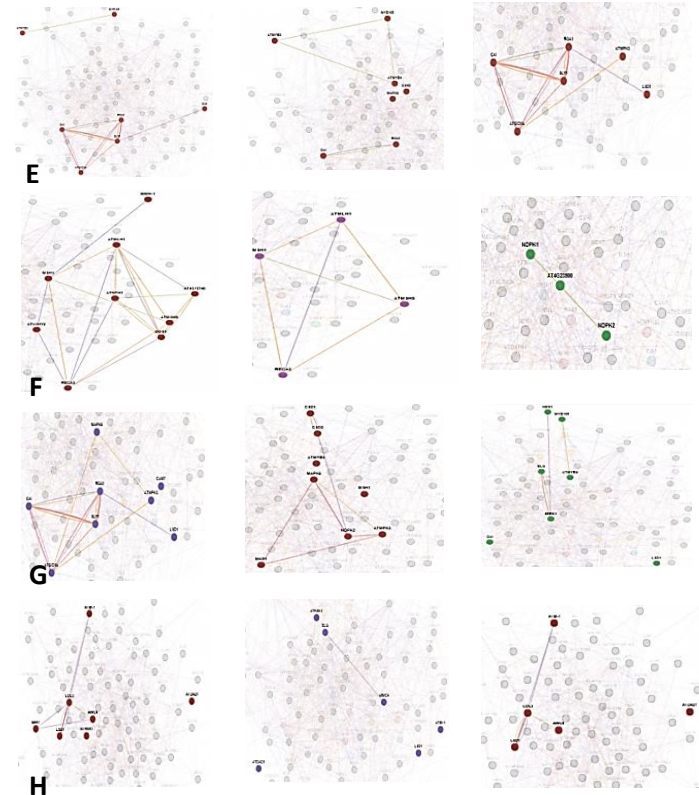
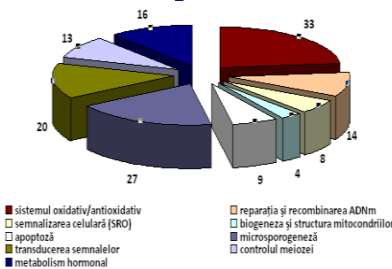
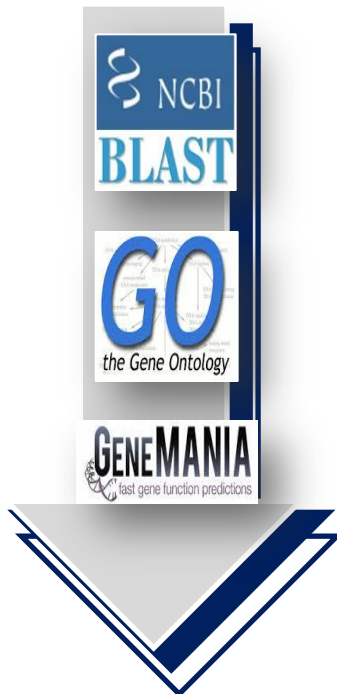
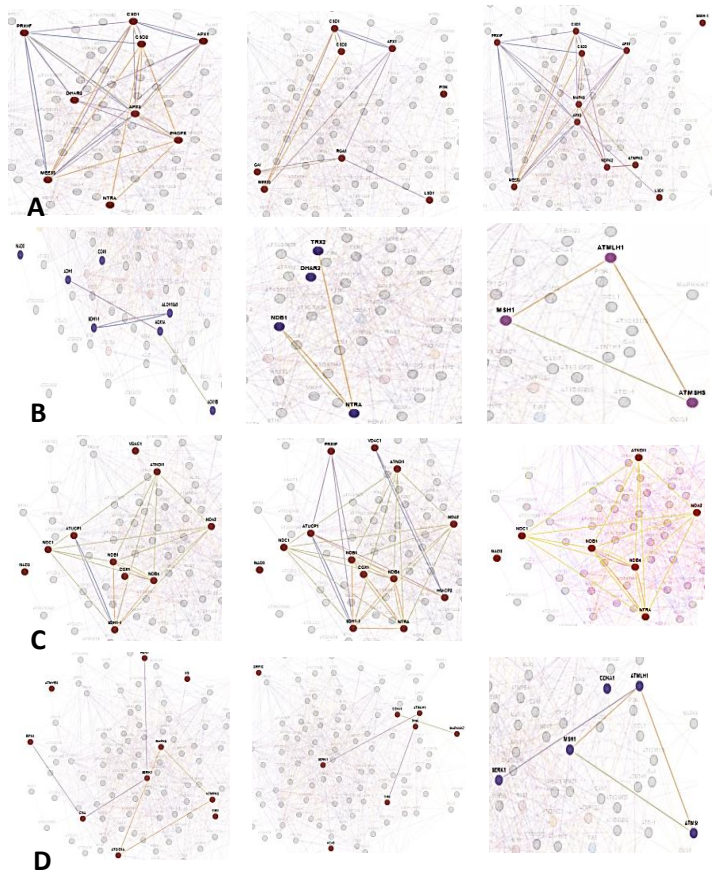


GENE ONTOLOGY

- Replicarea și repararea genetică
- Atașarea la ATP și a ribonucleotidelor
- Procese metabolice
- Remodelarea peretelui celular
- Determinarea presiunii osmotice



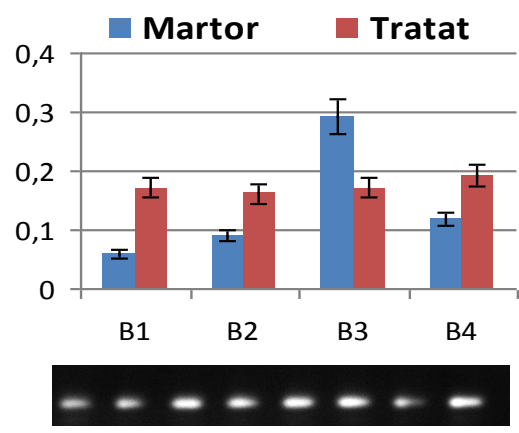
SEMNALIZAREA CELULARĂ MITOCONDRII – NUCLEU



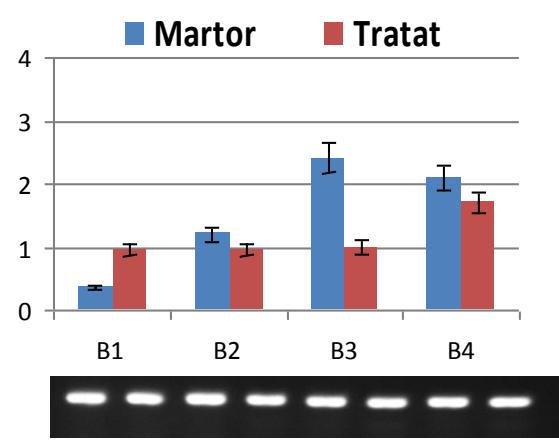
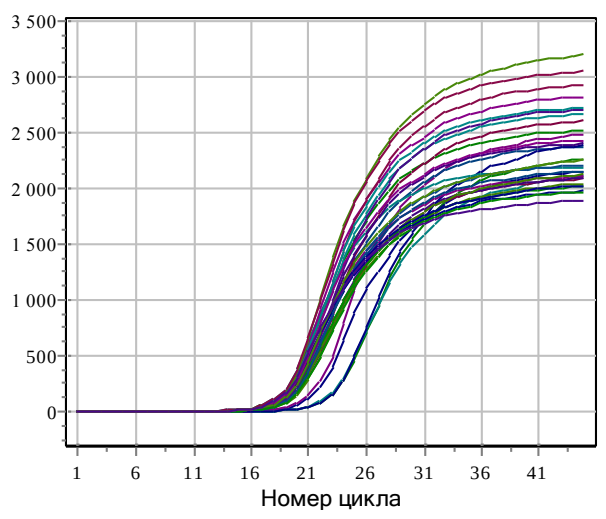
A - metabolismul SRO
B - metabolismul energetic
C - activitatea și biogeneza mitocondriilor
D - dezvoltarea organelor reproductive, meioza

E - căile de semnalizare a AG și AJ
F - procese de reparație și recombinaire a ADN-lui
G - semnalizare și transducția semnalelor
H - apoptoză

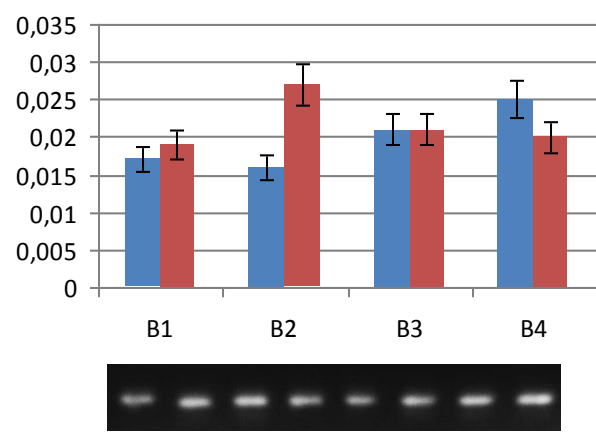
NIVELUL DE EXPRESIE A GENELOR LA PLANTELE CU ASI



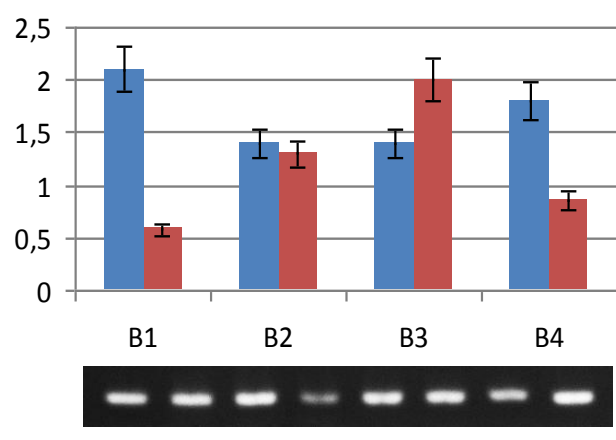
Gena EXP, GE514022.1



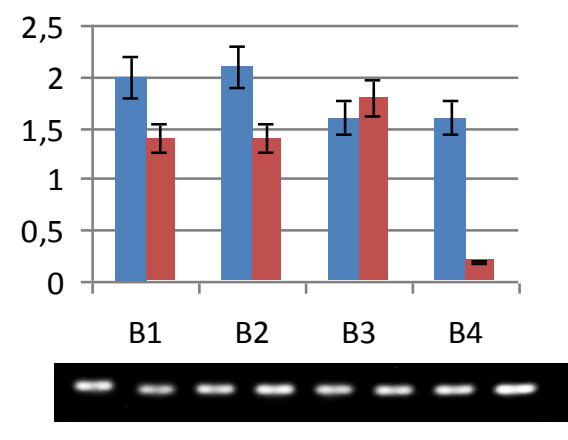
Gena H1, CD856124.1



Gena DYAD, GE489553.1



Gena ASK2, D849086.1

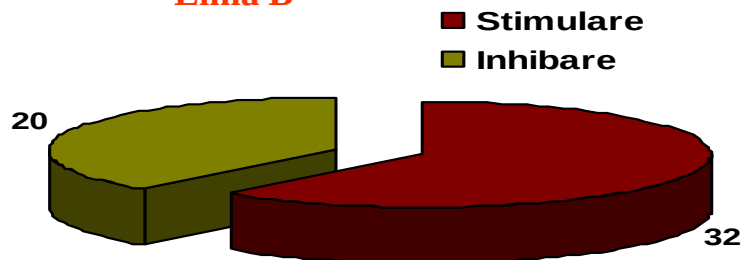


Gena MEE 58, GE489951.1

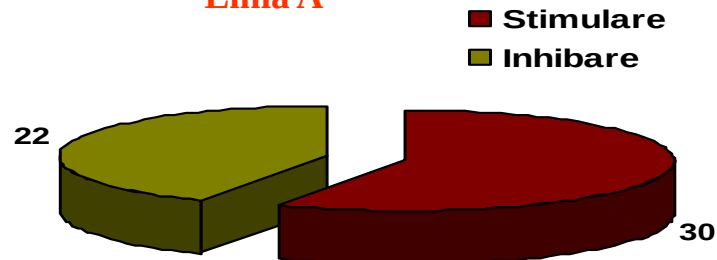
B1- microspor; B2 – tetrade; B3 – diviziuni; B4- leptoten-pahiten

EFECTUL AG₃ ASUPRA ACTIVITĂȚII A 13 GENE IMPLICATE ÎN MEIOZĂ

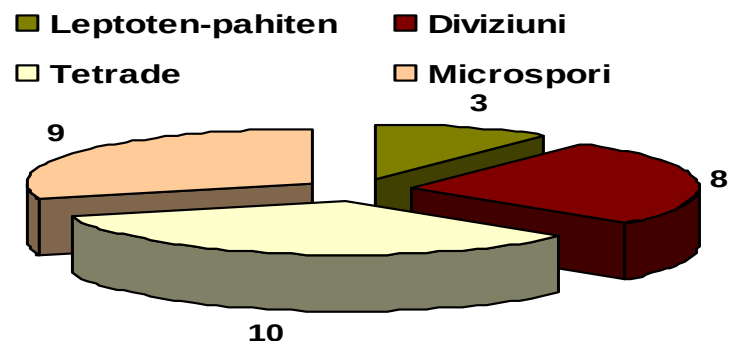
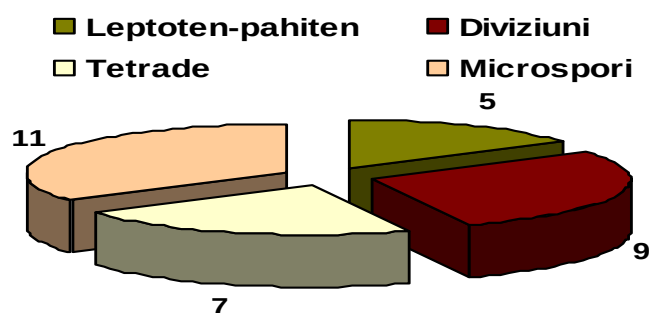
Linia B



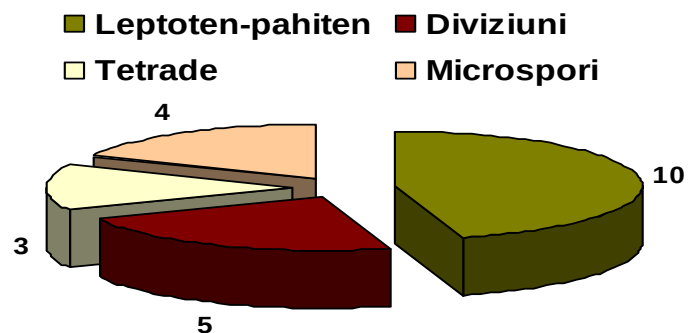
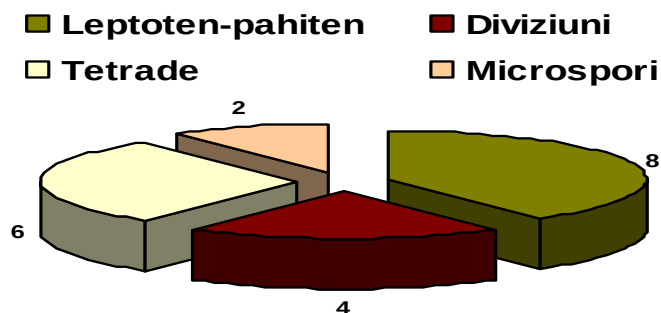
Linia A



Expresie stimulată față de martor



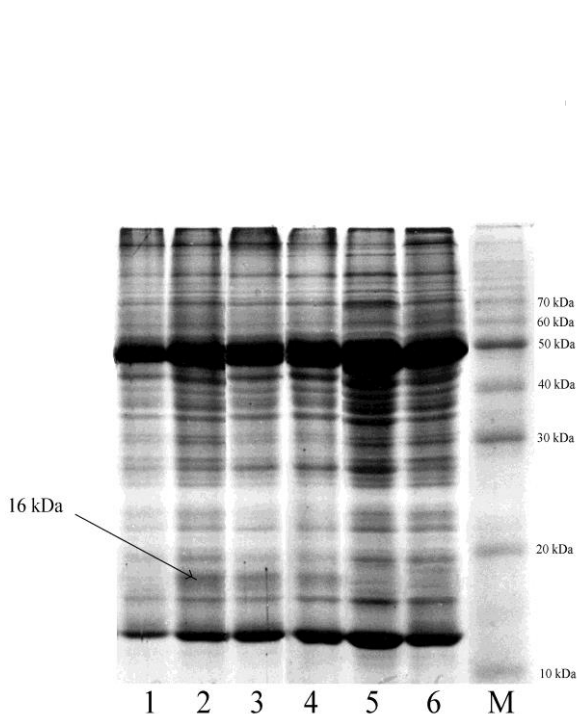
Expresie inhibată față de martor



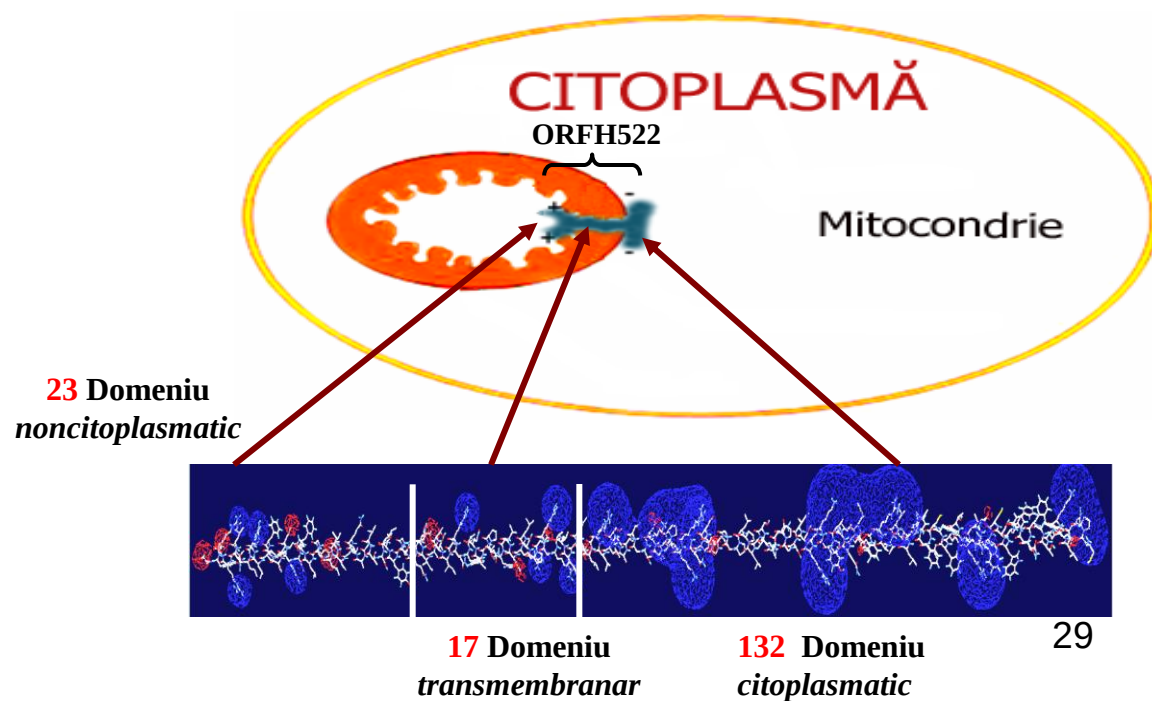
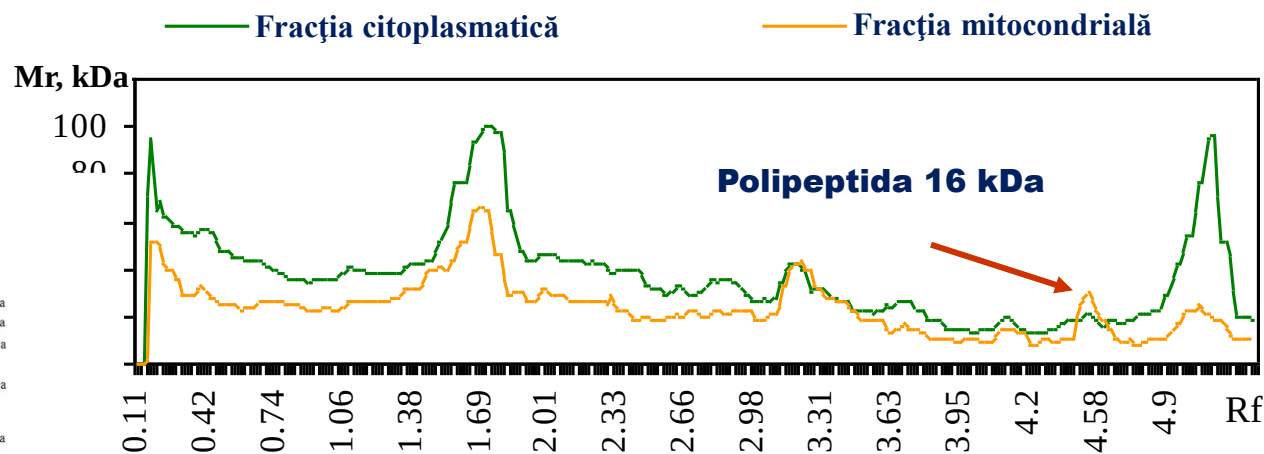
LOCALIZAREA PROTEINELOR SISTEMULUI ASC-Rf

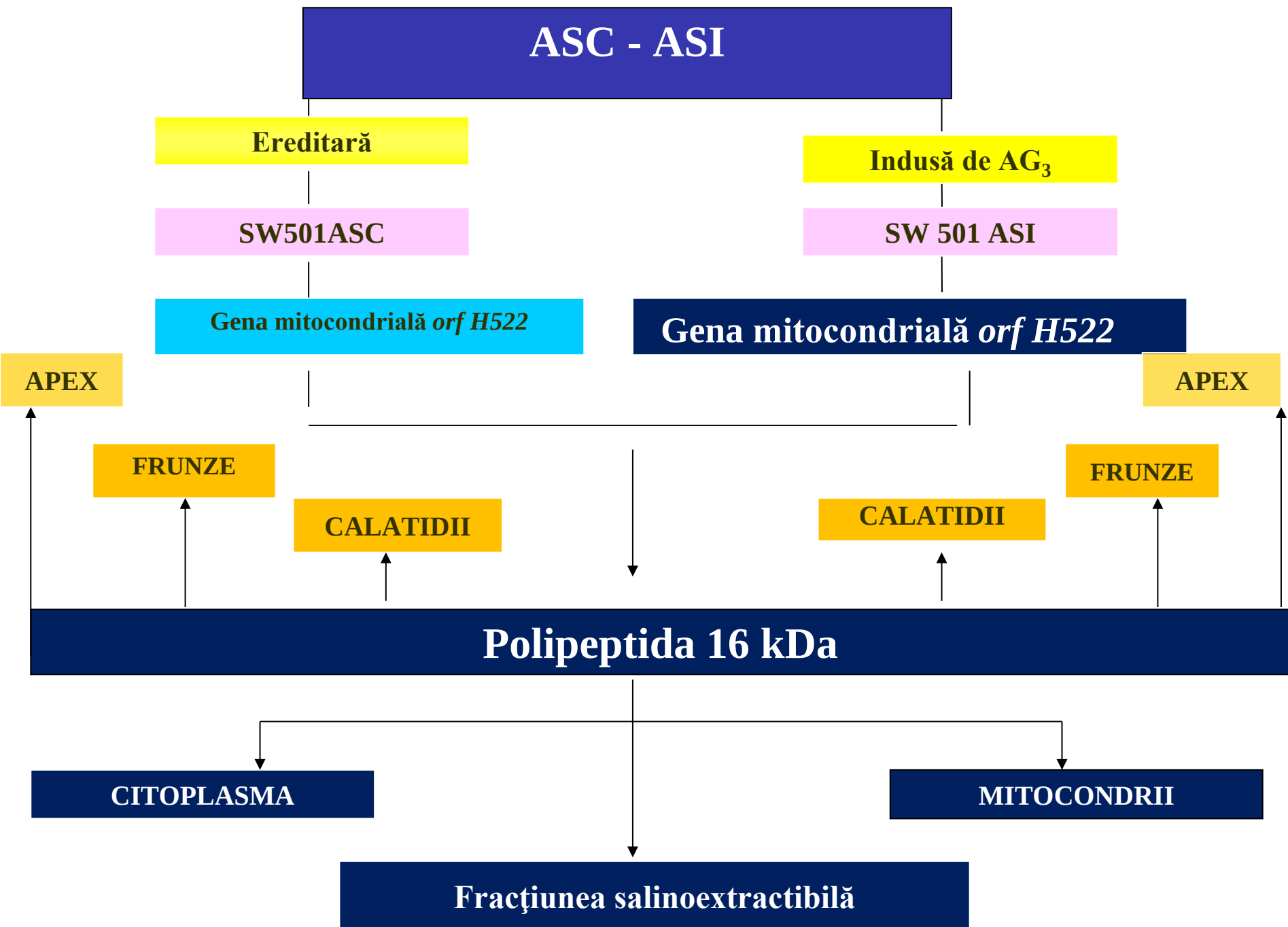
SPECIA		PROTEINA	LOCALIZAREA PROTEINELOR ASC-Rf		
			Noncitoplasmatică	Transmembranară	Citoplasmatică
ASC	Petunia	proteină ASC 402 aa	38–46; 112–402	47–67; 88–111	68–87
Rf		proteina genei Rf–PR591	–	–	1–591
		proteina genei Rf–PR592	–	–	1–591
ASC	Brassica napus	proteina genei orf222	28–89	7–27; 90–108	1–6; 109–222
Rf		proteina genei Rfo	–	–	1–667
ASC	Oryza sativa	ORF 79	1–19	20–38	39–79
Rf		proteina genei Rf1a	–	–	1–791
		proteina genei Rf1b	–	–	1–506
		proteina genei Rf1c	–	–	1–794
ASC	Raphanus sativus	ORF 125	1–23	24–44	45–125
Rf		proteina genei orf687	–	–	1–687

DISTRIBUȚIA SPAȚIALĂ A PRODUSULUI DE EXPRESIE A GENEI *orfH522*



1 - SW501 N
2 - SW501 T
3 - SW501ASC N
4 - SW501ASC T
5 - RW637Rf N
6 - RW637Rf T





A S C

(ADNm)

-

R f

(ADNn)

**rH
reducător**

**Gena mitocondrială
*orf H522***

**Genele
nucleare Rf**

**Intensitatea
redușă a
proteosintezei**

Proteine 16 kDa

?

**Concentrație redusă
a giberelinelor**

**Concentrația
sporită de gibereline**

**Activitatea
redușă a
peroxidazei**

**Concentrație
înalță a auxinelor**

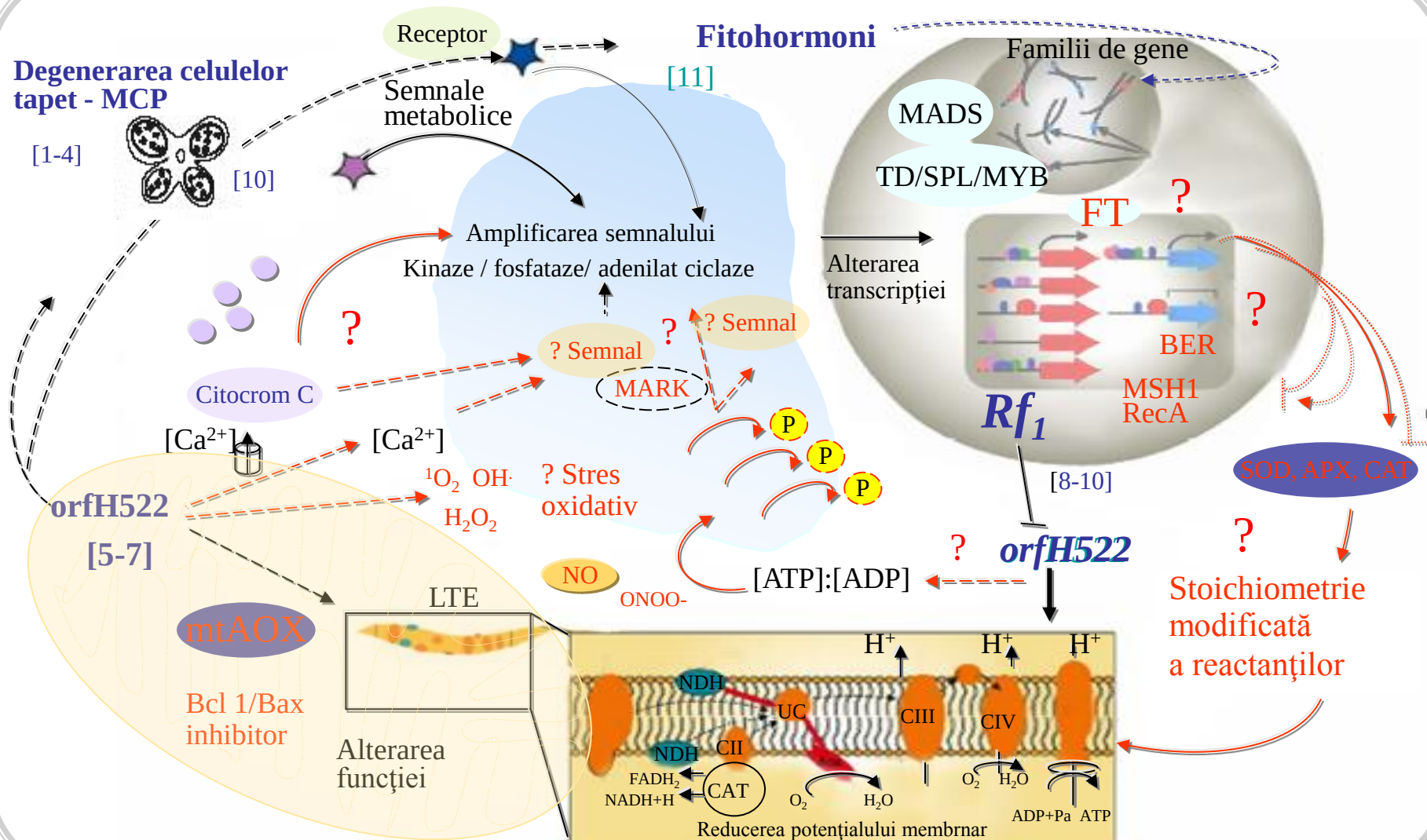
**Concentrație
redușă a auxinelor**

**Activitate
înalță a
catalazei și
peroxidazei**

**Raport înalt
AIA/AG₃**

**Raport redus
AIA/AG₃**

SISTEMUL ASC - *Rf* LA FLOAREA - SOARELUI



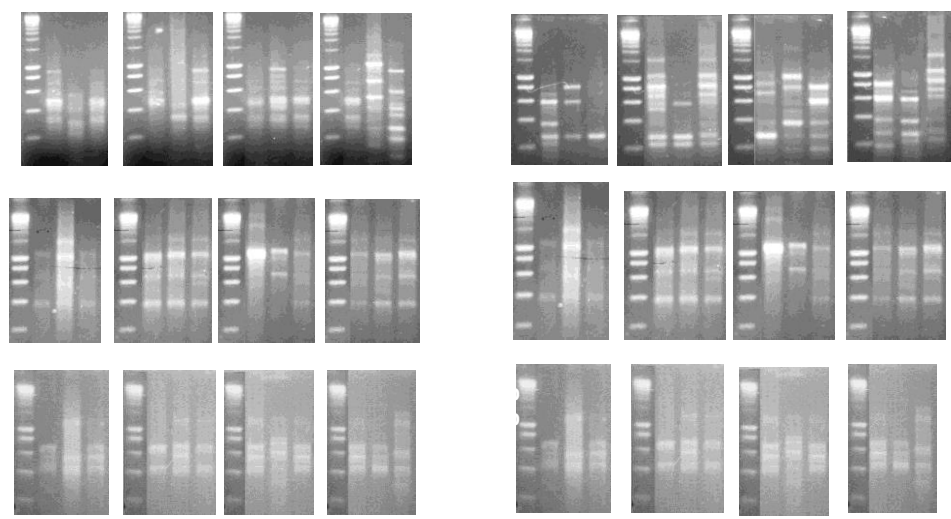
- 1- Leclercq P., 1966; 2 - Kinman M.L., 1970; 3 - Vranceanu A.V., Stoenescu F.M., 1976, 1978; 4 - Анащенко А. В., Дука М. В., 1985;
- 5 - Horn R., Kohler R.H., 1991; 6- Kohler R., Horn R., Lossi A., 1991; 7- Laver H., Reynolds S., Moneger F, 1991;
- 8 - Smart C., Moneger F., Leaver C.J., 1994; 9 - Gagliardi D., Leaver C., 1999; 10 - Balk J., Leaver C., 2001;
- 11- Duca M., 1998.

Valentina Rusu-Ciobanu
Floarea-soarelui

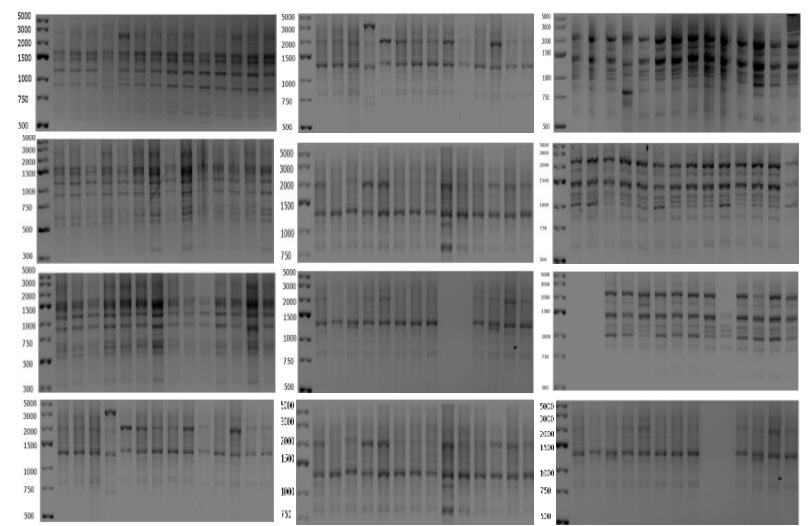


METODE DE DETERMINARE A POLIMORFISMULUI GENETIC

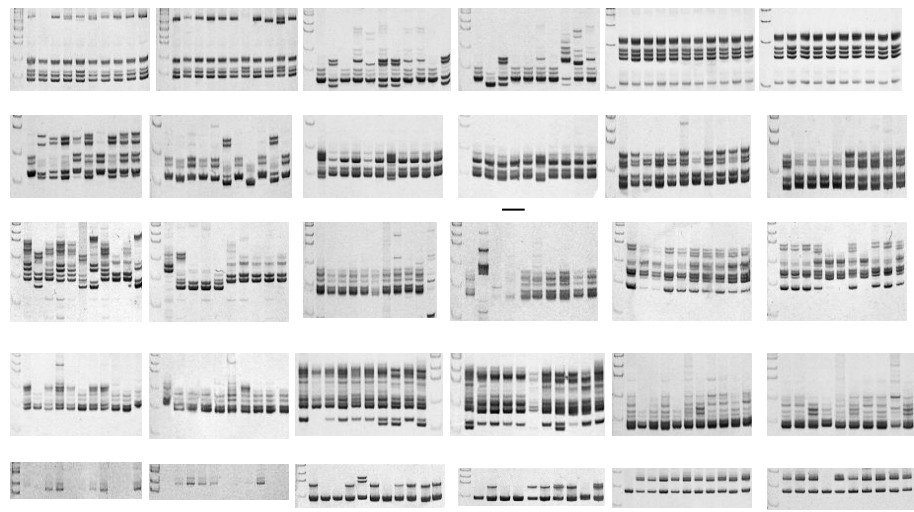
RAPD



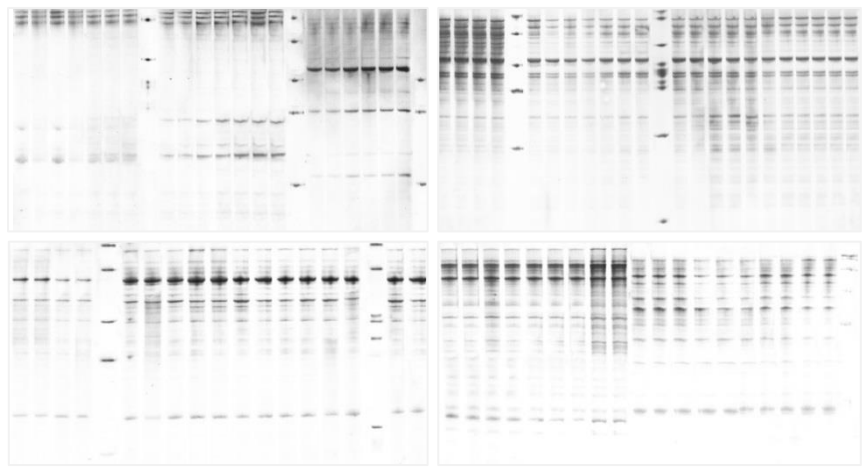
ISSR



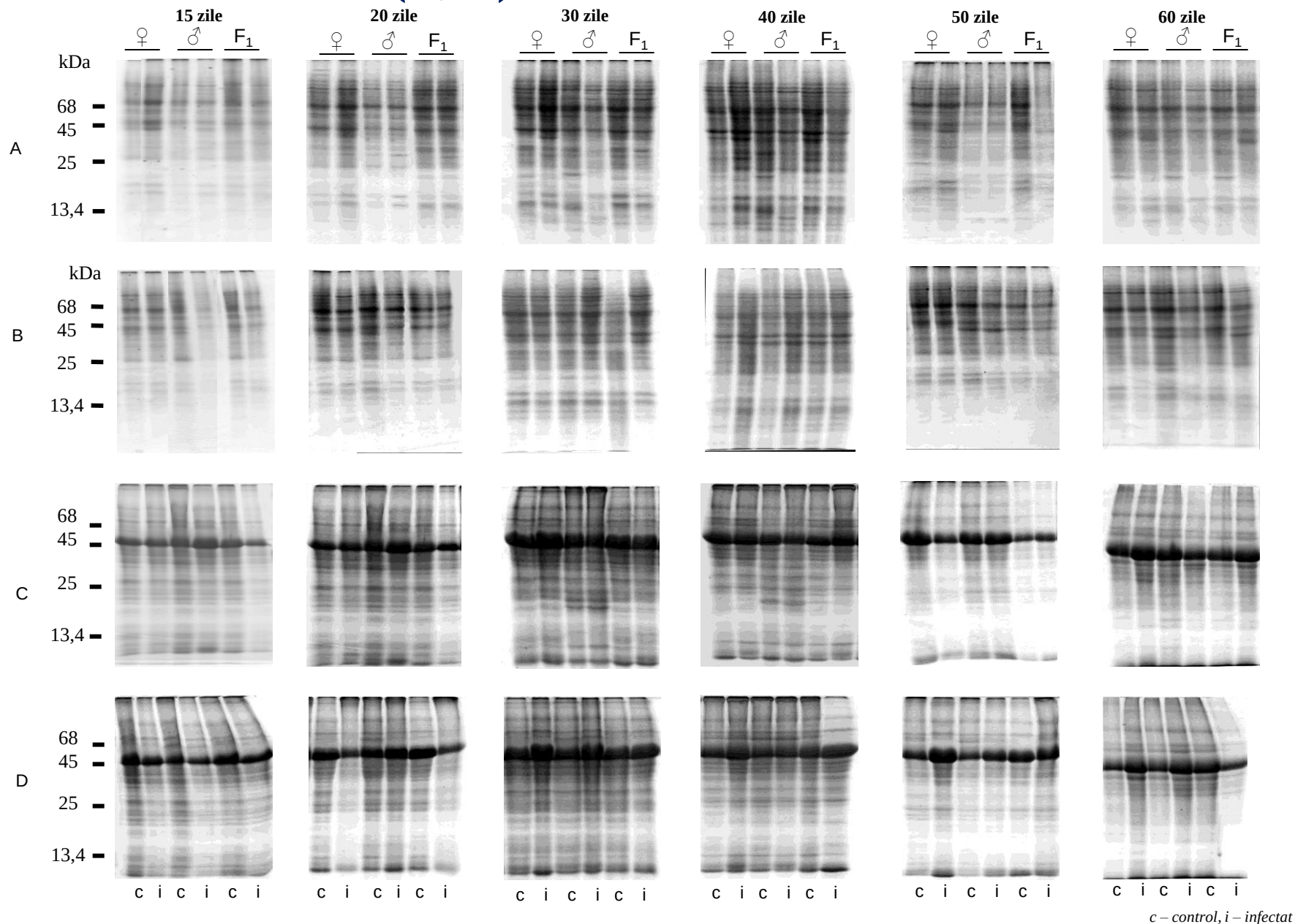
SSR



AFLP

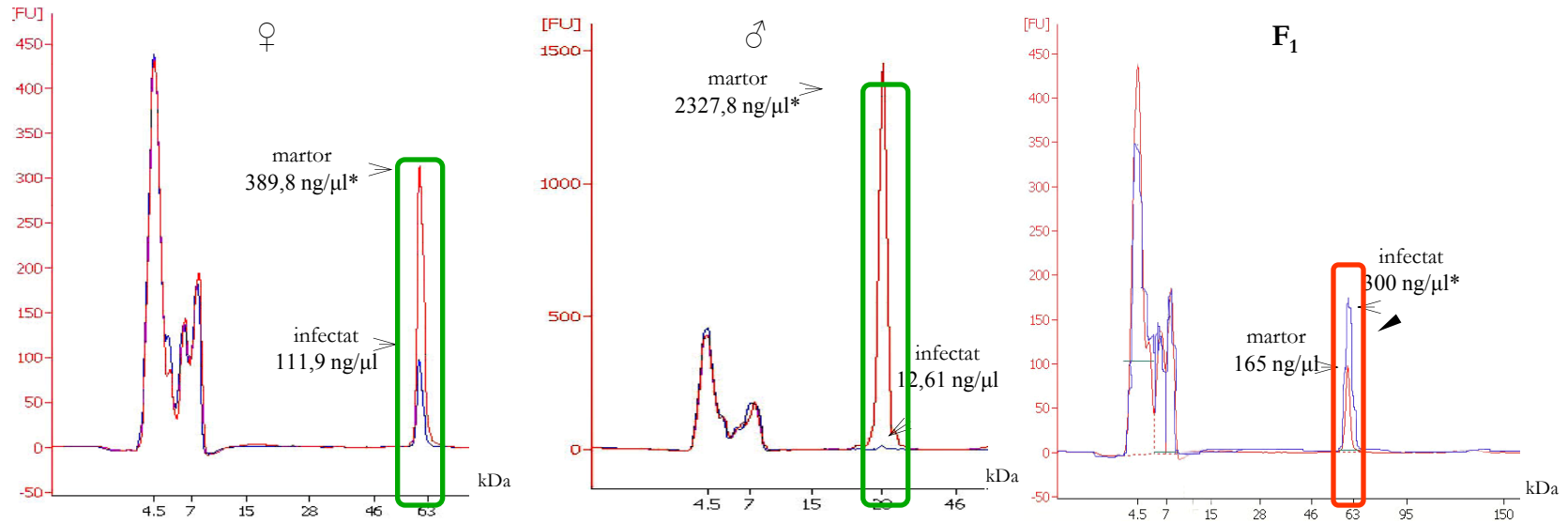


SPECTRELE POLIPEPTIDICE DIN RĂDĂCINILE (A, B) ȘI FRUNZELE (C, D) DE *HELIANTHUS ANNUUS* L.

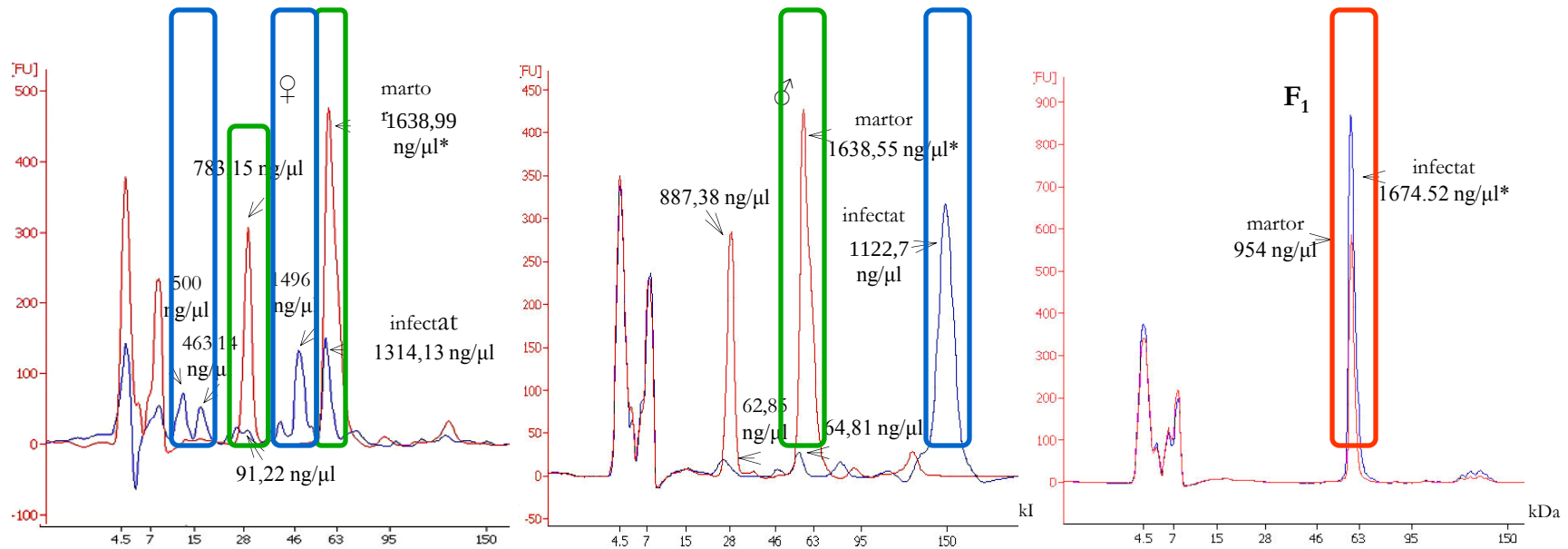


ANALIZA CANTITATIVĂ A POLIPEPTIDELOR UTILIZÂND TEHNOLOGIA PROTEIN LAB CHIP

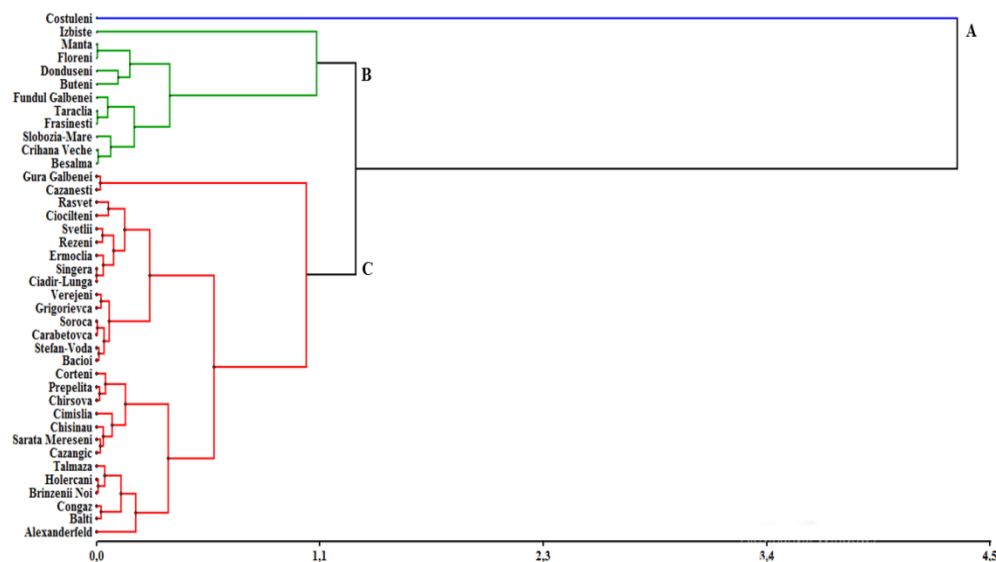
A



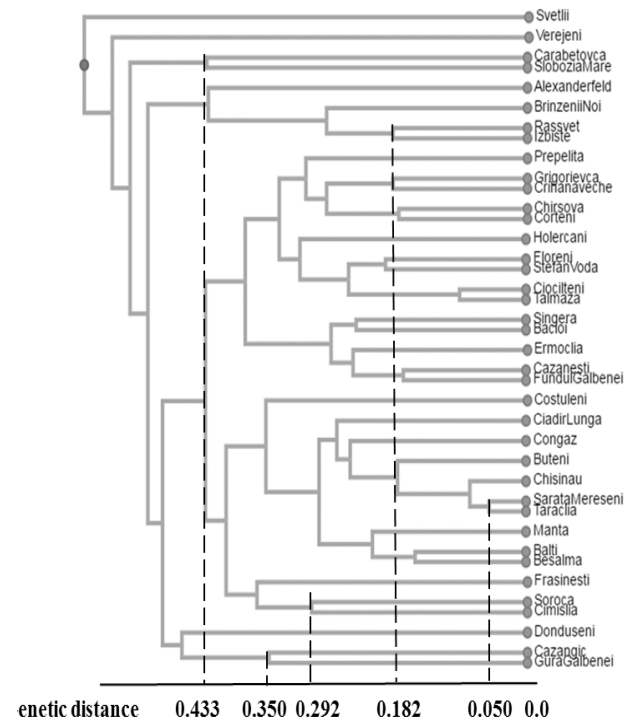
B



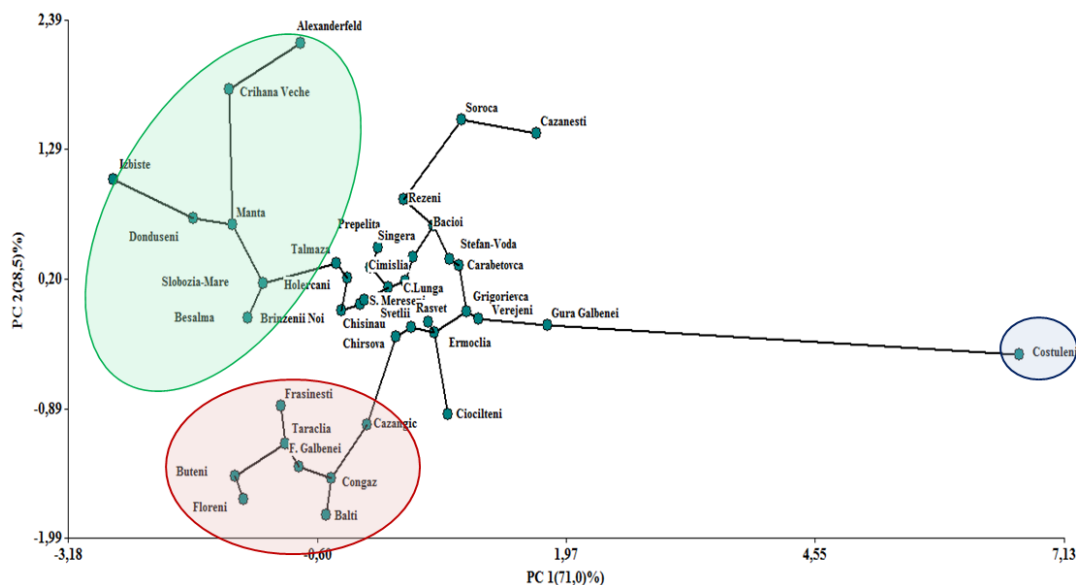
ANALIZE DE TIP CLUSTER DIVIZIV ȘI AGLOMERATIV



Dendrograma interpopulațională realizată în baza distanței Euclidiene dintre valorile medii ale caracterelor morfologice ale semințelor de *Orobanche cumana*

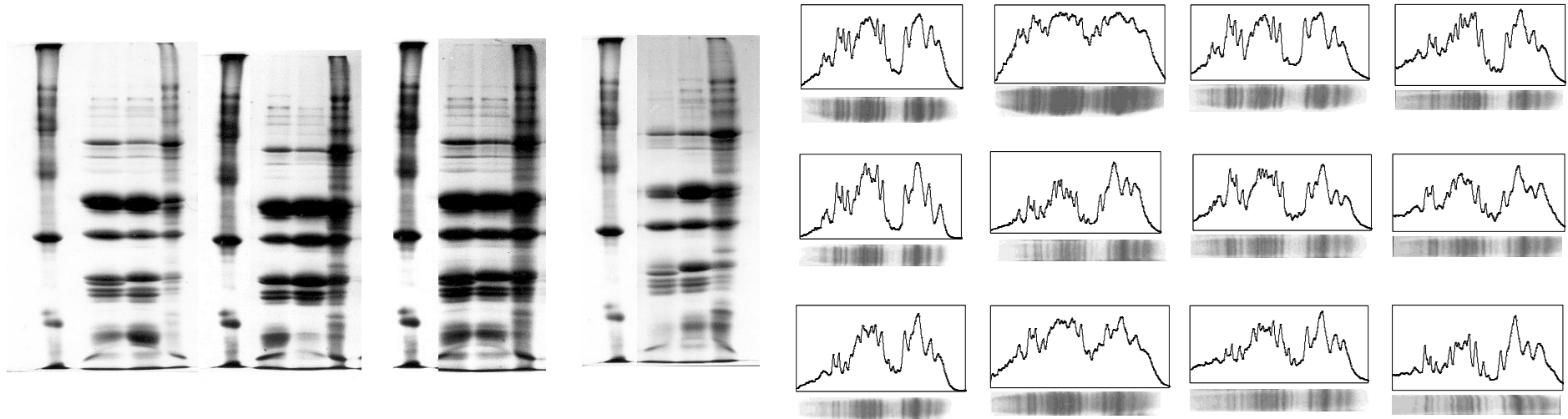


Dendrograma UPGMA generată pe baza distanțelor genetice Jaccard conform secvențelor microsatelite SSR între populațiile de *Orobanche cumana*



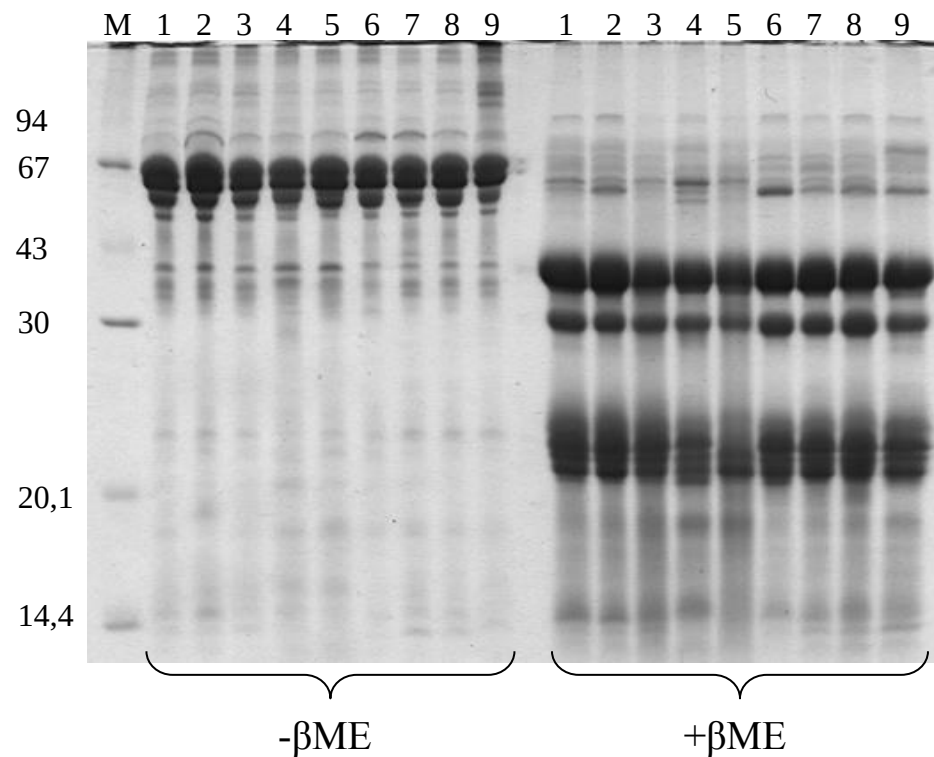
Reprezentarea bidimensională a rezultatelor analizei morfometrice a semințelor ale populațiilor studiate de *Orobanche cumana*

ELUCIDAREA BAZELOR MOLECULARE ALE FENOMENULUI DE *HETEROSIS*

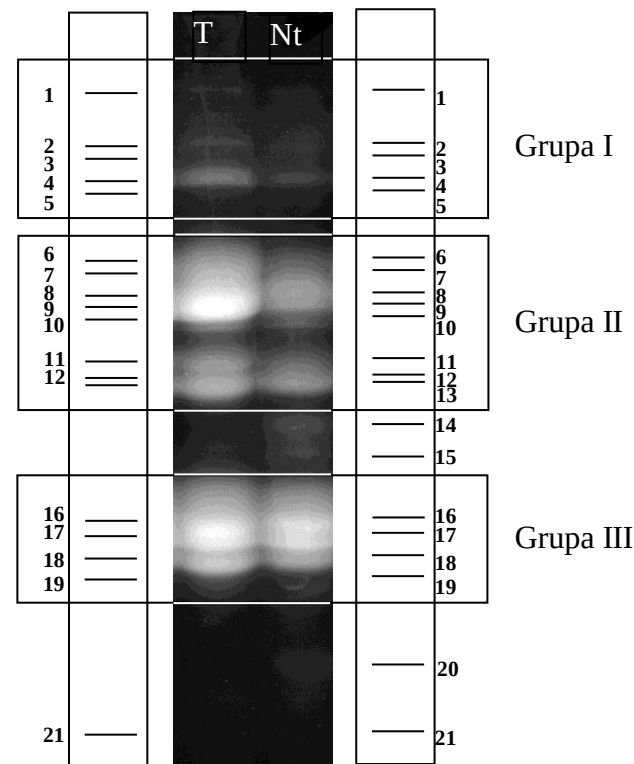


Modul de moștenire			Frecvența	Masa moleculară, kDa
♂	♀	F ₁		
+	+	+	77	122; 98; 89; 59; 57; 53; 49; 46; 38; 36; 35; 29; 28; 24; 22,8; 22,3; 21,5; 17,6; 16,3; 15,3
+	+	-	12	88; 80; 70; 49; 20,5; 18,7
-	-	+	30	117; 74; 62; 43; 34,2; 32,8; 27; 26; 20,1; 19
+	-	+	6	34,2; 26; 23,7; 16,3
-	+	+	4	49; 46; 26; 16,3
+	-	-	2	88; 18,7
-	+	-	5	88; 80; 28; 20,5; 18,7

EVALUAREA POLIMORFISMULUI GENETIC ÎN BAZA HELIANTININEI LA FLOAREA-SOARELUI



M – markerul maselor moleculare, kDa; 1 – Xenia ♀; 2 – Xenia ♂; 3 – Xenia F₁; 4 – Valentino ♀; 5 – Valentino ♂; 6 – Valentino F₁; 7 – Drofa ♀; 8 – Drofa ♂; 9 – Drofa F₁. -βME – electroforeza în lipsa β-mercaptoetanolului; +βME - electroforeza în prezența β-mercaptoetanolului



Spectrul polipeptidic tipic (T) și netipic (Nt) al heliantininei la genotipul Xenia ♀

- METODA DE DETERMINARE A PURITĂȚII GENETICE A MATERIALULUI SEMINCIER DE FLOAREA SOARELUI , brevet nr. A20060194 din 21.07.2006**

Elena Bontea
*Natură statică cu fructe
și floarea-soarelui, 1984*



INTERACȚIUNEA GAZDĂ-PATOGEN

Înșușirile biologice ale parazitului

Afinitatea

Virulența

Agresivitatea

Înșușirile biologice ale gazdei

Gene specifice

Gene nespecifice

Mecanisme fiziologice ale rezistenței

S R O

P R

Evaluarea polimorfismului genetic și amprentarea genotipurilor valoroase de floarea-soarelui

- Analiza SSR

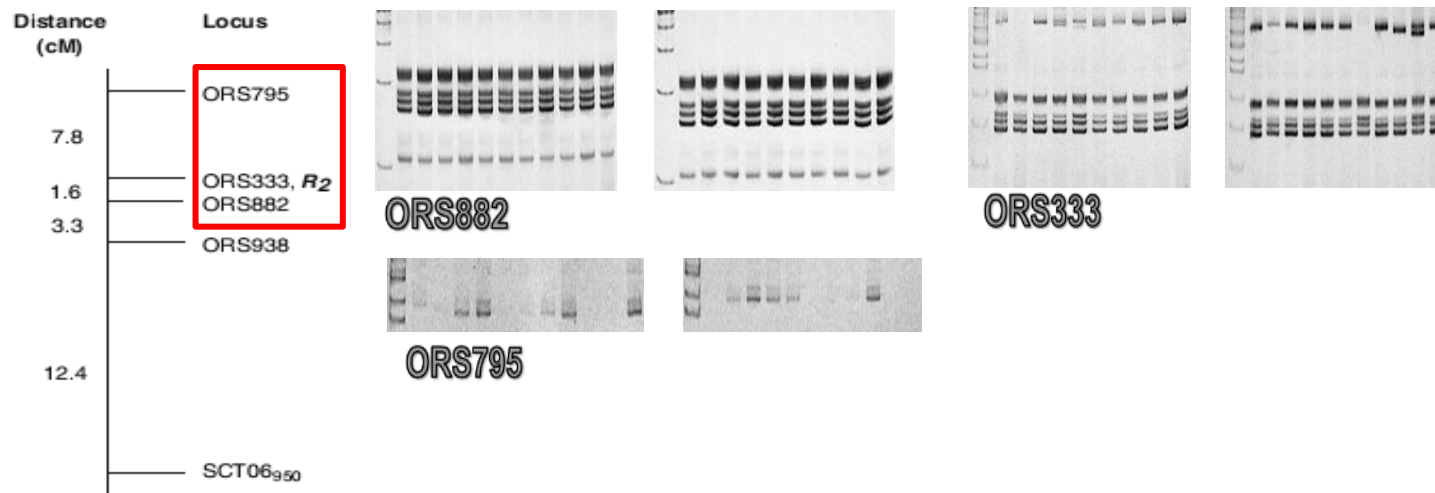
Evaluarea potențialului de rezistență specifică

- Screening-ul genei *Pl1* cu marker CAPS
- Screening-ul genei *Pl6* cu marker STS

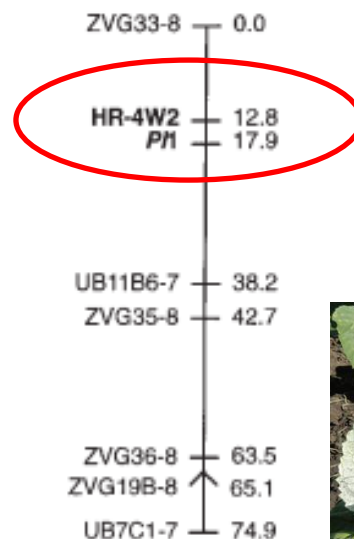
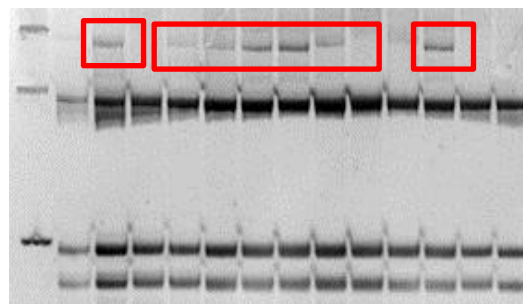
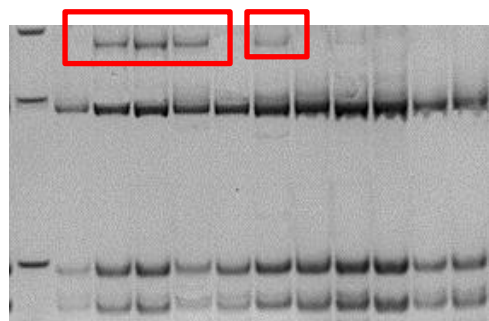
Elucidarea mecanismelor de rezistență nespecifică

- Colorarea cu DAB și NBT
- Expresia genelor asociate cu rezistența

IDENTIFICAREA GENELOR DE REZISTENȚĂ LA RUGINĂ (*Puccinia helianthi*) R1 și R2



IDENTIFICAREA GENEI DE REZISTENȚĂ LA MANA (*Plasmopara halstedii*) Pl1

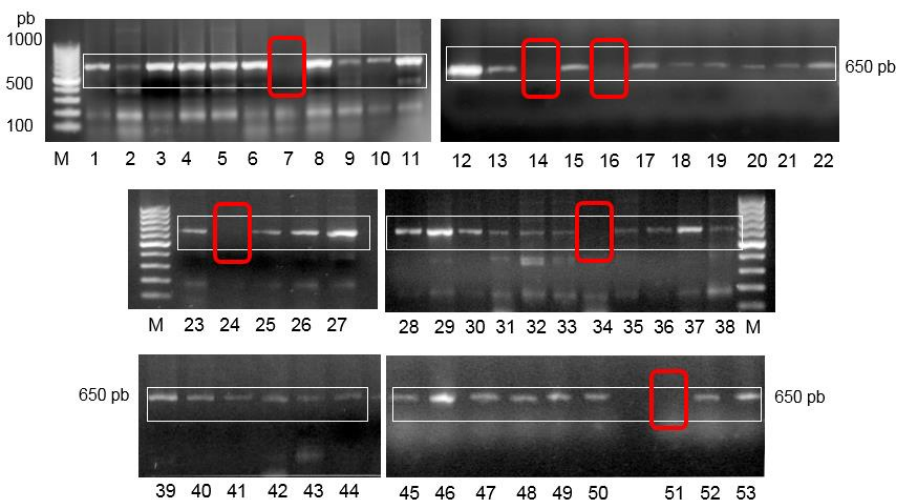


Markerul CAPS pentru locusul Ha-4W2 lincat cu gena *Pl1* (rezultatul restricției cu Tsp509I)

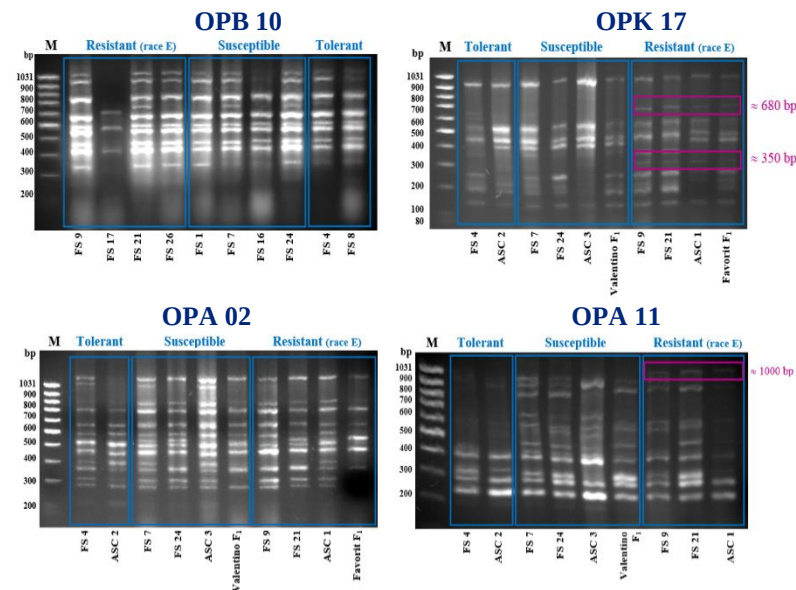
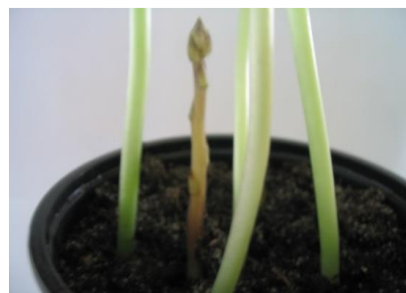
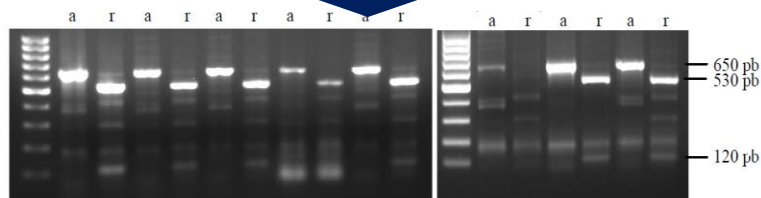
SCRININGUL MOLECULAR AL REZISTENȚEI LA LUPOAIE

SCAR (*rasa E*)

RAPD



RESTRICTION
ANALYSIS



DUCA, M., A. GLIJIN, A. ACCIU, M. GORCEAG and I. GISCA. 2014.

Identification of RAPD markers associated with sunflower resistance to *Orobanche cumana* Wallr. In: **Proc. 3rd Int. Symp. Conserv. of Plant Diversity**, Chisinau 22-24 May, 2014. p. 87.

DUCA M., GLIJIN A., ACCIU A. and GISCA I. 2013.

Use of RAPD markers in molecular screening of sunflower resistance to broomrape. In: **Proc. Int. Symp. Modern Agriculture – Achievements and Prospects**. Chisinau. p. 168-172.

DUCA M., GLIJIN A., LUPASCU V. and ROTARENCO V. 2009.

Molecular screening of sunflower resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.), race E. **Journal of the Academy of Sciences, Life Sciences**. 3(309): 81-88

FENOTIPIC SCREENING OF THE RESISTANCE TO BROOMRAPE



PETRI DISHES

- MSU
- UnASM



POTS

- UnASM
- AMG-Agroselect



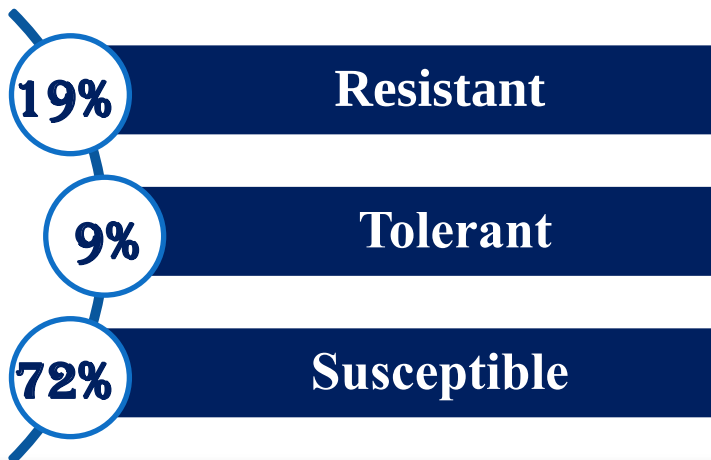
GREEN HOUSES

- AMG-Agroselect



FIELDS

- SELECTIA
- UnASM
- AMG-Agroselect
- NOVASEM



DUCA M., GLIJIN A., PACUREANU-JOITA M., ACCIU A. and GISCA I. 2013. Impact of *Orobanche cumana* on sunflower cultivars on natural infested fields in Republic of Moldova. p. 282. In: **Proc. Int. Plant Breeding Congress.** Antalya, Turkey.

DUCA M., GLIJIN A., LUPASHCU V., ROTARENCO V., TELEUTA A., ROTARU T. 2011. Phenotypic screening of broomrape resistance at sunflower genotypes cultivated in Republic of Moldova. p. 20. In: **Proc. Int. Symp. on Broomrape (Orobanche spp.) in Sunflower**, Chisinau.

BUCIUCIANU, M., I. PETCOVICI, E. LUNGU et al. 2009. Crearea materialului initial si ameliorarea in baza lui a hibrizilor semitardivi de floarea-soarelui, toleranti la atacul principalelor patogeni. p. 200-202. In: **Proc. Int. Conf. Integrated protection of field crops, Balti.**

PETCOVICI I. P. 2008. Sozdanie ishodnogo materiala podsolnecinika, immunogo k bolezniyam. p. 94-103. In: **Proc. Int. Conf. Crops in modern agriculture. Balti.** (in Russian).

SHAROVA P. G. 1969. Selectia podsolnecinika na imunitet k agresivnim rasam moldavskoi populatii zarazihi. p. 28-31 In: **P. G. Sharova, Trudi V Vsesoiuznogo sovescianiia po imunitetu rastenii.** Kiev. (in Russian).

CLASIFICAREA GENOTIPURILOR DE FLOAREA-SOARELUI DUPĂ FRECVENȚA ATACULUI CU LUPOAIE

6 *Susceptibile*

(Drofa ♀; ASC7; FS7; FS14; FS16; FS24)

10 *Rezistente*

FS9, FS12,
FS17, FS21,
FS26, FS27,
ASC1,
Alcazar F₁,
Favorit F₁, Turbo F₁

5 *Tolerante*

FS4, FS8,
FS11, ASC2,
Xenia ♂

Sensibile

FS10

37 *Foarte sensibile*

FS: 1-3, 5-6,
13, 15, 18-20, 22,
23, 25; ASC: 3-6, 8-11;
Xenia: ♀, F₁;
Valentino: ♂, ♀, F₁;
Drofa: ♂, ♀, F₁;
Hibrizii: Olea,
Oxana, Performer



Sistemul rasicul la
genotipul reziztent ASC1

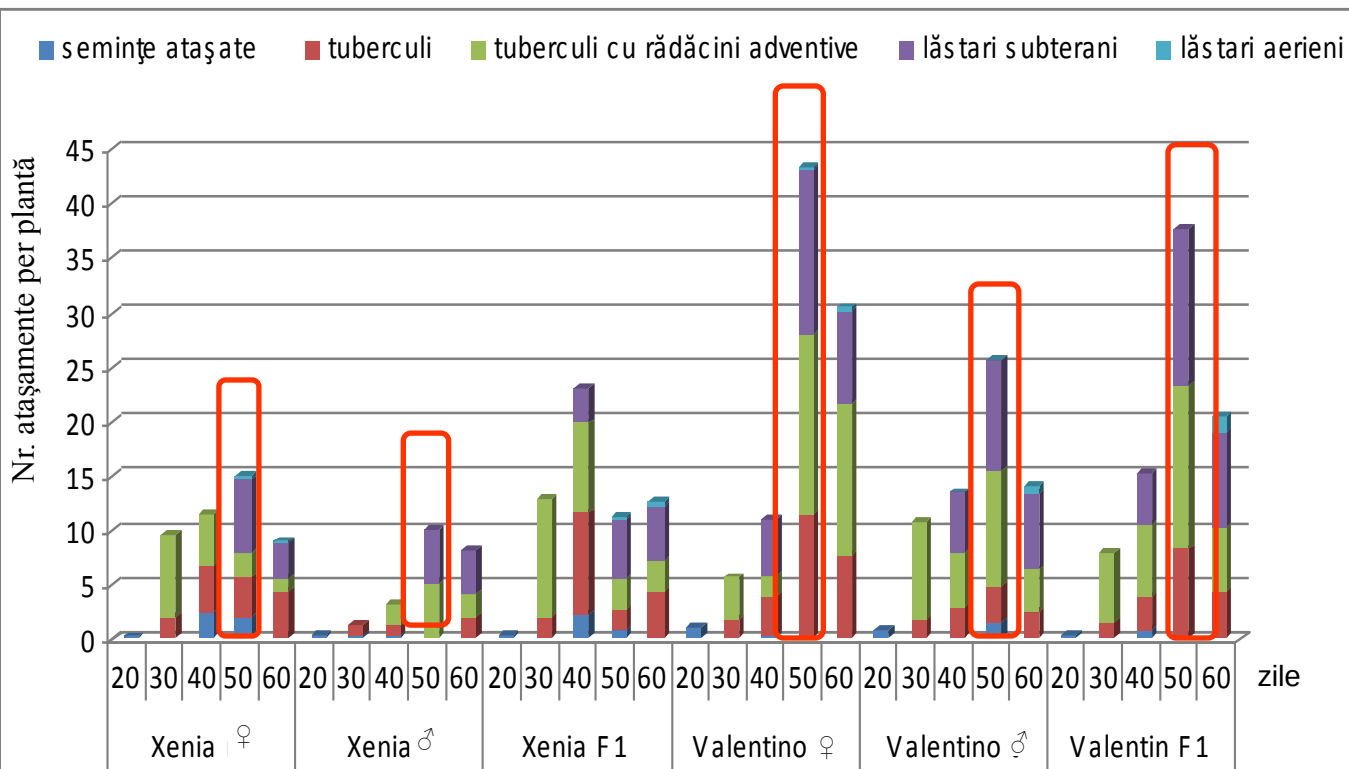
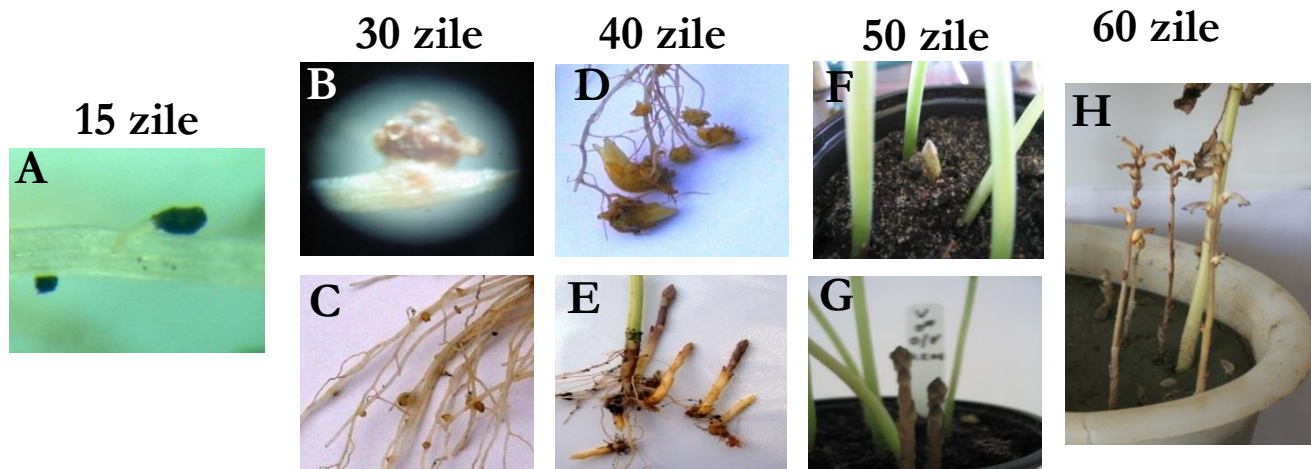


Dezvoltarea fitoparazitului pe rădăcinile
Helianthus annuus L.
(hibrizii Xenia (A) și Valentino (B))

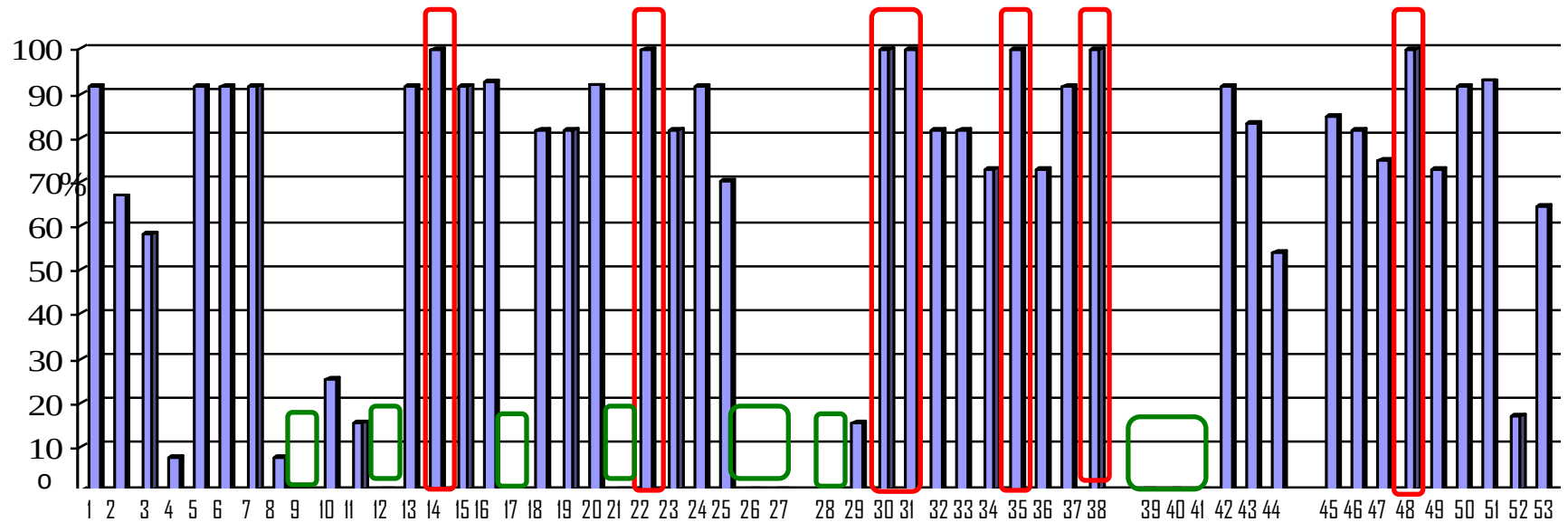
VARIAȚIA GRADULUI DE INFECTARE CU LUPOAIE ÎN FUNCȚIE DE PARTICULARITĂȚILE FIZICO-CHIMICE ALE SOLULUI												
Localitățile					Parametrii solului							
	Intensitatea atacului, %			Frecvența atacului, %	pH	%		mg/100 g				me/100 g
	>10	5-10	1-4			Humus	N total	NH ₄	NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca
Telenesti, Verejeni	-	20	80	10	7.50	2.25	0.24	0.6	18.1	5.9	60.6	22.00
Telenesti, Cazanesti	1	15	84	10	8.00	1.85	0.31	0.7	3.7	9.3	64.0	22.90
Telenesti, Brinzeni	30	20	50	25	7.80	2.95	0.28	0.9	7.4	2.7	51.6	21.60
Orhei, Ciocilteni	8	17	75	40	7.80	3.65	0.26	0.9	1.8	1.5	29.0	22.60
Mun. Chisinau	-	50	50	30	7.30	3.70	0.20	0.6	1.6	1.2	28.2	21.10
Hincesti, Buteni	5	20	75	30	8.00	3.05	0.19	0.6	4.9	1.5	30.2	27.60
Hincesti, Sarata-Mereseni	-	-	100	10	7.40	2.65	0.26	1.1	1.0	3.8	26.6	16.80
Hincesti, Fundul-Galbenei	-	-	100	5	7.40	2.65	0.16	0.6	5.8	1.4	25.8	20.25
Straseni, Rassvet	-	-	100	10	7.90	4.05	0.16	0.5	3.9	1.9	50.0	15.10

Localitatile					Parametrii solului							
	Intensitatea atacului, %			Frecventa atacului, %	pH	%		mg/100 g				me/100 g
	>10	5-10	1-4			Humus	N total	NH ₄	NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca
Leova, Cazangie	-	30	70	70	7.45	3.30	0.15	0.6	1.4	1.3	21.4	13.25
Stefan-Voda, Ermoclia	-	20	80	10	8.20	3.45	0.22	1.1	29.3	3.7	24.6	27.90
Comrat, Chirsova	-	-	100	10	8.30	2.30	0.18	0.6	4.3	1.6	24.6	19.10
Comrat, Besalma	-	-	100	20	8.20	2.50	0.18	0.9	24.4	4.0	29.4	18.00
Comrat, Svetlii	-	-	100	10	8.25	2.30	0.18	0.7	3.9	1.8	23.4	18.50
Basarabeasca, Carabetovca	60	30	10	60	8.30	2.80	0.18	0.7	11.4	1.4	19.0	16.90
Cahul, Alexanderfeld	50	50	-	70	7.75	3.45	0.16	0.9	2.0	4.2	32.0	23.10
Cahul, Manta	10	30	60	80	7.75	3.25	0.24	0.9	2.3	3.9	19.0	23.10
Cahul, Slobozia-Mare	40	30	30	80	7.90	3.25	0.24	1.0	2.1	8.0	25.0	19.25
Cahul, Crihana-Veche	-	-	100	30	7.80	2.10	0.21	0.8	7.4	4.8	59.4	17.75

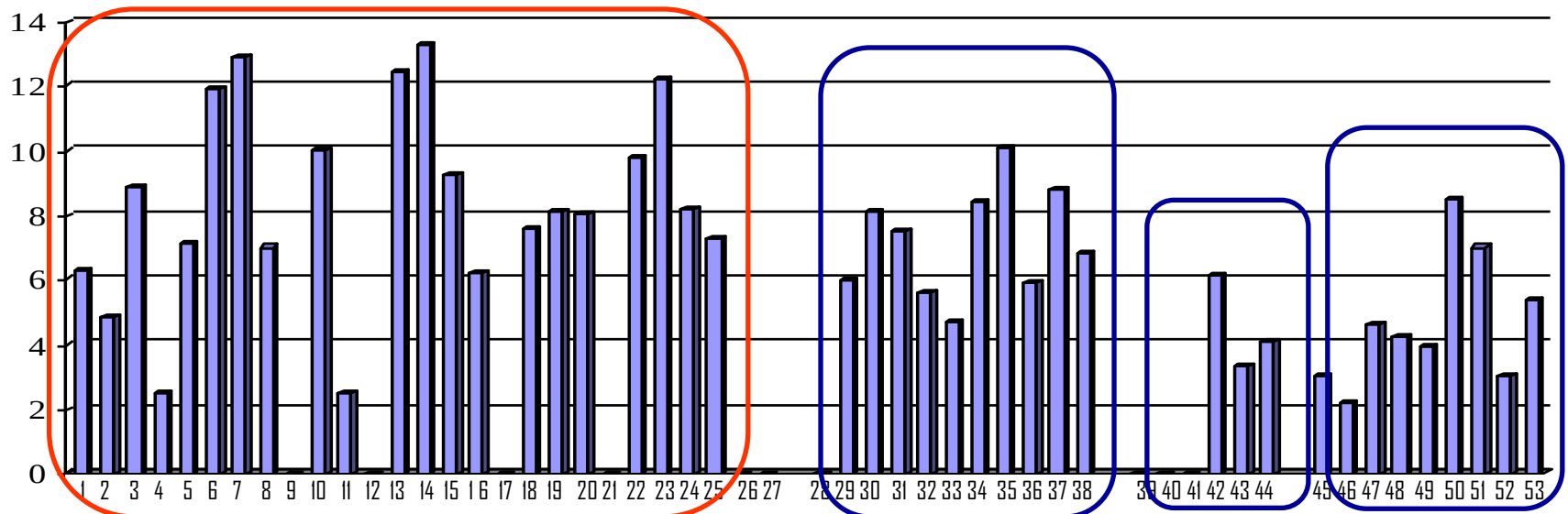
DINAMICA DEZVOLTĂRII *Orobanche cumana* Willd.



FRECVENȚA ATACULUI



INTENSITATEA ATACULUI



STIDIUL PARTICULARITĂȚILOR MORFO-ANATOMICE ALE SISTEMULUI *H. ANNUUS* L. - *O. CUMANA* WALLR.

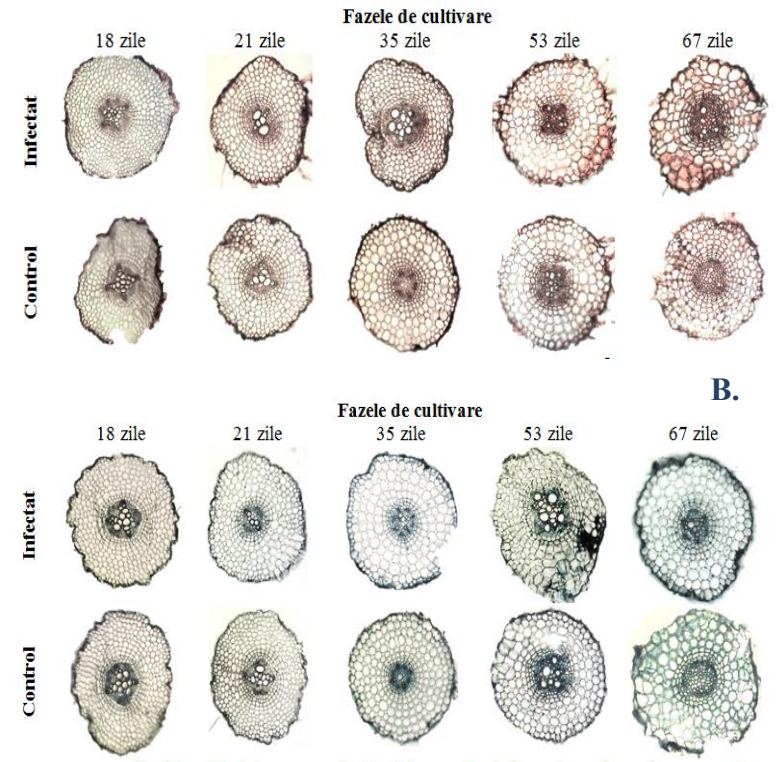
Genotipuri		Cod genotip	Creșterea pe fundal de infecție cu <i>O. cumana</i> (zile)									
			Stadiu imediat de apărare a plantei gazdă				Stadiu de apărare activă a plantei gazdă				Stadiu de stabilizare și acomodare a plantei gazdă	
			Etapa de penetrare a rădăcinilor gazdei de haustoriul lupoaiiei		Etapa de formare a tuberculilor		Etapa de formare a lăstarului subteran de lupoaiie		Etapa de dezvoltare a lăstarului aerian de lupoaiie			
			18		21		35		53		63	
			C ₁	I ₁	C ₂	I ₂	C ₃	I ₃	C ₄	I ₄	C ₅	I ₅
REZISTENȚĂ	Favorit (Or6) F ₁ (rasa F)	R ₁	R ₁ C ₁	R ₁ I ₁	R ₁ C ₂	R ₁ I ₂	R ₁ C ₃	R ₁ I ₃	R ₁ C ₄	R ₁ I ₄	R ₁ C ₅	R ₁ I ₅
	LC-1093A (♀ Favorit) (rasa F)	R ₂	R ₂ C ₁	R ₂ I ₁	R ₂ C ₂	R ₂ I ₂	R ₂ C ₃	R ₂ I ₃	R ₂ C ₄	R ₂ I ₄	R ₂ C ₅	R ₂ I ₅
	Pioner F ₁ (PR64 LE20) (rasa G-H)	R ₃	R ₃ C ₁	R ₃ I ₁	R ₃ C ₂	R ₃ I ₂	R ₃ C ₃	R ₃ I ₃	R ₃ C ₄	R ₃ I ₄	R ₃ C ₅	R ₃ I ₅
	LC-5542 (rasa H)	R ₄	R ₄ C ₁	R ₄ I ₁	R ₄ C ₂	R ₄ I ₂	R ₄ C ₃	R ₄ I ₃	R ₄ C ₄	R ₄ I ₄	R ₄ C ₅	R ₄ I ₅
SENSIBIL	Performer F ₁ (sensibil)	S ₁	S ₁ C ₁	S ₁ I ₁	S ₁ C ₂	S ₁ I ₂	S ₁ C ₃	S ₁ I ₃	S ₁ C ₄	S ₁ I ₄	S ₁ C ₅	S ₁ I ₅
	LG5525 (LMD1) (sensibil)	S ₂	S ₂ C ₁	S ₂ I ₁	S ₂ C ₂	S ₂ I ₂	S ₂ C ₃	S ₂ I ₃	S ₂ C ₄	S ₂ I ₄	S ₂ C ₅	S ₂ I ₅



540 probe, congelate și stocate pentru studiul expresiei genelor



240 de secțiuni



Analiza histochimică a prezenței ligninei (A) și calozei (B)

Teza de doctorat drd. Olesea Tabără

AFINITATEA POPULAȚIILOR DE LUPOAIE COLECTATE DE PE TERITORIUL REPUBLICII MOLDOVA

Specificitatea interacțiunii dintre gazdă și parazit, în baza testului de germinare



Cca 2500 de foto

45 populații
colectate din diferite
regiuni geografice
ale Moldovei

4 repetiții
biologice, câte 70
semințe

PRECONDIȚIONARE



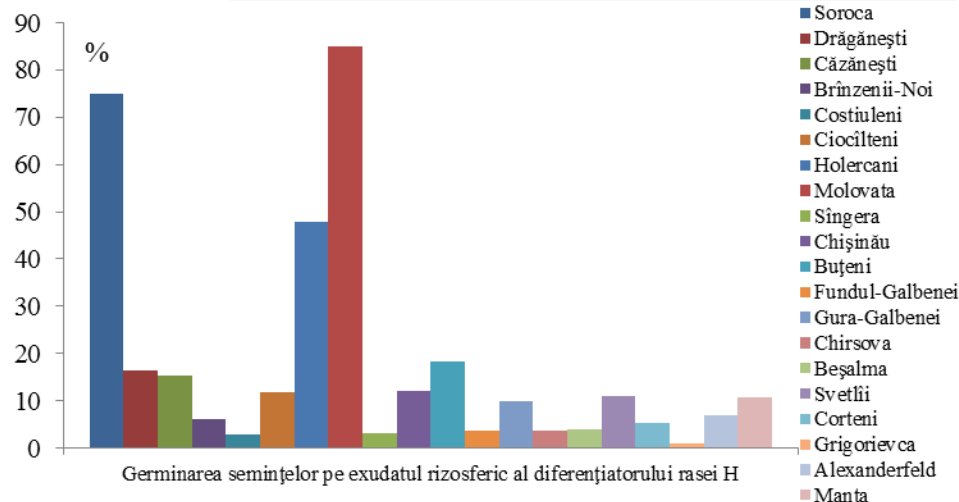
GERMINAREA, cu utilizarea exudatelor a 5 genotipuri de floarea soarelui cu diferit grad de afinitate pentru lupoaie:

- genotipul sensibil de floarea-soarelui (LMD1) și exudate ale liniilor diferențiatorie pentru:
- rasa E (LMD2);
- rasa F (LC 1093A);
- rasa G (LMD3);
- rasa H (LG5661).

Analiza microscopică și fotodocumentarea în 3 puncte de creștere – a 8-a, a 10-a și a 13 zi de contact exudat-semințe de lupoaie



Cca 50 de probe, congelate și stocate pentru studiul expresiei genelor

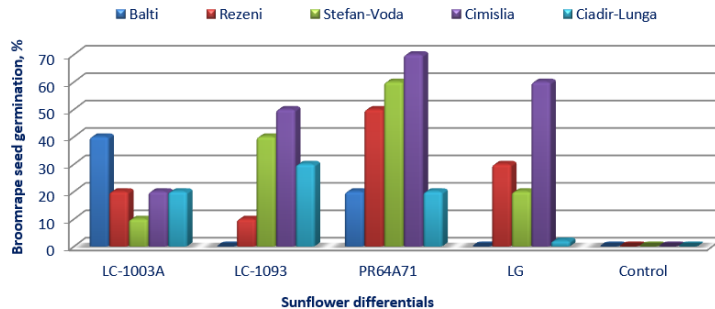


RESEARCH OF BROOMRAPE FROM DIFFERENT REGIONS

6

Moldavian VNIIMK Station

Edinet, Balti, Chisinau,
Slobozia, Causeni, Vulcanesti



SHAROVA P. G. 1977. Zaraziha – opasni parazit podsolnecinika. Chisinau. (in Russian).

GLIJIN A., ACCIU A. and MITA E. 2011. Effect of root exudation from different sunflower genotypes on broomrape seeds germination. p. 23. In: Proc. Int. Symp. on Broomrape (Orobanch spp.) in Sunflower, Chisinau, Republic of Moldova.

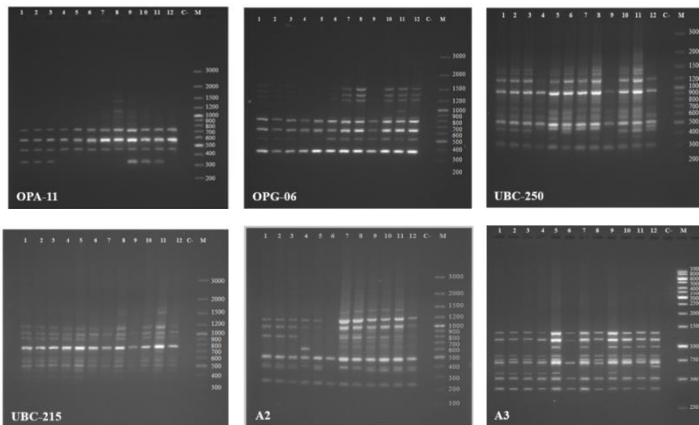
GLIJIN A., ACCIU A. and GISCA I. 2014. Molecular analysis of Orobanch cumana Wallr. from different geographical regions. In: Proc. 3rd Int. Symp. Conserv. of Plant Diversity, Chisinau 22-24 May, 2014, p. 16.

GISCA I., ACCIU A., GLIJIN A. and DUCA M. 2013. Highly virulent races of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. In: Proc. Biotech. Congress. Current Opinion in Biotech. 24(1):S132.

5

12

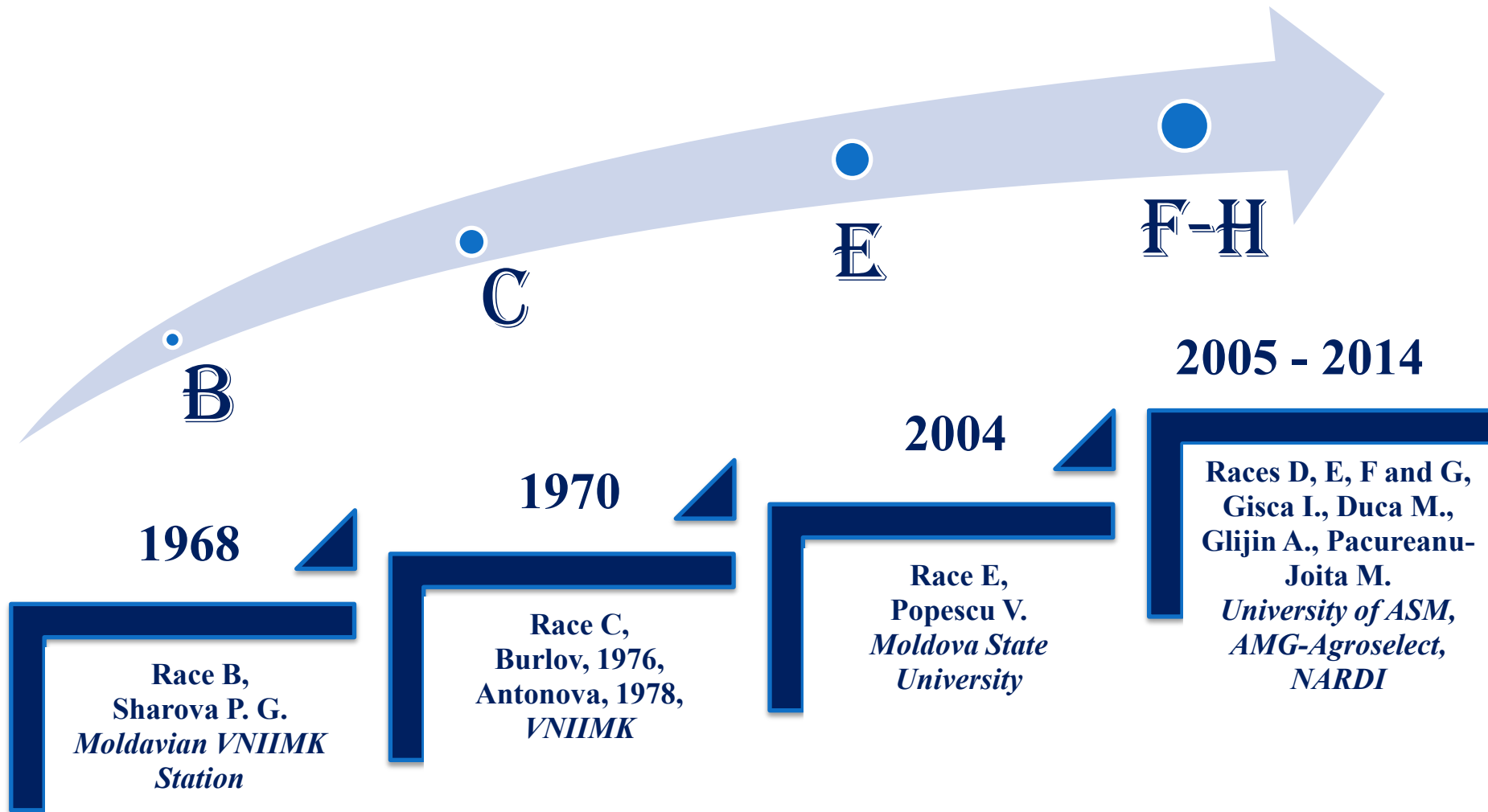
14



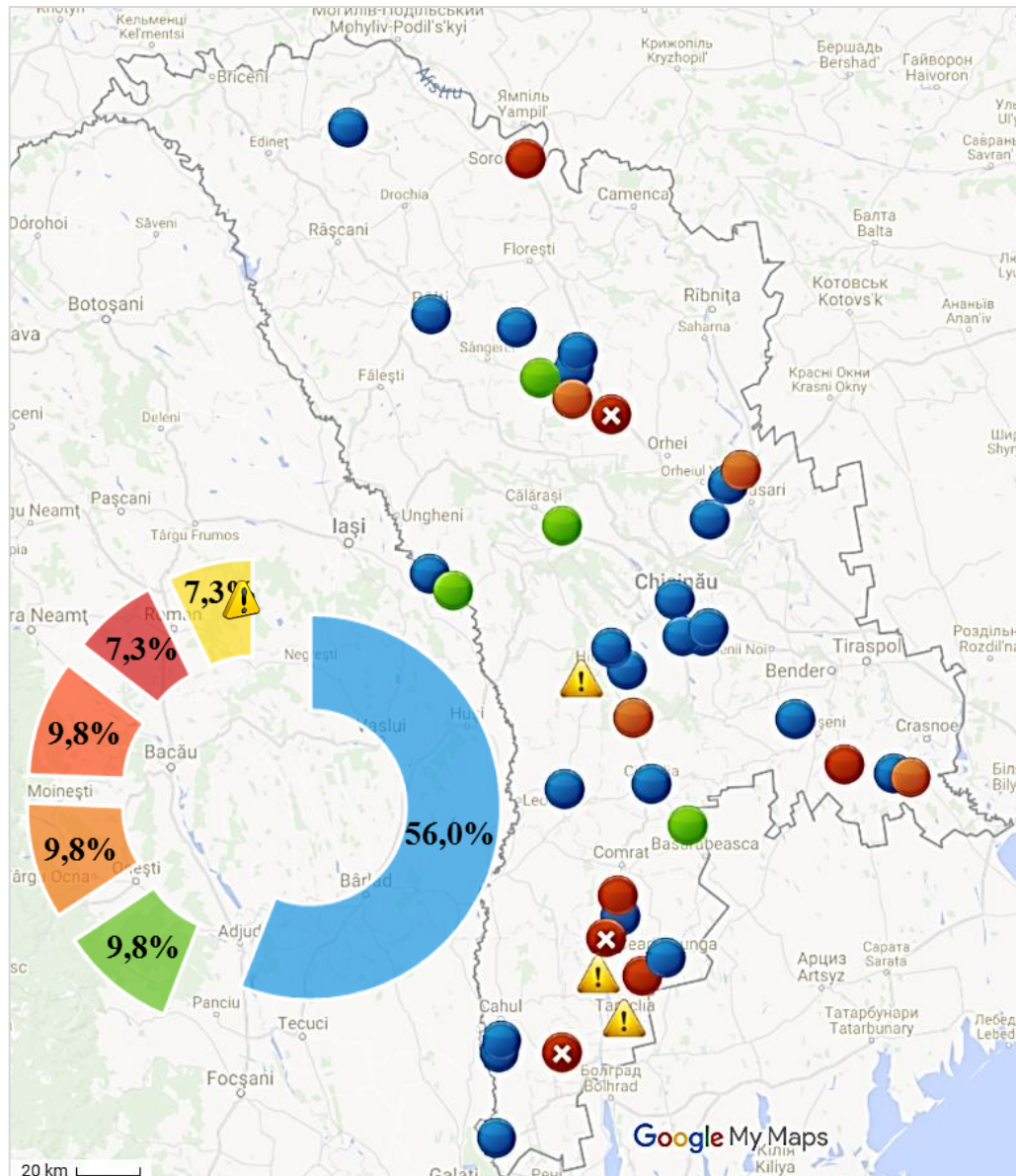
AMG-Agroselect

Soroca, Anenii-Noi (RM),
Tulcea (Romania)

EVOLUTION OF *Orobanche cumana* WALLR. IN THE RM



STUDIUL PARTICULARITĂȚILOR MORFO-ANATOMICE ȘI FIZIOLOGICE ALE SISTEMULUI *H. ANNUUS L.* - *O. CUMANA*



41 populații *O. cumana*

Rase:	Nord	Centru	Sud
● < E	5	7	9
● E	1	2	1
● F	1	1	2
● G	1	-	3
⊗ G+	-	1	2
⚠ H	-	1	2

Teza de doctorat drd. Acciu Adriana

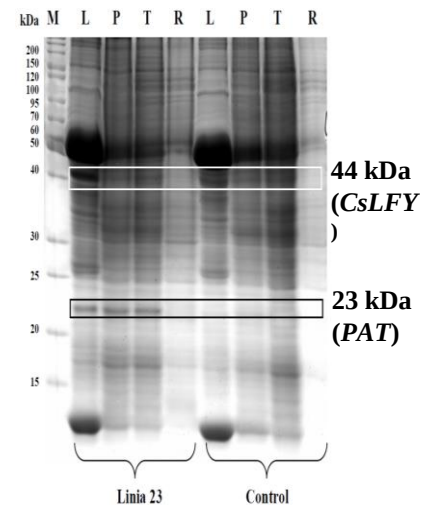
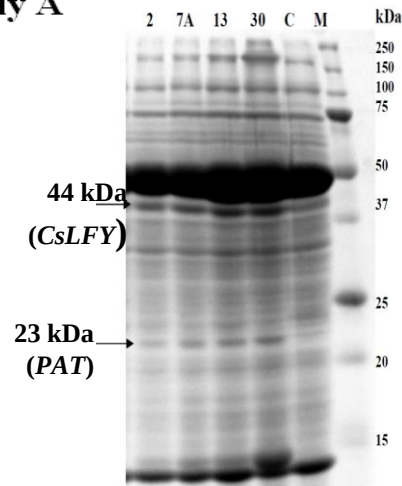
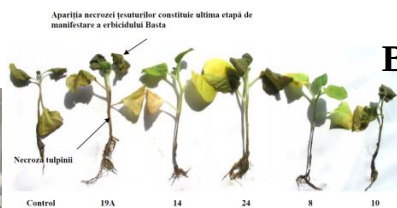
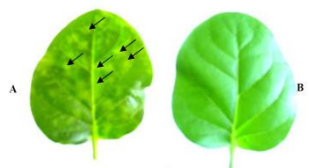
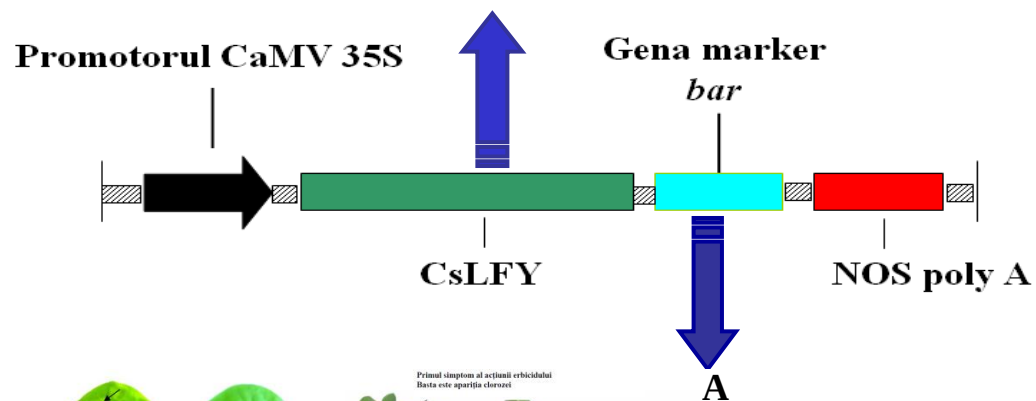
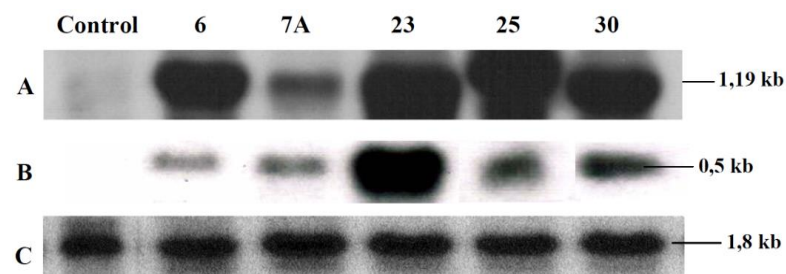
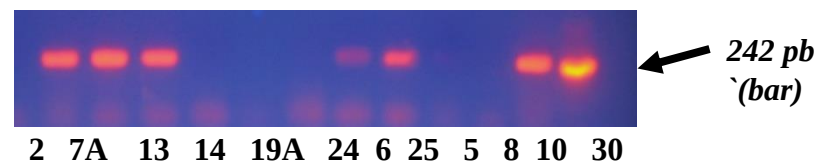
Elena Bontea
Floarea-soarelui, 1965



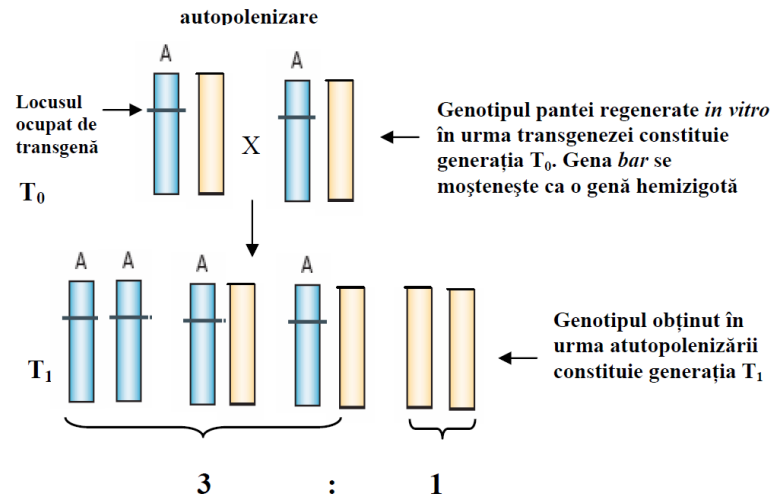
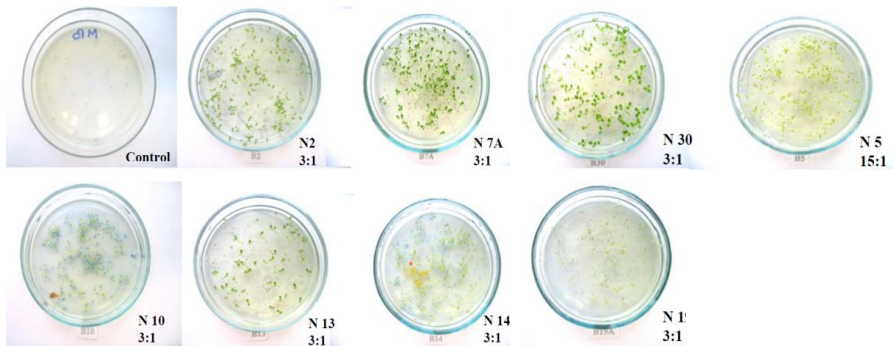
IDENTIFICAREA TRANSGENELOR



Atestarea prezenței transgenelor la liniile de tutun



MOȘTENIREA GENEI *bar*

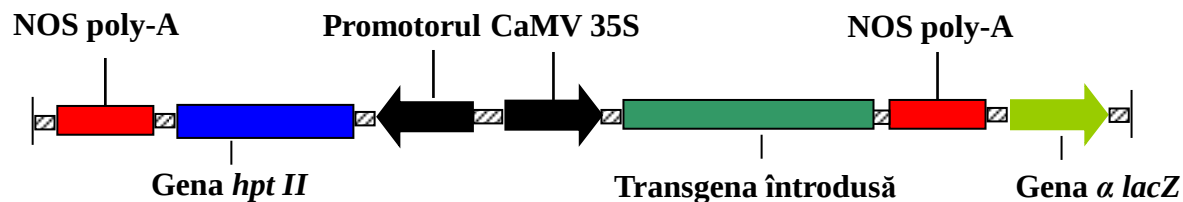


Liniile de tutun la care gena *bar* a manifestat raportul de segregare fenotipic 3:1

Genotip	Numărul de semințe			Raportul de segregare		χ^2
	total	germinate	negerminate	real	teoretic	
2	119	96	23	4,17:1	3:1	2,04
6	123	90	33	2,73:1	3:1	0,22
7A	123	87	36	2,42:1	3:1	1,19
8	127	90	37	2,43:1	3:1	1,16
10	114	90	24	3,75:1	3:1	0,95
13	102	72	30	2,40:1	3:1	1,06
14	186	153	33	4,62:1	3:1	5,23
23	120	102	18	5,67:1	3:1	6,40
25	132	96	36	2,67:1	3:1	0,36
30	108	84	24	3,43:1	3:1	0,44

$\chi^2_{0,05}=3,84$ și $\chi^2_{0,01}=6,63$

SCREENING-UL OMG DUPĂ SECVENȚA NOS-TERMINATOR

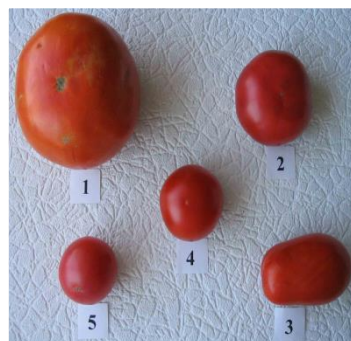
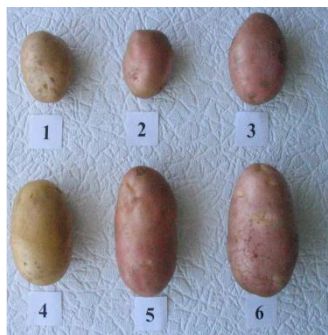


Exemplu de secvență de T-ADN inclusă în genomul tutunului



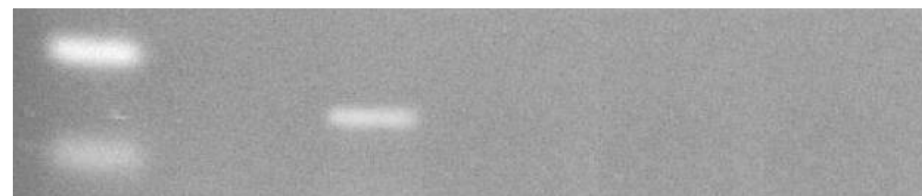
Primer *sens* și *antisens* pentru secvența NOS-terminator

Primer	Secvența nucleotidică	Concentrația	T _m	% GC
Sens	GAATCCTGTTGCCGGTCTT	30 pmol/μl	60,07	52,63
Antisens	TTGCGCGCTATATTTTGT	30 pmol/μl	59,78	33,33



200 pb

100 pb



M 1 2 3 4 5 6 7

Rezultatul screening-ului după secvența NOS-terminator

M – marker, 1 – test negativ, 2 – GA-21 (test pozitiv), 3 – porumb,
4 – tomate „Gloria”, 5 – tomate „Băcioi”, 6 – tomate „Ialoveni”,
7 – cartofi „Irga”

DIRECȚII NOI DE CERCETARE ÎN DOMENIUL GENETICII FIZIOLOGICE

- GENE ȘI REȚELE DE GENE IMPLICATE ÎN TRANSDUCȚIA SEMNALELOR *IN SILICO*

Laboratorul BIOINFORMATICĂ

- SEMNALIZAREA RETRO- ȘI ANTEROGRADĂ LA INTERACȚIUNEA NUCLEU-MITOCONDRII

Laboratorul GENOMICĂ

- MECANISME GENETICO-MOLECULARE DE INTERACȚIUNE ÎN CADRUL DIFERITOR PATOSISTEME

Laboratorul PROTEOMICĂ

- POLIMORFISMUL GENETIC LA DIVERSE CULTURI AGRICOLE ȘI PLANTE DIN FLORA SPONTANĂ A RM

Temă nefinanțată, Catedra BIOLOGIE

PRODUCĂTORI

*Recomandări obținere de hibrizi rezistenți;
strategii de prevenire a infecției*

LIMAGRAIN

AGROSELECT

CBM, UnAȘM
Cercetări fundamentale

MOLECULAR

Profile genetice SSR, ISSR
Expresia genelor *Real-Time PCR*

fiziologice

histologice

biochimice

morfologice

genetice

sociologice

observații

CELULAR

Analize citologice și histologice
Microscopie optică și electronică

ORGAN

Activitatea enzimatică
SOD, PAL, PPO

ORGANISM

Integrarea datelor
Rețele de gene, rețele proteice

POPULAȚIONAL

Distribuția geografică a raselor *O. cumana Wallr.*
Variabilitatea intra- și interpopulațională

***Mulțumesc
pentru atenție !***