

## **RAPORT PRIVIND VOLUMUL ȘI STRUCTURA MATERIALULUI BIOLOGIC MULTIPLICAT (CO, P2)**

Multiplacarea materialului s-a realizat atât în câmpul experimental (CO, P2), cât și în cadrul laboratorului de culturi de țesuturi (CO) și a fost necesar pentru asigurarea stocului de tuberculi destinați pentru estimarea rezistenței la infecțiile cu tulpini necrotice PVY a genotipurilor studiate în cadrul proiectului. Prezentul raport a fost întocmit ca urmare a activității A II.2.2. (multiplicare material biologic necesar teste).

### **1. Multiplicare material biologic necesar teste la COORDONATOR**

#### **a) Multiplicare material biologic – câmp experimental (CO)**

Genotipurile multiplicare pentru obținerea stocului de controale negative și pozitive au fost: Riviera, Bellarosa, Jelly, Carrera, Red Lady, Red Fantasy, Hermes Christian, Roclas, Albastru Violet de Galanesti, Desire, Productiv și linii de ameliorare INCDCSZ Brasov 1791/1; 1876/1; 1871/1; 1871/4.

La plantare s-a utilizat atât material certificat, cât și material provenit de la fermieri și amelioratori.

Pentru obținerea materialului sănătos, principala operație tehnologică realizată în această activitate a fost eliminarea plantelor infectate (cu virusuri sau alți patogeni). Tuberculii sau plantele deja infectate cu unul sau mai multe virusuri sunt improprie utilizării lor la stabilirea rezistenței la infecțiile virale, creând probleme serioase în acest proces. De aceea, este necesar material curat purificat, care se poate obține prin 2-3 lucrări de purificare sau de eliminare a plantelor care manifestă diverse simptome de infecție (cu virusuri sau boli) pe foliajul plantelor răsărite. Eliminarea plantelor infectate sau lucrarea de purificare s-a făcut pentru fiecare din cele două grupe de tulpini virale pentru care urmează a se stabili rezistența la infecție în condiții de câmp. Pentru fiecare variantă în parte s-a făcut o evaluare (bonitare) vizuală a tuturor plantelor, s-au notat plantele infectate cu simptome de mozaic grav, mozaic ușor, strict răsucire, plante filioase, plante cu simptome de *Ryzoctonia solani*. Lucrările de eliminare a plantelor sau purificarea s-au făcut de 3 ori: prima dată imediat după răsărirea plantelor și evidențierea simptomelor pe foliaj, a doua oară la înbobocire, iar a treia oară la înflorit (pentru a îndepărta eventualele plante străine soiului).

Aceste lucrări de purificare s-au făcut și pentru obținerea controalelor pozitive, respectiv a surselor de infecție (pentru fiecare din cele două grupe de tulpini virale), infectori care vor fi plantați în viitor alături de genotipurile luate în studiu.

De la materialele rămase (linii de amelioare și soiuri de cartof, la maturitate) s-au recoltat probe de cartof, respectiv câte 2 tuberculi de la fiecare cuib, de la fiecare variantă, de la fiecare din cele două tipuri de tulpini PVY, rezultând un număr de 400 de probe de tuberculi care vor constitui materialul pentru anul doi al ciclului sau pentru câmpul de postcontrol, pe baza căruia se vor stabili frecvența infecțiilor realizate și respectiv nota de rezistență pentru următorul ciclu de testare.

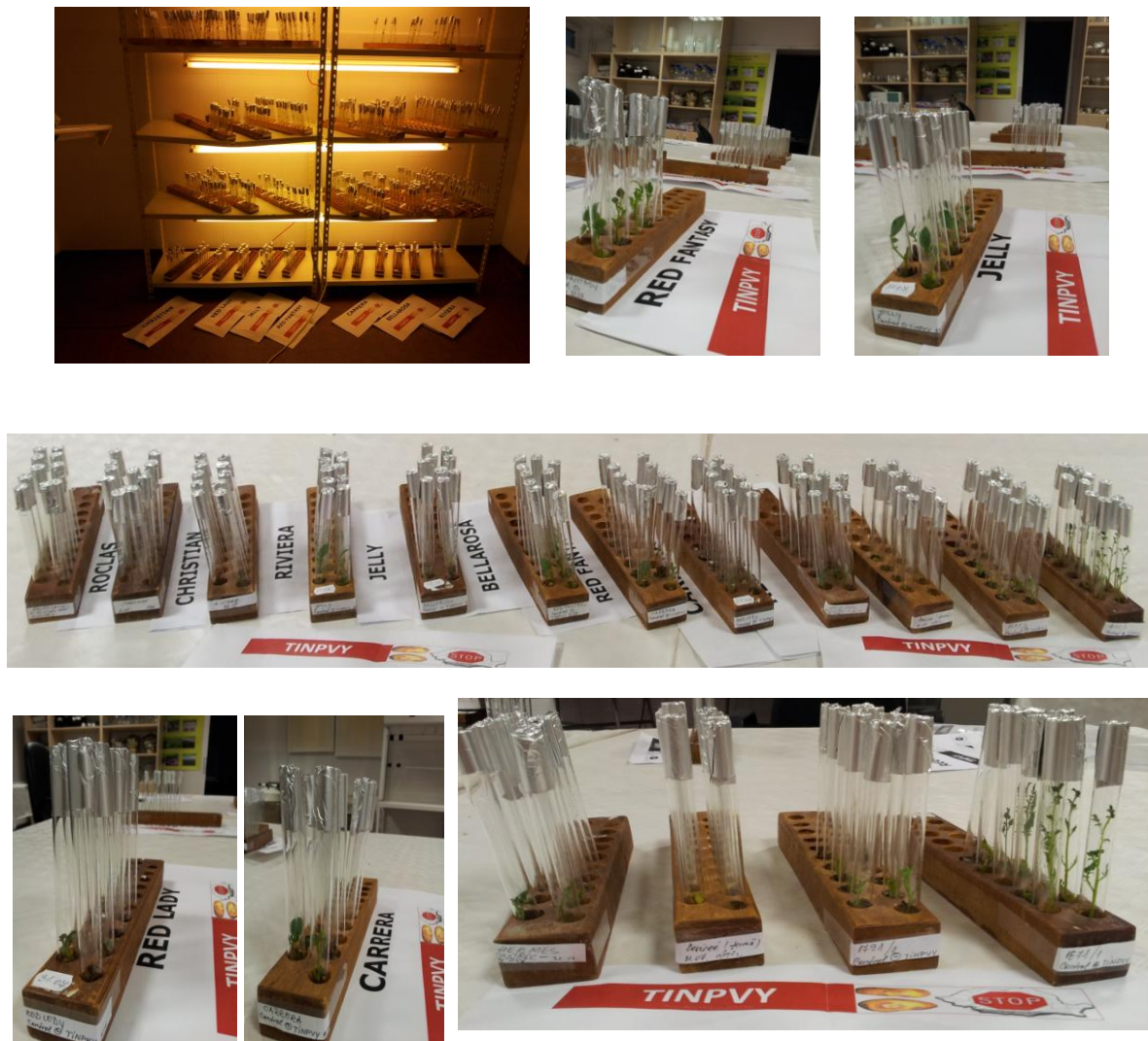
Probele de tuberculi s-au recoltat în lădițe, s-au identificat, numerotat și etichetat pe variante și grupe de tulpini PVY. Lădițele cu probe s-au transportat în depozitul de păstrare cu ventilație mecanică, au fost așezate și stivuite pe boxpaleți astfel încât păstrarea să se desfășoare în condiții bune.

De asemenea, pentru a putea continua experimentarea în anii următori din câmpul de menținere și înmulțire a surselor de virus, s-au recoltat și păstrat sursele de infecție necesare și anume: 15 kg tuberculi din soiul Hermes infectați cu grupul de tulpini PVY<sup>N</sup> și 80 kg din liniile de ameliorare utilizate ca și infectori (genotipuri INCDCSZ Brasov 1791/1; 1876/1; 1871/4 și de la partener P2 genotipul TS 11-1468-1633). Aceste cantități s-au depozitat în lădițe și s-au introdus la păstrare în același condiții de depozitare cu probele de tuberculi sănătoși, dar în spații izolate.

**b) Multiplicare material biologic (obținere vitroplante și inițiere microtuberizare)**

Scopul acestei activități a fost **obținerea de vitroplante și inițierea procesului de obținere microtuberculi sănătoși**, alcătuirea loturilor de plante de cartof libere de virusuri (controale negative). Genotipurile multiplicare pentru obținerea stocului de controale negative au fost: Riviera, Bellarosa, Jelly, Carrera, Red Lady, Red Fantasy, Hermes, Christian, Roclas, Albastru Violet de Galanesti, Desire, Productiv, linii de ameliorare INCDCSZ Brasov 1791/1; 1876/1; 1871/1; 1871/4 și linia de ameliorare Târgu Secuiesc TS 11-1468-1633.

Multiplicarea cartofului *in vitro* s-a dovedit a fi o tehnică foarte eficientă pentru accelerarea producerii de plantule sănătoase. Atunci când sunt îndeplinite condițiile de regenerare, de dezvoltare, se poate iniția cu ușurință tuberizarea *in vitro*. Adăugarea de regulatori de creștere, aportul de zahăr în cantitate suficientă cât să asigure necesarul de carbon pentru inițierea și dezvoltarea de microtuberculi, constituie o modalitate bună de a reduce timpul de micropropagare și de a crește numărul de plantule. Fragmentele uninodale de la vitroplantele multiplicare (fig. 1), au fost inoculate în recipiente care conțin un mediu MS agarizat, suplimentat cu ANA (0,5 mg), concentrația zahărului a fost de 3%, pH-ul a fost ajustat la 5,6-5,8 (înaintea sterilizării mediului de cultură în autoclav, la o temperatură de 121<sup>0</sup>C, timp de 20 min). Vasele de cultură conținând câte 15 microbutași/vas, au fost transferate în camera la creștere (fotoperioda fiind de 16 h, iar temperatura de 20<sup>0</sup>C) (fig.2B).



**Figura 1.** Aspecte din camera de creștere (multiplicare material biologic). Vitroplante pe mediu MS necesare pentru multiplicarea controalelor negative.



A

B

**Figura 2.** (A) Microbutași din soiuri cu rezistență diferită la infecția cu PVY(N) din care s-au obținut fragmentele uninodale pentru multiplicare subcultura 1. (B) Cutii în camera de creștere (subcultura 2).

După transformarea microbutașilor în plantule dezvoltate (3-4 săptămâni) s-a aplicat mediul lichid, specific de microtuberizare, la care s-a adăugat zahăr în concentrație mai ridicată (8%), iar ca



regulatori de creștere – cumarina și kinetina; pH-ul a fost ajustat la 5,8. După aplicarea mediului lichid, vasele de cultură au fost incubate într-o cameră specifică de microtuberizare, la întuneric (pentru o perioadă de 8-10 săptămâni).

## **2. Multiplicare material biologic necesar teste la PARTENER 2**

Multiplicarea materialului s-a realizat în lotul experimental din apropierea localității Târgu Secuiesc, Covasna, lot neirigat, tipul de sol fiind cernoziom cambic: P – 15,9 %, K – 30,6 %, humus – 3,9 %, pH – 6,2.

Pentru realizarea activității s-a aplicat următoarea **tehnologie de cultură pentru lotul experimental:**

1. Cultură premergătoare: grâu;
2. Schema experimentală: distanța între rânduri: 75 cm;  
distanța între plante pe rând: 25 cm;  
500 plante/experiență;
3. Starea fiziologică a seminței: foarte bună;
4. Tratamente înainte de plantare: după încolțire/înainte de încolțire/tratamente chimice – nu;
5. Pregătirea solului: 17.04.2015;
6. Tipul de mașină: combinator + freză;
7. Număr de operații: 2;
8. Fertilizare înainte de plantare 17.04.2015 – 550 kg îngrășământ complex;
9. Starea solului la plantare: uscat, textură fină;
10. Data plantării: 20.04.2015;
11. Adâncimea de plantare: 5 cm adâncime;
12. Tipul plantării: manual;
13. Fertilizare după de plantare 19.05.2015 – 200 kg/ ha nitrocalcar;
14. Practici culturale:
  - a) Rebilonat: 19.05. 2015;
  - b) Tratamente chimice împotriva buruienilor, bolilor și dăunătorilor:
15. Recoltat cartof: 19.09.2015

### Tratamente aplicate

TIP TRATAMENT	DATA	PRODUSUL	DOZĂ / ha
Buruieni	20.05.2015	Sencor	0,9 l / ha
<i>Phytophthora infestans</i>	02.06.2015	Armetil M	2,5 kg / ha
<i>Phytophthora infestans</i>	12.06.2015	Consento	2,0 l / ha
Gândacul din Colorado	12.06.2015	Talent	0,3 l / ha
Buruieni	18.06.2015	Titus 25 DF	50 g / ha
<i>Phytophthora infestans</i>	24.06.2015	Armetil M	2,5 kg / ha
<i>Phytophthora infestans</i>	24.06.2015	Ranman	0,2 l / ha
Gândacul din Colorado	03.07.2015	Dantop	35 g / ha
<i>Phytophthora infestans</i>	07.07.2015	Curzate Manox	2,5 kg / ha
Gândacul din Colorado	07.07.2015	Zebra	0,2 l / ha
<i>Phytophthora infestans</i>	15.07.2015	Acrobat	2,0 kg / ha

### Evaluarea liniilor/soiurilor create la S.C.D.C. Târgu Secuiesc

Nr. crt.	Linia/Soiul	Maturitate	Mărime tuberculi	Uniformitate	Râie comună	Bonitatea tuberculilor			Impresie generală	
						Forma	Culoarea			Adâncime ochi
							Coaja	Pulpă		
1	TS11-1468-1633	5	7	9	9	lov	Alb	3	1	9
2	TS12-1497-1573	5	7	9	9	lov	Alb	2	1	9
3	TS12-1489-1574	5	5	9	9	lov	Roșu	4	3	5
4	Productiv	3	7	9	9	lov	Alb	4	3	9

<b>Maturitate</b> (9 - 1)	9 = foarte timpuriu	7 = timpuriu	5 = mediu timpuriu	3 = târziu	1 = foarte târziu
<b>Producție la ha</b> (9 - 1)	9 = foarte ridicată	7 = ridicată	5 = medie	3 = scăzută	1 = foarte scăzută
<b>Forma tubercul</b>	r = rotundă	rov = rotund-ovală	ov = ovală	lov = lung-ovală	lg = lunguiață
<b>Calitate coajă</b> (9 - 1)	9 = foarte netedă	7 = netedă	5 = ușor netedă	3 = ușor rugoasă	1 = rugoasă
<b>Mărime tubercul</b> (9 - 1)	9 = foarte mare	7 = mare	5 = medie	3 = mică	1 = foarte mică
<b>Uniformitate tuberc.</b> (9 - 1)	9 = foarte uniformi	7 = ușor neuniformi	5 = mediu uniformi	3 = neuniformi	1 = foarte neuniformi
<b>Râie comună</b> (9 - 1)	9 = fără infestare	7 = atac ușor	5 = atac mediu	3 = atac puternic	1 = atac foarte puternic
<b>Impresie generală</b> (9 - 1)	9 = foarte bună	7 = bună	5 = medie	3 = proastă	1 = foarte proastă
<b>Culoare pulpă</b> (1-4)	4 = galben mediu	3 = galben deschis	2 = crem	1 = albă	
<b>Adâncime ochi</b> (1-9)	9 = foarte adânci	7 = adânci	5 = mediu adânci	3 = puțin adânci	1 = la suprafață

### Evaluarea producției liniilor/soiurilor create la S.C.D.C. Târgu Secuiesc

Nr. crt.	Linia/Soiul	Culoare floare	Viroze total %	Prod. total t/ha	Tuberculi mari (t/ha)	Tuberculi mijlocii (t/ha)	Tuberculi mici (t/ha)
1	TS11-1468-1633	Alb	19,16	32,31	4,71	20,40	7,20
2	TS12-1497-1573	Alb	5,3	54,83	14,53	31,46	8,84
3	TS12-1489-1574	Alb	11,86	42,38	7,06	28,75	6,57
4	Productiv	Mov	4,2	42,5	15,9	45,5	38,6



**Figura 1.** Aspecte din câmpul experimental. Genotipuri multiplicare în cadrul activității A II. 2 la SCDC Târgu Secuiesc (P2).