



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOSDRU



USAMV
IAȘI

REZUMAT

Datorită numeroaselor sale utilizări, rapița (*Brassica napus* L) este o plantă cu o importanță economică ridicată, iar în prezent este cea de-a treia sursă de ulei după soia și palmier (Snowdon și colab., 2007).

Teza de doctorat cu titlul „*Utilizarea markerilor moleculari pentru identificarea unor surse de germoplasmă la rapiță (Brassica napus L.) cu rezistență genetică la Verticillium sp.*” este structurată în două părți și cuprinde șapte capitole.

Prima parte prezintă studiul bibliografic și cuprinde descrierea speciei *Brassica napus* și a agentului patogen *Verticillium longisporum*, precum și aspecte generale privind metodele moderne utilizate în ameliorarea rapiței.

Partea a doua cuprinde o prezentare a cadrului natural și instituțional în care s-au desfășurat cercetările, materialul, metoda de cercetare și rezultatele proprii.

Capitolul I – **Considerații generale privind importanța și cultivarea rapiței de toamnă** – cuprinde o amplă documentare referitoare la istoricul, originea, importanța, morfologia și tehnologia de cultivare a rapiței.

Rapița (*Brassica napus* L) este o specie amfidiploidă care a apărut în urmă cu câteva sute de ani prin hibridarea spontană între varza sălbatică (*Brassica oleracea* L) și nap (*Brassica rapa* L.). Aceasta a devenit una din cele mai cultivate plante uleioase, datorită utilizării uleiului în diferite sectoare cum ar fi alimentația oamenilor, ca sursă alternativă de biocombustibil sau ca materie primă în industria chimică. De asemenea, șroturile rezultate în urma extagerii uleiului sunt utilizate în nutriția animalelor fiind considerate surse importante de proteine.

Capitolul II – **Descrierea agentului patogen *Verticillium longisporum*** –cuprinde o amplă documentare referitoare la morfologia agentului patogen, ciclul de viață, simptomele modul de transmitere a bolii și pagubele produse în cultură.

Capitolul III - **Utilizarea metodelor moderne în ameliorarea rapiței** – este dedicat unei prezentări succinte ale principalelor metode moderne utilizate în programele de ameliorare



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOS DRU



USAMV
IAȘI

a rapiței cu referiri accentuate pe problematica rezistenței rapiței la agentul patogen *V. longisporum*.

Capitolul IV este destinat descrierii cadrului natural și instituțional unde s-au desfășurat cercetările. Acest capitol cuprinde informații cu privire la relieful, vegetația și solul din zona stațiunii SCDA Secuieni, caracterizarea condițiilor climatice din anul experimentării, precum și stuctura laboratorului LECOM.

În capitolul V sunt descrise obiectivele urmărite, materialul și metoda de cercetare.

Cercetările realizate în cadrul tezei de doctorat au avut ca scop identificarea unor surse de germoplasmă de rapiță (*Brassica napus* L.) cu rezistență genetică la atacul agentului patogen *Verticillium longisporum*, folosind tehnici bazate pe markeri moleculari.

Pentru îndeplinirea scopului cercetărilor, s-au urmărit o serie de obiective:

- evaluarea fenotipică a materialului biologic, prin analizarea principalelor caractere morfologice în câmp: înălțimea plantelor, numărul de ramificații, numărul de silicve pe plantă și MMB (masa a 1000 de boabe);

- caracterizarea genetică a 130 de linii și soiuri de rapiță de toamnă provenite de la Centrul de Resurse Genetice din Olanda (Centre for Genetic Resources Netherlands – CGN) prin utilizarea markerilor moleculari RAPD și SSR și generarea unor dendrograme cu scopul determinării similarității genetice între aceste linii;

- identificarea cultivarelor sensibile/tolerante la boala produsă de agentul patogen *V. longisporum*;

- stabilirea corelațiilor existente între structura genetică și comportarea fenotipică prin markeri moleculari SSR, întocmirea harților genetice și identificarea QTL (Quantitative Traits Loci);

Tot în cadrul acestui capitol sunt prezentate și informațiile referitoare la tehnicile și metode de lucru în câmp și în laborator. Astfel sunt descrise protocoalele de lucru folosite în cadrul tehnicilor bazate pe markeri moleculari precum și metoda de infecție artificială a plantelor de rapiță cu agentul patogen *V. longisporum*.

Capitolul VI – **Rezultate și discuții** prezintă rezultatele obținute în urma activității de cercetare realizată pe durata studiilor doctorale.

Acesta este structurat în mai multe subcapitole și prezintă rezultatele obținute în urma evaluării fenotipice a materialului biologic prin studierea principalelor caractere morfologice, aplicarea tehnicilor bazate pe markeri moleculari pentru evaluarea genetică, inocularea artificială



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOSDRU



USAMV
IAȘI

cu agentul patogen *V. longisporum*, stabilirea corelațiilor existente între datele fenotipice și cele genotipice.

În urma evaluării fenotipice a celor 130 de cultivare de rapiță studiate s-a constatat că:

- înălțimea plantelor a înregistrat valori cuprinse între 144,97 cm și 59,99 cm cu o valoare medie de 84,98 cm;

- numărul mediu de silicve pe plantă a variat între 1283 și 115 silicve pe plantă cu o medie de 394 silicve;

- numărul de ramificații pe plantă s-a situat între 13,67 și 4 ramificații pe plantă cu o valoare medie de 8,49 ramificații;

- MMB a avut valori cuprinse între 7,29 gr și 3,24 gr cu o medie de 4,95 grame.

Pentru evaluarea fenotipică a materialului biologic studiat s-au utilizat tehnicile RAPD și SSR. În cazul analizei RAPD s-au folosit 20 de primeri decamerici care au amplificat 301 de fragmente. Nivelul de polimorfism în acest caz a fost între 29 și 90%.

Pentru analiza SSR, s-au utilizat un număr de 51 de markeri specifici care au amplificat un număr de 139 fragmente, nivelul de polimorfism fiind de 100 %.

Pe baza datelor obținute de la fiecare metodă s-a calculat similaritatea genetică (GS) dintre genotipurile analizate care s-a concretizat în două matrici care au stat la baza generării dendrogramei RAPD și SSR. Prin corelarea celor două matrici cu testul Mantel, s-a generat și cea de-a treia dendrogramă (RAPD +SSR).

În urma analizelor celor trei dendrograme obținute s-a constatat că, între cultivarele analizate este o variabilitate genetică mare.

În cadrul dendrogramei RAPD, cele 130 de cultivare s-au grupat în șase clustere, iar coeficientul de similaritate genetică a avut valori între 0,51 și 0,89;

La dendrograma SSR, genotipurile studiate s-au grupat în zece clustere, coeficientul de similaritate fiind între 0,61 și 0,89;

În cazul dendrogramei RAPD și SSR s-au format 4 clustere, coeficientul de similaritate fiind 0,61 și 0,89. În cazul acestei dendrograme s-a constatat că, în primul cluster cultivarele „Libritta”, „Skiverskii”, „Lingora” și „Blagodatny”, care în urma infecției artificiale cu *V. longisporum*, au dovedit o rezistență mai mare, sunt grupate într-un subcluster ceea ce poate fi util în studii viitoare la alegerea genitorilor pentru hibridări.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOSDRU



USAMV
IASI

În urma evaluării rezistenței genotipurilor studiate la atacul cu *V. longisporum*, s-au identificat 21 de cultivare cu o rezistență mai mare decât a soiului tolerant „Express” folosit ca martor în testele de infecție.

Prin corelarea datelor fenotipice obținute în urma infecției artificiale cu *V. longisporum* și a datelor obținute prin aplicarea tehnicii SSR s-au identificat 18 markeri SSR asociați cu rezistența acestora la *V. longisporum*.

Datele genotipice obținute în urma analizării celor 139 de fragmente amplificate cu 51 de markeri SSR au fost utilizate la alcătuirea unei hărți genetice a genotipurilor analizate.

Harta genetică cuprinde 19 grupuri linkage și are o lungime totală de 520,3 cM. În cadrul acesteia, mărimea medie a unui cromozom a fost de 26 cM (centimorgani), iar distanța medie între markerii moleculari a fost de 10 cM.

Cel mai mare grup linkage a fost LG 1, format din 5 markeri pentru SSR și cu o lungime de 57.7 cM. Cel mai scurt grup linkage a fost LG4, cu lungime de 12,6 cM format doar din 2 markeri SSR.

Cu ajutorul datelor genotipice obținute prin analizarea fragmentelor SSR și a datelor fenotipice reprezentate de valorile AUDPC rezultate în urma infecției pentru fiecare cultivar, s-a identificat un QTL pentru rezistența la *V. longisporum*. Acesta este poziționat cromozomul 1 având un scor LOD de 3,4 și cu o valoare R² de 11,4%.

În finalul tezei de doctorat sunt prezentate concluziile generale și referințele bibliografice studiate.

Cuvinte cheie: markeri moleculari, *Verticillium longisporum*, rezistență.