

RAPORT ȘTIINȚIFIC ȘI TEHNIC –ETAPA 2/2015

Obiectivul etapei: efectuarea testelor virotice la probele prelevate din zonele țintă, realizarea stocului de material biologic care va fi utilizat pentru identificarea (în etapele viitoare) de izolate necrotice PVY, realizarea experiențelor în câmp și spații protejate, achiziția de date necesare pentru completarea bazei de date georeferențiate, aprecierea statusului infecției virotice în zonele țintă, evaluarea incidenței tulpinilor necrotice PVY la genotipurile de cartof luate în studiu în vederea identificării soiurilor cu rezistență ridicată față de acest patogen, diseminarea rezultatelor parțiale.

Rezultate: material biologic multiplicat (controale pozitive și negative), realizarea loturilor experimentale, baza de date actualizată, studii referitoare la rezistența și reacția la infecția cu tulpini necrotice ale virusului Y al cartofului la unele genotipuri de cartof, modele hărți favorabilitate și de risc, domeniu detaliat pe pagina de web a CO (conținând informațiile de la parteneri, toate rezultatele obținute și link-urile utile), articole popularizare și științifice.

REZUMATUL ETAPEI

În această etapă, în urma derulării activității A II.1, partenerii CO și P1 au efectuat teste virotice la probele de cartof (tuberculi) prelevate în anul 2014 (3400 teste ELISA și 250 teste PCR) și probe (frunze) prelevate în 2015 (2800 teste ELISA).

În cadrul activității A II.2 partenerii CO și P2 au multiplicat material biologic atât în cadrul loturilor experimentale, cât și prin culturi de țesuturi, în vederea obținerii de controale negative și pozitive pentru activitățile viitoare ale proiectului.

Activitatea A II.3 a vizat realizarea loturilor experimentale, acestea fiind înființate la toți partenerii din consorțiu cu excepția partenerului P1. O parte din materialul biologic (cartof pentru sămânță) utilizat pentru această activitate a fost asigurată de către cofinanțator (partenerul P3).

Pentru activitatea A II.4, toți partenerii au achiziționat date pedoclimatice (suma precipitații, temperatura medie, tipuri de sol) specifice zonelor țintă Brașov, Harghita, Covasna și Cluj. Datele colectate sunt detaliate într-o bază de date care există la CO. S-a realizat și monitorizarea vectorilor (afidele vectoare) în zonele țintă, constatându-se că specia *Myzus persicae* considerată ca fiind specia cu cea mai mare capacitate vectoare față de virusul Y al cartofului (PVY) a avut o abundență scăzută, activitatea ei începând foarte devreme, în a doua decada a lunii mai. Foarte interesant a fost faptul că specia nu a apărut în capturile lunii iunie, dar a fost prezentă în luna iulie (așa cum este specificul activității acestei specii) și în prima decadă a lunii august. O specie foarte abundentă în culturile de cartof din cele patru zone a fost *P. humuli*. În ultimii ani afidologii plasează această specie pe lista celor cu potențial vector în culturile de cartof pentru sămânță iar numărul foarte mare de indivizi capturați într-o perioadă de vegetație face să crească mult riscul virozării culturilor cu PVY.

Evaluarea rezistenței genotipurilor studiate la infecția cu izolate necrotice PVY în condiții de infecție provocată a fost realizată în cadrul activității A II.5 de către partenerii CO, P1 și P2 (rezultatele sunt detaliate în materialul postat pe site-ul proiectului).

În cadrul activității A II.6, din diferite regiuni geografice (zone țintă) au fost prelevate probe de cartofi (tuberculi). Fiecare probă a fost etichetată (etichetă pe care au fost marcate soiul, categoria biologică și locația) și însoțită de o fișă tip completată cu date referitoare la sol, material de plantat, tehnologie, fenologie și harta APIA. Pentru testarea virotică și identificarea eventualei prezențe a agentului patogen în anul 2015, din zona Brașov, CO a prelevat 14 probe de la 8 producători (din Brașov, Stupini, Harman, Ghimbav, Codlea și Făgăraș), tuberculii fiind prelevați din soiurile care vor fi studiate pe parcursul derulării proiectului. Cele 24 de probe din județul Covasna (din Sânzieni, Sfântu Gheorghe, Zăbala, Târgu Secuiesc, Cernat) au fost prelevate de către P2 și P3 și au provenit de la 11 producători. Din zona Harghita (Sâncrăieni, Miercurea Ciuc, Ciceu), tot în cadrul activității A II.6, partenerul P3 a prelevat 11 probe (7 soiuri) de la 5 producători. Partenerul P1 a prelevat din zona Cluj (Viișoara, Viișoara Lunca Arieșului, Aiton, Râscruci, Pădureni) 8 probe (4 soiuri) de la 4 fermieri.

În cadrul activității A II.7, CO a realizat primele hărți de favorabilitate și risc (rezultate preliminare postate pe site). Diseminarea rezultatelor s-a făcut prin 3 articole de popularizare și 1 articol științific (B+), prin publicarea a 2 capitole într-o carte și prin participare la 7 conferințe internaționale (postere și prezentări orale).

DESCRIEREA ȘTIINȚIFICĂ ȘI TEHNICĂ A ACTIVITĂȚILOR DIN ETAPA II / 2015

Activitate II.1. Efectuare probe virotice specifice (probe prelevate din tuberculi și colți material recoltat 2014 și frunze prelevate 2015)(CO, P1)

Pentru efectuarea probelor virotice s-a folosit tehnica DAS ELISA, urmând protocolul stabilit de Clark și Adams (1987), cu precizarea că pentru testarea tuberculilor recoltați în 2014 s-a folosit prelevarea sucului din colți și direct din tuberculi (fig. 1.1.), iar pentru testarea materialului prelevat în 2015, suc a fost extras fie direct din frunze cu ajutorul preseii cu role, fig. 1.1.), fie cu ajutorul unui omogenizator manual cu bile (fig. 1.1.).

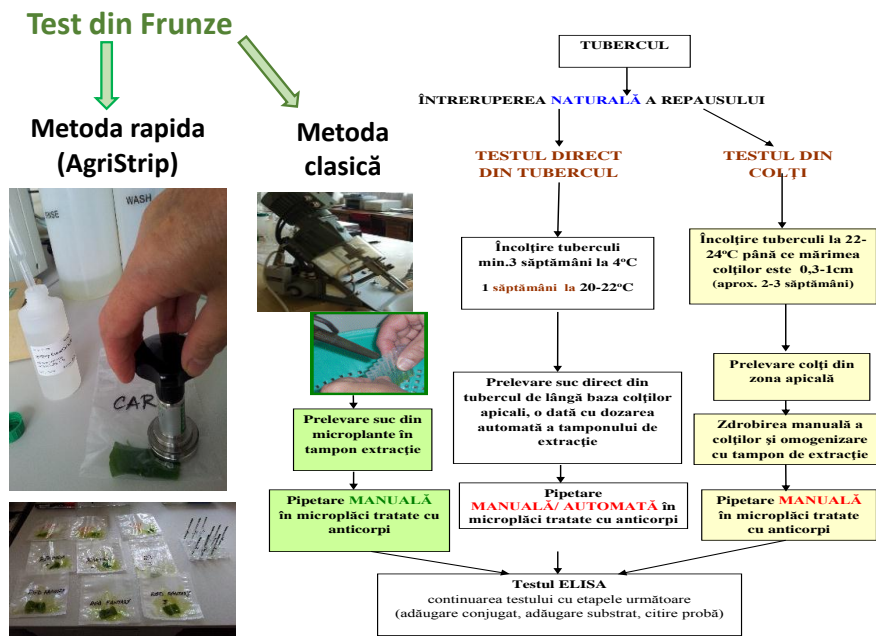


Figura 1.1. Modalitățile de prelevare a extractului pentru testarea virotica la cartofi (testul ELISA).

Probele din frunze au fost prelevate în lunile iunie și iulie atât din loturile experimentale realizate de către CO, P2 și P3 cât și din unele zone din care au fost colectate și probele de tuberculi în 2014. Aceste probe au fost prelevate în ambalaje specifice, la fiecare probă a fost atașată o etichetă pe care s-a precizat soiul și locația, sola (codificarea parcelei din harta APIA) de unde au fost recoltați. Fiecare probă a fost însoțită de o fișă tip completată, document care conține date referitoare la locație, sol, material de plantat, tehnologie, fenologie și harta APIA. În cazul în care s-au prelevat probe de la fermieri ale căror unități au sediul în aceeași localitate, aceștia au fost codificați diferit. În tabelele și bazele de date care vor fi raportate, din motive de confidențialitate, numele unităților nu va fi precizat, ci numai locația (codul parcelei -harta APIA-din care s-au prelevat tuberculii). Locațiile, coordonatele solilor sunt detaliate în proiectul GIS și baza de date georeferențiate.

Pentru alegerea probelor infectate cu virusul Y în loturile experimentale desfășurate pe suprafețe mai mari de 0,5ha au fost utilizate și kit-uri de identificare rapidă (AgriStrip 112983 Bioreba, Elveția). Acestea au permis diagnosticarea probelor virozate direct la producători, fără a fi necesare echipamentele de laborator pentru tehnica ELISA.

Toate soluțiile tampon (de spălare, de diluare IgG, conjugat, tampon substrat) au fost preparate în cadrul laboratorului de virologie. Tot în cadrul INCDCSZ Brașov au fost obținute și IgG și conjugatul (kit-urile necesare pentru diagnosticarea virusurilor X, S, M, Y). Pentru testarea virusurilor A și virusul răsucirii frunzelor s-au folosit kit-uri provenite de la Bioreba (Elveția), iar diluțiile folosite în cazul tuturor virusurilor au fost 1:1000, cu excepția testării virusurilor X și S, caz în care diluția a fost de 1:1500. Citirea absorbanțelor la 405nm s-a făcut cu ajutorul cititorului Tecan (software Magellan), iar valoarea cut-off s-a calculat prin dublarea mediei valorilor obținute pentru controalele negative.

Probele prelevate au fost testate pentru toate cele 6 virusuri pentru a păstra materialul infectat cu PVY. Numai acest material a fost ulterior testat pentru a identifica probele infectate cu virusul Y, tulpini necrotice. Materialul diagnosticat ca fiind infectat cu PVY a fost retestat utilizând anticorpi monoclonali (mAb) sau polioclonali (PCA). Plăcile au fost captușite cu anti PVY-NOC mAb (210369, Bioreba,

Elveția, anticorpi care recunosc toate tulpinile Y cu excepția celor comune PVY⁰) și PVY a fost detectat utilizând fosfatază alcalina (PA) cuplată la anti -PVY-NOC mAb (191073, Bioreba, specific pentru tulpinile Y^N) sau cuplată la anti-PVY-NOC mAb (210369, Bioreba). Pentru identificarea tulpinilor PVY -Ob, căpșuirea plăcilor s-a efectuat utilizând anticorpi policlonali (PCA) împotriva PVY-Ob (PCA 768, ACW, Changins, Nyon) și identificarea s-a realizat cu anti-PVY-Ob mAb (mAb 768, ACW Changins, Nyon) cuplat cu PA.

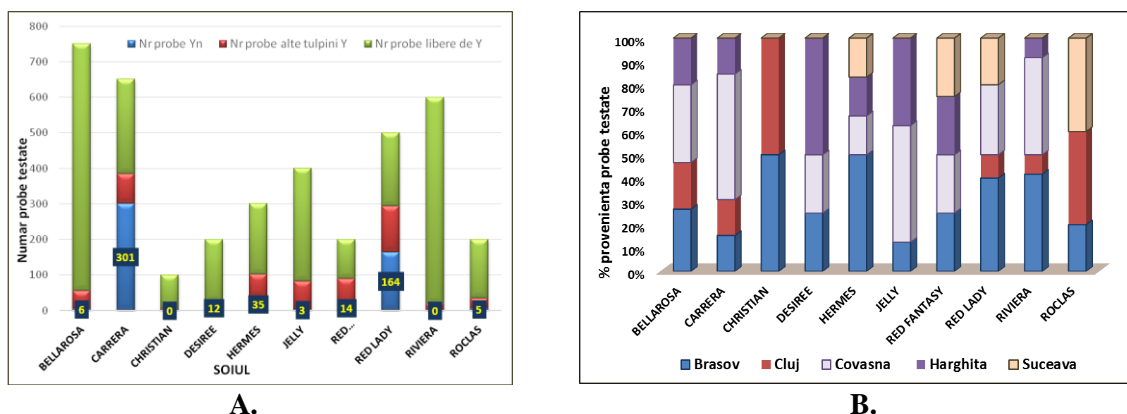


Figura 1.2. Numărul de probe infectate cu virusul Y al cartofului (tulpini necrotice) - materialul prelevat în 2014 provenit din diferite soiuri preferate de cultivatori și fermieri (A). Proveniența soiurilor testate (regiunea din care au fost prelevate probele din fiecare soi în 2014) (B).

Unele probe din frunze (infectate cu tulpini necrotice PVY) au fost selectate și conservate prin congelare (-20°C) în pungi de plastic pentru a putea fi utilizate la testele biologice și moleculare.

Rezultatele testelor efectuate sunt sintetizate în figurile 1.2 A & B. Din figura 1.2 A se observă că în cazul probelor prelevate în anul 2014, cel mai ridicat nivel de infecție virotică cu PVY (tulpini necrotice) s-a înregistrat la soiurile Carrera și Red Lady, urmate de Hermes și Red Fantasy.

Pentru a evalua distribuția virusurilor din serotipurile PVY^N și PVY⁰, probele din câmpurile de post control au fost testate prin tehnica DAS ELISA (cu suc extras din frunze). Probele pozitive pentru virusurile PVA, PVM, PVS și PVX au fost eliminate din studiu. În viitor vor fi utilizate doar probele infectate cu Y pentru aplicarea unor metode biologice necesare pentru diferențierea sușelor virale Y (observații privind comportarea plantelor de tutun inoculate doar cu izolate virotice PVY). Numărul probelor infectate cu diferitele sușe virale Y păstrate din câmpurile de post control (pentru activitățile din etapa următoare a proiectului), precum și proveniența lor sunt prezentate în tabelul 1.1.

Tabel 1.1. Frecvența grupurilor de tulpini virale PVY^N și PVY⁰ estimată prin metode serologice (probe din frunze)

	Originea probelor	Nr PVY ^N	%		Originea probelor	Nr PVY ^N	%
PVY ^N (metode serologice)	Brasov	23	49,5%	PVY ⁰ (metode serologice)	Brasov	26	50,5%
	Cluj	30			Cluj	28	
	Covasna	19			Covasna	16	
	Harghita	29			Harghita	26	
	Suceava	30			Suceava	38	
Total PVY^N		131		Total PVY⁰		134	
Total PVYpozitive		264	100%				
Probe eliminate		43					
Total		307					

Activitate II.2. Multiplicare material biologic necesar teste (controale pozitive, negative)

Multiplicarea materialului s-a realizat atât în câmpul experimental, cât și în cadrul laboratorului de culturi de țesuturi 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. Activitatea este detaliată în Raportul privind volumul și structura materialului multiplicat (existent pe site).

a) Multiplicare material biologic – câmp experimental (CO, P2)

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 material provenit de la fermieri și amelioratori.

Principala operație tehnologică realizată în această activitate a fost eliminarea plantelor infectate (cu virusuri sau alți patogeni). Tuberculi sau plantele deja infectate cu unul sau mai multe virusuri sunt improprii 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 filoase cu simptome de *Ryzoctonia solani*. Eliminarea plantelor infectate cu virusuri (infecții secundare) s-a făcut pentru toate genotipurile testate în proiect, iar în cazul în care proporția plantelor infectate a depășit limita de 24 % media pe repetiție, acest lot a fost exclus, deoarece este afectată siguranța de testare. 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 îmbobocire, iar a treia oară la înflorit când s-au îndepărtat și plantele 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 ameliorare 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: de la INCDCSZ Brasov 15 kg tuberculi din soiul Hermes infectați cu grupul de tulpini PVY^N și 80 kg din liniile de ameliorare utilizate ca și infectori (1791/1; 1876/1; 1871/4) și de la partener P2 40kg din soiul Productiv și 80kg din liniile de ameliorare (TS 11-1468-1633; TS 12-1497-1573 și TS 12-1489-1574). 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.



Figura 2.1. (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).

(C) Vitroplante pe mediu MS necesare pentru multiplicarea controalelor negative.

b) Multiplicare material biologic (obținere vitroplante și inițiere microtuberculizare)

Scopul acestei activități a fost obținerea de vitroplante și microtuberculi sănătoși, alcătuirea loturilor de plante de cartof libere de virusuri (controale negative).

Multiplicarea cartofului *in vitro* s-a dovedit a fi o tehnică foarte eficientă pentru a accelera producerea de plantule sănătoase. S-a observat că 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, de a crește numărul de plantule. Fragmentele uninodale 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°C, timp de 20 min). Vasele de cultură conținând câte 15 microbutași/vas, au fost transferate în camera la creștere (fotoperioada fiind de 16 h, iar temperatura de 20°C). 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) (fig. 2.1.).

Activitate II.3. Organizarea și realizarea experiențelor în câmp și spații închise

Achiziționarea probelor de tuberculi, infectorilor (surselor de infecție). Soiurile/genotipurile cultivate în toate cele trei tipuri de loturi experimentale (suprafețe mai mari de 0,5ha, experiențe postcultură, experiențe pentru estimare rezistență la infecția cu izolate necrotice PVY în condiții de infecție provocată) au fost: RIVIERA, BELLAROSA, JELLY, CARRERA, RED LADY, RED FANTASY și HERMES. În spații izolate, pe lângă aceste soiuri s-au mai plantat următoarele genotipuri:

- soiurile Christian, Roclas, Albastru Violet de Galanesti, Desire, Productiv
- linii de ameliorare INCDCSZ Brasov 1791/1; 1876/1; 1871/1; 1871/4
- linii de ameliorare SCDC Targu Secuiesc TS 12-1497-1573; TS 12-1489-1574; TS 11-1468-1633

Probele din soiurile/ genotipurile menționate au provenit din diferite locații din 5 zone geografice țintă (Brașov, Cluj, Harghita, Covasna și Suceava), testate din punct de vedere virotic. La plantare s-a utilizat atât material certificat, cât și material de la amelioratori. Materialul plantat pe suprafețe mai mari de 0,5ha a fost asigurat de cofinanțator (partener P3). Detalii privind această activitate se regăsesc pe site.

Pregătirea materialului pentru plantat, sortarea, numărarea, ambalarea, etichetarea pe linii, soiuri și grupe de tulpini virale PVY. La probele de tuberculi reținute din anul trecut, pentru stabilirea procentului de infecții cu fiecare din cele două grupe de tulpini virale (necrotice și comune) și anume 12 soiuri și 7 linii, pe lângă sortare și ruperea colților, s-au reținut câte 20 tuberculi care s-au introdus în pungi, s-au etichetat, primind totodată și număr de ordine pentru plantarea experimentelor din seră, materialul infectat cu tulpini necrotice fiind reținut și utilizat pentru păstrarea sușelor virale pe plante de tutun. Probele pentru experiențele din anul întâi s-au separat în două, numărându-se câte 10 tuberculi pentru virusul Y^N și 10 pentru virusul Y^O, apoi s-au introdus în pungi și s-au etichetat, scriindu-se pe fiecare denumirea materialului, și proveniența. Aceleași lucrări de sortare, ruperea colților, introducerea în saci și etichetarea s-au efectuat și la tuberculii infectați (soiul Hermes, linia 1791/1, 1871/1 și 1876/1 infectate PVY(N) care vor servi ca infectori pentru experiențele din anul următor.

Pregătirea terenului și organizarea experiențelor în câmpul experimental. După arătura adâncă din toamnă, la desprimăvărare, în aprilie, terenul experimental s-a nivelat cu ajutorul combinatorului prin treceri succesive în diagonală. S-au administrat îngrășăminte chimice complexe N: P: K, raportul: 15: 15: 15, în cantitate de aproximativ 800 Kg pe hectar substanță brută. S-au încorporat îngrășămintele în sol printr-o nouă lucrare cu combinatorul. S-au amplasat 2 experiențe de câmp, din care una de anul I și 1 de anul II (postcultura). Experiențele de anul II s-au amplasat în blocuri simple rezultând un număr de 176 de parcele experimentale. S-a marcat terenul experimental în vederea plantării manuale pe rigole a experiențelor de câmp, respectiv distanța dintre cuiburi la 30 cm pe rând. S-au delimitat cu picheți benzile de plantare și parcelele pentru înmulțirea infectorilor pentru virusul Y și pentru grupa tulpinilor necrotice PVY. S-au delimitat cu picheți tronsoanele pentru experiențele de anul I și la postcultura. S-a pichetat fiecare variantă conform schiței de amplasare a variantelor experimentale. După deschiderea rigolelor, marcarea, pichetarea și localizarea variantelor experimentale, a surselor de infecție, a înmulțirilor și a benzilor de izolare s-a trecut la plantarea propriu zisă a celor 2 experiențe de câmp, conform schemei de plantare. Pentru virusul Y proporția infectorului a fost de 17 %, așezat astfel încât fiecare plantă să aibă în vecinătate sursă de infecție (un rând infector, 2 rânduri material pentru testat 1 rând infector s.a.m.d.). Ca infectori s-au utilizat soiul Hermes, liniile 1791/1, 1871/1 și 1876/1. S-au plantat 176 parcele experimentale în vederea evaluării infecțiilor virotice

identificate în anul 2014 (reprezentând experiențe postcultura probe prelevate din diferite zone țintă constând din 4 linii de ameliorare și 10 soiuri de cartof). S-a plantat 1 experiență din anul I al ciclului experimental în blocuri simple pentru estimarea rezistenței genotipurilor studiate la tulpinile necrotice PVY. La aceste experiențe, s-au plantat 56 parcele (14 variante experimentale în 4 repetiții a câte 10 tuberculi fiecare, constând din 4 linii de ameliorare și 10 soiuri de cartof). Schemele loturilor experimentale (rezistență infecției virale), postcontrol, suprafețe mai mari de 0,5ha (Roclas, Christian, Riviera), loturi demonstrative Solfarm Sfântu Gheorghe (P3) și SCDC Tg Secuiesc (P2) se regăsesc pe site-ul proiectului. S-au făcut următoarele lucrări și tratamente de protecție a bolilor, dăunătorilor și buruienilor: 1 tratament de stropire contra manei cartofului *Phytophthora infestans* asociat cu un tratament împotriva gândacului din Colorado, *Leptinotarsa decemlineata*, utilizându-se produsul Curzate (2,5 kg/ha pentru mană), respectiv produsul Regent în doză de 0,1 l/ha pentru gândacul din Coplorado (data 08.07.2015); 1 tratament de stropire contra manei cartofului asociat cu un tratament contra gândacului din Colorado utilizându-se produsul sistemic Altima în doză de 0,350 l/ha pentru mană respectiv produsul Regent în doză de 0,1 l/ha pentru gândacul din Colorado (data 26.07.2015); 1 tratament de stropire contra manei cartofului cu produsul Altima în doză de 0,350 l/ha (data 02.08.2015); distrugerea mecanică a vrejilor (data 20.08.2015); prășit manual și plivit câmpul experimental.

Activitate II.4. Monitorizarea PVY, vectori și date pedoclimatice. Actualizare BD.

Datele privind monitorizarea PVY (rezultatele testelor efectuate în anul 2014 teste din tuberculi și frunze) au fost prezentate la activitatea II.1. 126 probe reprezentative diagnosticate ca infectate cu PVY tulpini necrotice au fost testate la nivel molecular.

a) Detecția la nivel molecular a tulpinilor de PVY (P1) la probe prelevate în anul 2014 (P1)

Pentru obținerea materialului biologic necesar testării virale, tuberculii proveniți din diferite terenuri agricole din Transilvania (prelevați în anul 2014), au fost cultivați în ghivece (câte un tubercul/linie) la mijlocul lunii aprilie. După înmugurirea și creșterea lăstarilor a fost preluat material biologic de la nivel foliar de la toate liniile. Materialul proaspăt recoltat a fost utilizat pentru izolarea rapidă a ARN-ului. O parte din materialul prelevat de la fiecare linie a fost stocat la -80°C. După o lună de la cultivare au fost efectuate observații privind simptomatologia indusă de PVY în fiecare linie de cartof (detalii tabelul1 din Anexa2 material postat pe site). Pentru analizele moleculare au fost obținuți tuberculi în care prezența PVY a fost evidențiată inițial prin metode biochimice iar observarea manifestărilor fenotipice ale virusului la nivelul plantelor de cartof este deosebit de importantă pentru caracterizarea completă a diferitelor tulpini virale. A fost remarcat, în diferitele probe de cartof, întregul spectru de manifestări ale patologiei induse de PVY – diferite grade de mozaicare, etiolare, încrețirea frunzelor, necroza punctiformă sau generalizată la nivel foliar, deficiența creșterii plantei, necroza generalizată a plantei. Au fost situații în care mozaicarea a fost singurul simptom dar și linii în care simptomatologia a fost complexă incluzând, cel mai frecvent, mozaicare în combinație cu etiolare, încrețirea frunzelor sau necroza foliară, în unele cazuri apărând necroza generalizată. Cumularea diferitelor simptome într-o singură plantă poate fi rezultatul unei forme cu virulență crescută de PVY sau se poate datora infectării simultane cu mai multe tulpini de virus. După 4 luni de la cultivarea în ghiveci au fost recoltați tuberculii în vederea efectuării de observații privind prezența/absența simptomelor specifice tulpinii PVY^{NTN} (tabel1 Anexa2 site). Numai una dintre linii a prezentat modificări de natură patologică la nivelul tuberculilor dar necaracteristice PVY.

Tabelul 4.1. Rezultatul extracției ARN (izolării) din frunze pentru 10 dintre probele recoltate în 2014.

Cod probăP1	Cod probă CO	Soi	ng/ul	260/280	260/230
1	Sâncrăieni HG - 1B	Carrera	234.2	1.739	2.365
2	Ghimbav1 BV -20	Carrera	427.3	1.785	2.4
11	Ghimbav1 BV -15	Carrera	276.4	1.747	1.498
12	Rasnov BV- 1B	Hermes	657.9	1.81	2.416
21	Rasnov BV - 1B	Hermes	1054	1.869	2.162
22	Ciceu HG- 4A	Desiree	763.2	1.855	1.473
31	Brașov BV- 15	LA 1871/1	69.02	1.621	0.778
32	Brașov- BV-9	LA 1791/1	690.4	1.806	1.812
41	Hărman3 BV- 10B	Jelly	565.1	1.798	2
42	Tg Sec1-CV-15	Jelly	570.5	1.863	1.97

Pentru izolarea ARN au fost utilizate aproximativ 100 mg material foliar iar izolarea s-a realizat rapid prin mojarare cu reactivul de extracție GENEzol, extracția decurgând conform protocolului indicat

de producător (Geneaid). Au fost prelucrate astfel toate liniile de cartof prezentate în Tabelul 1 din Anexa2 la raport (site).

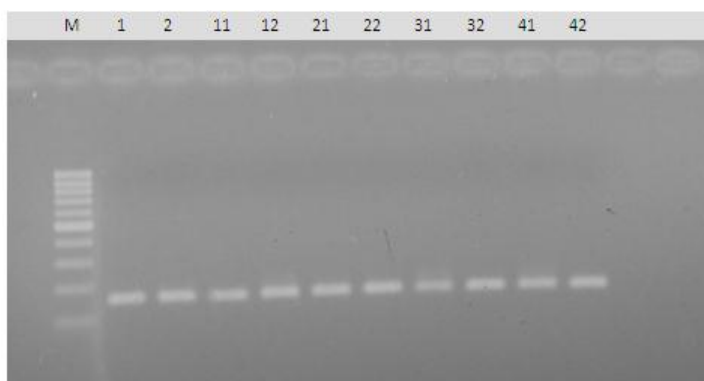


Fig 4.1. Imaginea migrării în gel a ampliconilor specifici genei EF-1 rezultați în urma reacției PCR.

Rezultatul izolării este exemplificat pentru 10 dintre probe (Tabelul 4.1.). A fost obținut un ARN care întrunește parametrii optimi atât în ceea ce privește cantitatea cât și calitatea, excepție face linia 31 care a dat o cantitate redusă de ARN, dar după cum se va vedea ulterior, suficientă pentru efectuarea analizelor. Pentru a putea realiza reacția de PCR este necesară convertirea ARN în ADN complementar (ADNc) prin reacția de revers-transcripție. Pentru aceasta au fost utilizate 2 μ g ARN și kit-ul SensiFAST cDNA (BIOLINE). Pentru a testa concret cantitatea și calitatea de ARN respectiv ADNc a fost efectuată o reacție PCR pentru una dintre genele exprimate conținutiv în plante, factorul de elongare-1 (Ef-1). După cum se observă în figura 4.1. toate liniile testate au prezentat ampliconul specific Ef-1 atestând calitatea materialului genetic și faptul că acesta reprezintă un bun punct de pornire pentru analizele ulterioare privind identificarea PVY. În următoarea etapă s-a urmărit optimizarea metodei pentru detectarea și identificarea PVY prin PCR utilizându-se primeri specifici. A fost utilizat un protocol de triplex PCR pentru identificarea simultană a PVY^N, PVY^O, PVY^{NTN} (liniile recombinante), PVYN^{Wi} și PVY^C (Rigotti și Gugerli, 2007) (Tabelul 4.2.).

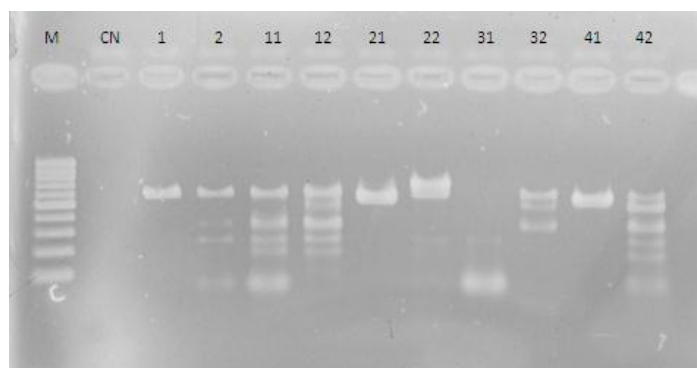


Fig 4.2. Imaginea migrării în gel de agaroză a produșilor PCR obținuți în urma utilizării unei temperaturi de aliniere de 57°C a, unui timp de aliniere de 30 sec, și a unui timp de extensie de 30 sec. M-marker de greutate moleculară, CN - control negativ, 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42 – liniile de cartof utilizate pentru optimizarea metodei

Tabelul 4.2. Primeri ce pot funcționa în triplex pentru identificarea tulpinilor PVY^N, PVY^O, PVY^{NTN}, PVY^C, și PVYN^{Wi} (după Rigotti și Gugerli, 2007)

Denumire primer	Secvența
PVYc3	CAACGCAAAAACACTCA(CT)AAA(AC)GC
PVYf	TAAGTG(AG)ACAGACCCTCT(CT)TTCTC
PVY3+	TGTAACGAAAGGGACTAGTGCAAAG
PVY3-	CCGCTATGAGTAAGTCCTGCACA
CP2+	CCAGTCAAACCCGAACAAAGG
CP1-	GGCATAGCGTGCTAAACCCA

Au fost testate inițial mai multe temperaturi și timpi de aliniere și extensie (Fig. 4.2, 4.3 A&B) în vederea prevenirii sintezei de benzi nespecifice, lăsând nemodificați toți ceilalți parametri. Chiar dacă au fost obținute și benzile așteptate caracteristice diferitelor tulpini de PVY au rezultat și benzi nespecifice ceea ce înseamnă, fie că parametrii PCR nu sunt cei potriviți, fie că există tulpini noi de virus care dau benzi neconforme protocolului stabilit.

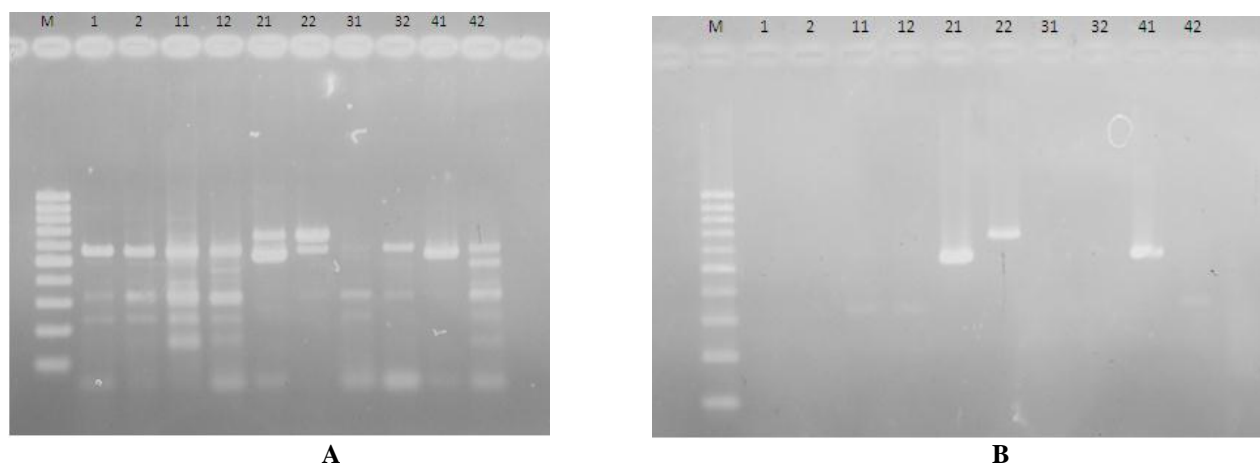


Fig 4.3. A Imaginea migrării în gel de agaroză a produșilor PCR obținuți în urma utilizării unei temperaturi de aliniere de 57°C a, unui timp de aliniere de 45 sec, și a unui timp de extensie de 45 sec. **B.** Imaginea migrării în gel de agaroză a produșilor PCR obținuți în urma utilizării unei temperaturi de aliniere de 59°C a, unui timp de aliniere de 30 sec, și a unui timp de extensie de 30 sec. La reacție nu a participat și perechea de primeri PVY3+/-; M-marker de greutate moleculară, 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42 – liniile de cartof utilizate pentru optimizarea metodei.

Cea mai clară imagine a benzilor a fost obținută pentru parametrii specificați în figura 4.3A, în care se pot identifica cu cea mai mare probabilitate tulpinile PVY^{N-Wi} (liniile 1, 2, 11, 12, 32, 41, 42, ce dau un amplicon de 530 pb) și PVY^O (liniile 21, 22 ce dau doi ampliconi, unul de 530 și celălalt de 660 pb). Linia 42 de cartof nu a manifestat simptome vizibile dar a fost identificată prezența virusului. Prin aceasta metodă nu se pot distinge în infecții mixte tulpinile de PVY^{N-Wi} (amplicon de 530 pb) și PVY^C (amplicon de 660 pb) de tulpina PVY^O ce dă doi ampliconi, unul de 530 și celălalt de 660 pb.

b) Monitorizarea vectorilor (afidelor) în anul 2014 în zonele țintă

Colectarea materialului entomologic s-a efectuat în zonele Brașov, Covasna, Harghita și Cluj. În acest scop s-au amplasat în culturile de cartof pentru sămânță două vase galbene (curse tip Möericke) pe suporturi metalici, reglabili în înălțime pe măsura creșterii plantelor de cartof, astfel încât vasele galbene să se găsească în permanență la nivelul vegetației culturii de cartof. Detalii privind modul de lucru se regasesc în materialul existent pe site proiect (Monitorizarea vectorilor și a condițiilor pedoclimatice din zonele țintă în anul 2015).

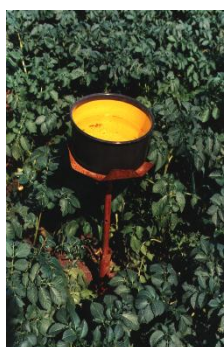


Fig. 4.4. Vas galben (Cursă Moericke) pe suport reglabil.



Fig. 4.5. Modul de dispunere în câmp a vaselor galbene (curse Moericke).

Identificarea speciilor de afide vectoare din loturile experimentale în anul 2015

Zona Brașov Culturile de cartof au fost plantate în luna aprilie (decada II-III), răsărirea completă realizându-se spre sfârșitul lunii mai-începutul lunii iunie. Monitorizarea populațiilor de afide s-a făcut

prin metoda celor două vase galbene amplasate direct în câmpul de cartof. Acestea au funcționat din a doua decadă a lunii mai până în decada a doua a lunii august când vegetația a fost distrusă.

Abundența totală anuală a afidelor capturate în anul 2015 a fost de 2541 indivizi (49 specii).

În total au fost identificate 49 de specii dintre care 17 specii (82%) sunt considerate cu potențial vector la cartoful pentru sămânță, iar 32 de specii (17,98%) indiferente. Din totalul speciilor de afide capturate în zona Brașov au fost identificate : 4 specii eudominante (> 10%) *A. craccivora* (16,45%); *A. fabae* (15,70%); *Brevicoryne brassicae* (10,11%); *Phorodon humuli* (18,65%); 2 specii dominante (5,1-10%) *A. frangulae* (8,81%); *A. sambuci* (6,49%); 3 specii subdominante (2,1-5%): *A. spp.* (4,21%); *Cavariella aegopodii* (2,71%); *Hyalopterus pruni* (4,80%); 2 specii recedente (1,1-2%): *Brachycaudus helichrysi* (1,73%); *Myzocallis coryli* (1,77%); 38 de specii subrecedente (0-1%).

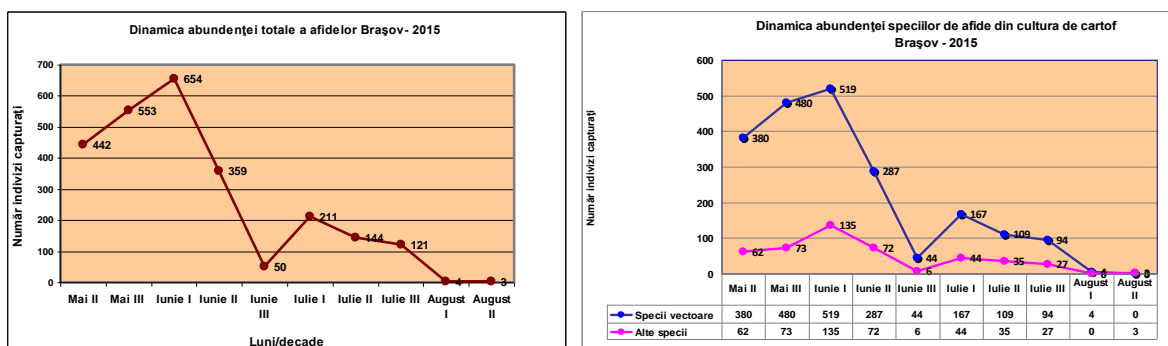


Fig. 4.6. Dinamica abundenței speciilor de afide din loturi experimentale Brașov în anul 2015.

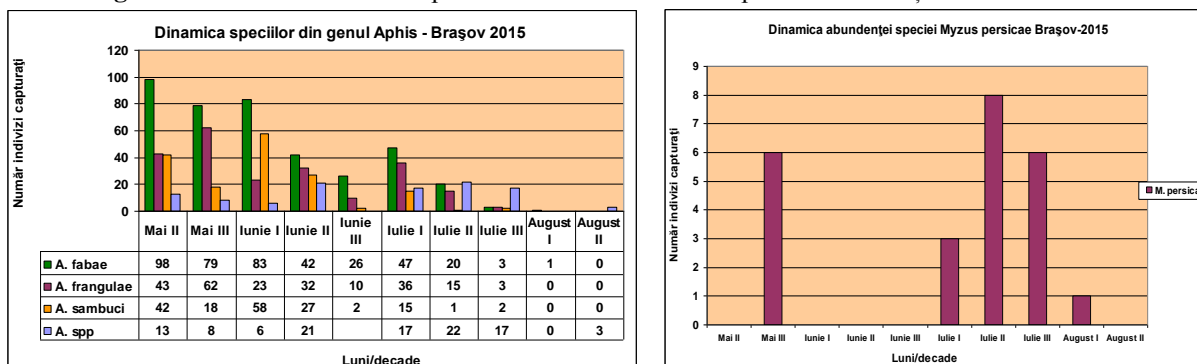


Fig. 4.7. Dinamica speciilor din genul Aphis și Myzus persicae din loturile experimentale Brașov 2015.

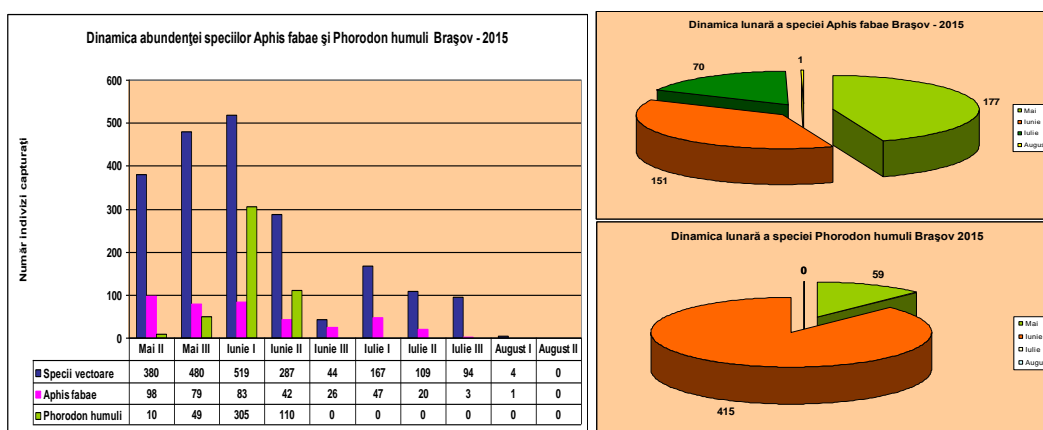


Fig. 4.8. Dinamica abundenței speciilor genul Aphis fabae, Phorodon humuli în loturile experimentale Brașov 2015.

Cele mai abundente și cu activitate relativ permanentă în perioada de vegetație a cartofului au fost speciile aparținând genului Aphis (*A. craccivora*, *A. fabae*, *A. frangulae*, *A. spp.*). Specia *Myzus persicae* considerată ca fiind specia cu cea mai mare capacitate vectoare față de virusurile non-persistente (PVY) la cartof a avut o abundență scăzută, activitatea ei începând foarte devreme, în a doua decadă a lunii mai.

Foarte interesant este faptul că specia nu a apărut în capturile lunii iunie, dar a fost prezentă în luna iulie (așa cum este specificul activității acestei specii) și în prima decadă a lunii august

La Brașov, cele mai abundente au fost speciile *A. fabae* și *P. humuli* a căror activitate s-a manifestat mai intens la începutul perioadei de vegetație a cartofului respectiv luna mai și iunie, după care capturile au scăzut mult astfel că în luna august ele au fost aproape inexistente. Dinamica lunară a celor două specii este prezentată în fig. 4.6. Dintre speciile cu potențial vector la Brașov în anul 2015, se pot enumera: *A. craccivora* (418 indivizi), *A. fabae* (399 indivizi), *A. frangulae* (224 indivizi), *A. sambuci* (165 indivizi), *A. spp.* (107 indivizi), *B. Brassicae* (257 indivizi), *H. pruni* (122 indivizi) și *P. humuli* (474 indivizi) (fig. 4.9).

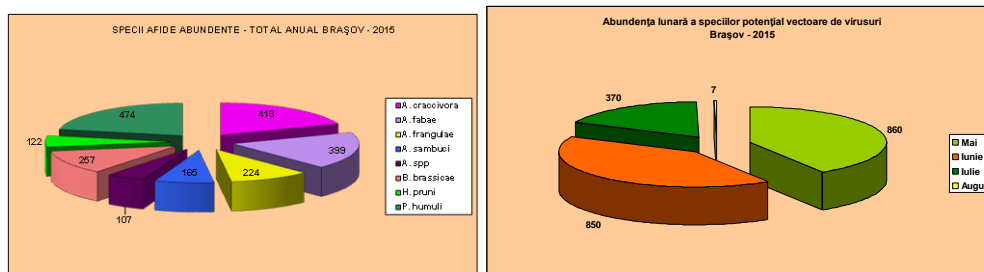


Fig. 4.9. Specii abundente de afide și abundența lunară a speciilor vectoare în loturile experimentale Brașov 2015.

Speciile de afide cu potențial vector au avut în zona Brașov cea mai intensă activitate în lunile mai (860 de indivizi) și iunie (850 indivizi), după care urmează în luna iulie o reducere semnificativă a populațiilor de afide la 370 de indivizi, iar în primele două decade ale lunii august s-au monitorizat în capturi doar 7 indivizi. Faptul că cele mai abundente și mai multe specii au avut activitate intensă în lunile mai și iunie, luni în care cartoful era în plină răsărire și vegetație a făcut să crească semnificativ riscul infecțiilor virotice transmisibile prin afide (fig. 4.9).

Zona Covasna. Abundența totală anuală a afidelor capturate în anul 2015 a fost de 786 indivizi (29 specii). În total au fost identificate 29 de specii dintre care 14 specii (73,15%) sunt considerate cu potențial vector la cartoful pentru sămânță, iar 15 de specii (26,84%) indiferente.

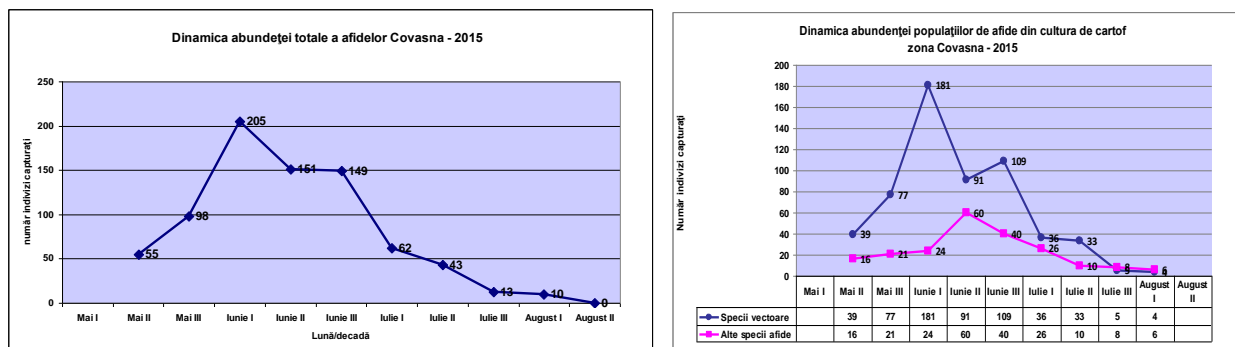


Fig. 4.10. Dinamica abundenței speciilor de afide din loturi experimentale Covasna în anul 2015.

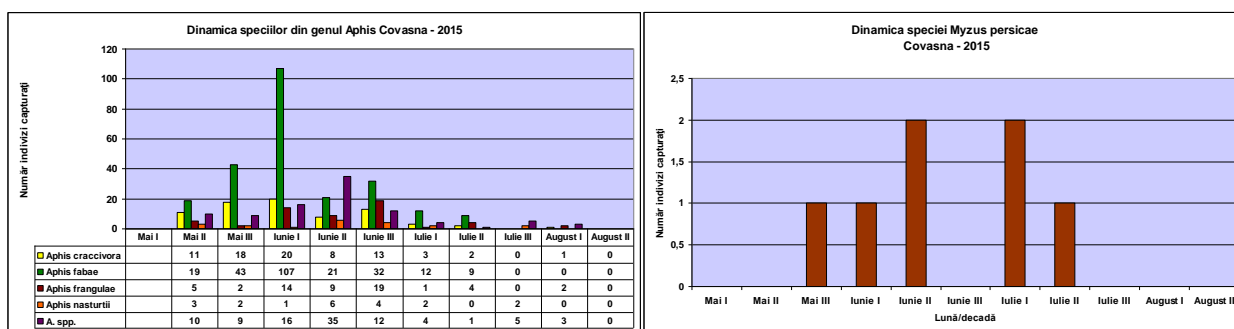


Fig. 4.11. Dinamica speciilor genul *Aphis* și *Myzus persicae* din loturile experimentale Covasna 2015.

Din totalul speciilor de afide capturate în zona Covasna au fost identificate: 3 specii eudominante (> 10%): *A. fabae* (30,91%); *A. spp.* (12,08%); *Phorodon humuli* (13,86%); 3 specii

dominante(5,1-10%): *A. craccivora* (9,66%); *A. frangulae* (7,12); *A. sambuci* (5,47%); 4 specii subdominante(2,1-5%): *A. nasturtii* (2,54%); *A. pomi* (2,15%); *Brevicoryne brassicae* (2,63%); *Cavariella aegopodii* (2,03%); 3 specii recedente(1,1-2%): *A. cracca* (1,01%); *Cryptomyzus galeopsidis* (1,01%); *Hayhurstia atriplicis* (1,27%); 16 specii subrecedente (0-1%)

Cele mai abundente și cu activitate relativ permanentă în perioada de vegetație a cartofului au fost speciile aparținând genului *Aphis* (*A. craccivora*, *A. fabae*, *A. frangulae*, *A. spp.*) și *Phorodon humuli*. Specia *Myzus persicae* a avut o abundență scăzută, activitatea ei începând din a treia decada a lunii mai, primele decade din luna iunie și prima decadă din luna iulie (fig. 4.10). În anul 2015, la Covasna cele mai abundente au fost următoarele specii: *A. craccivora* (76 indivizi), *A. fabae* (243 indivizi), *A. frangulae* (56 indivizi), *A. spp.* (95 indivizi), *A. sambuci* (43 indivizi) și *P. humuli* (109 indivizi) (fig.4.13A). În zona Covasna, activitatea speciilor de afide potențial vectoare s-a desfășurat astfel: în luna mai au fost monitorizați 116 indivizi; în luna iunie 381 indivizi; în iulie 74 indivizi iar în august doar 4 indivizi. Luna cu cea mai intensă activitate a fost deci luna iunie, moment în care plantele de cartof se află în plină dezvoltare fiind vulnerabile la infecțiile virotice transmisibile prin afide (fig. 4.13 B).

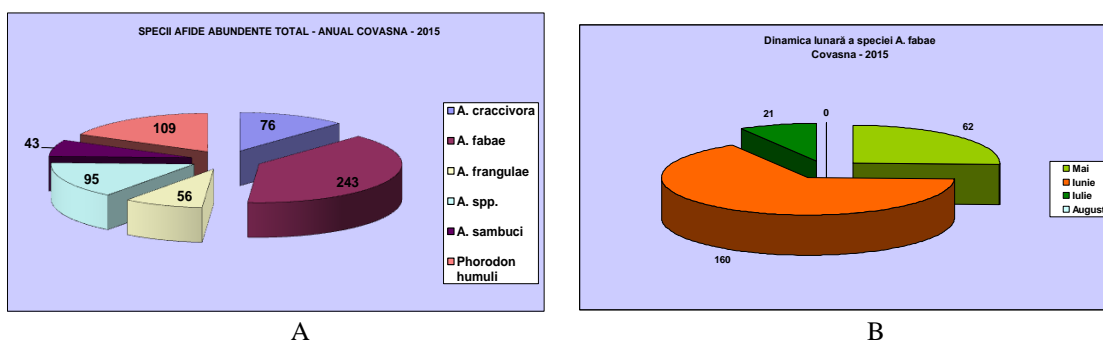


Fig. 4.13. Specii abundente de afide si abundența lunară a speciilor vectoare în loturile din Covasna 2015.

Studiul comparativ al abundenței și dinamicii populațiilor de afide în zonele țintă - 2015

Comparând cele patru zone în care au fost monitorizate populațiile de afide se constată că cele mai abundente au fost populațiile de afide din zona Brașov-2541 indivizi, urmată de zona Cluj cu 1152 indivizi, Harghita cu 906 indivizi și Covasna cu 786 indivizi (fig. 4.14).

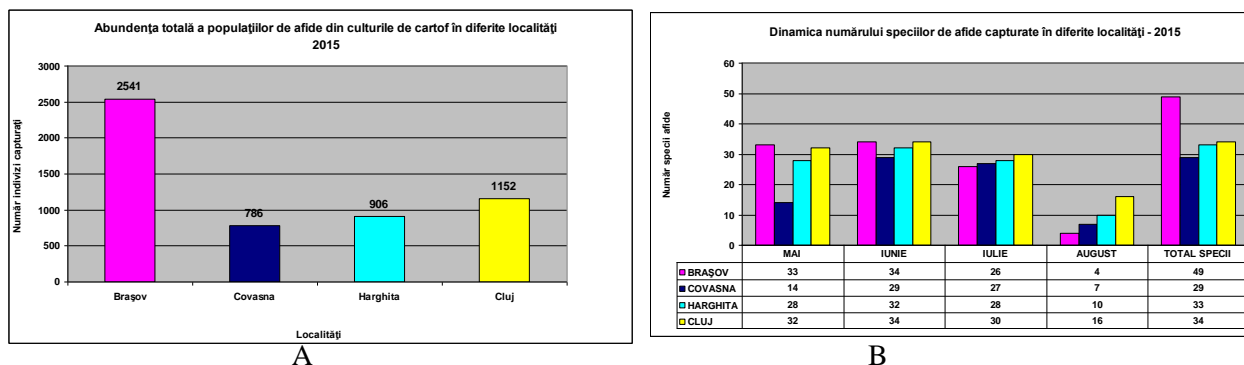


Fig. 4.14. Abundența totală a speciilor vectoare în loturile experimentale din zonele țintă în anul 2015 (A). Dinamica numărului de afide capturate (B).

Din punctul de vedere al numărului speciilor identificate în fiecare zonă/lună se constată că la Brașov s-a înregistrat următoarea dinamică a speciilor: în luna mai – 33 specii; iunie-34 specii; iulie 26 specii și august – 4 specii. În total. la Brașov a fost identificat cel mai mare număr de specii diferite de afide 49. În zona Covasna s-au identificat în total 29 de specii: mai -14 specii; iunie 29 specii; iulie 27 specii; august-7 specii. În zona Harghita s-au identificat în total 33 de specii: mai -28; iunie 32; iulie 28; august 10. La Cluj totalul de 34 de specii a fost repartizat astfel: în luna mai 32; iunie 34; iulie 30 specii; august 16 specii.

Se constată că în lunile mai și iunie populațiile de afide din cele patru zone au fost mari, de asemenea și numărul de specii identificate. Ținând cont de faptul că plantarea cartofului pentru sămânță în aceste zone se desfășoară în general în luna aprilie-prima decadă a lunii mai, cartoful este în această perioadă extrem de vulnerabil la atacul afidelor, multe dintre specii capturate fiind cunoscute ca având

potențial virotic. Din punct de vedere al dinamicii abundenței populațiilor de afide cu potențial vector față de cultura de cartof pentru sămânță se constată că în toate cele patru zone analizate vârful perioadei de atac al afidelor s-a situat între a treia decadă a lunii mai-prima decadă a lunii iunie, perioadă foarte vulnerabilă pentru cultura de cartof (Fig. 4.15).

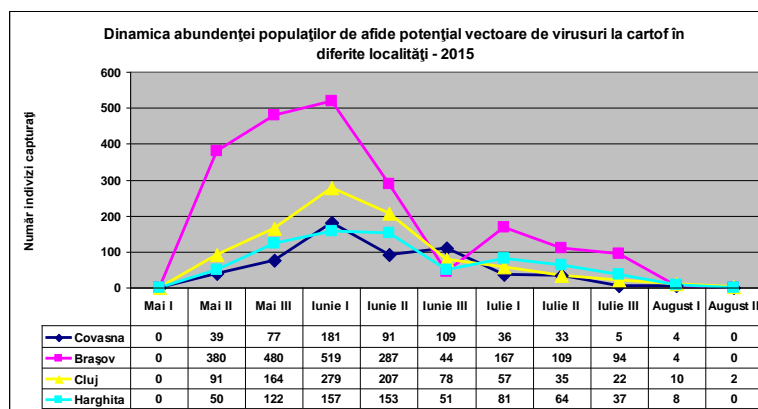


Fig. 4.15. Abundenta decadală a speciilor vectoare în loturile experimentale din zonele țintă în anul 2015

Anul 2015 s-a caracterizat printr-o abundență și o activitate intensă a populațiilor de afide în prima parte a perioadei de vegetație, când multe din culturile de cartof nu erau pe deplin răsărite sau plantele erau foarte mici. În general, în zonele analizate populațiile de afide a cel mai intens zbor în prima - a doua decadă a lunii iulie. Atunci plantele de cartof sunt mature, cu o anumită rezistență de vârstă față de atacul afidelor.

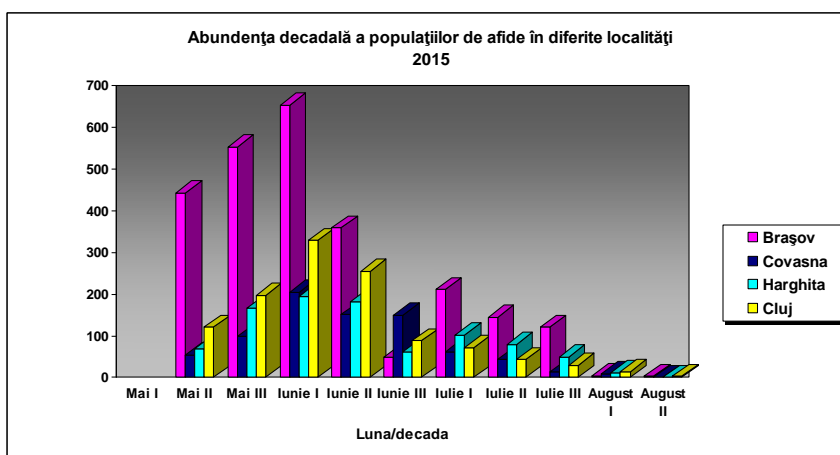


Fig. 4.16. Abundenta decadală a speciilor vectoare în loturile experimentale din zonele țintă în anul 2015

Faptul că activitatea afidelor a fost în anul 2015 mult decalată față de tendința generală poate fi explicată pe de o parte de condițiile climatice blânde ale iernilor anterioare care au permis supraviețuirea multor specii pe plante gazdă din apropierea câmpurilor precum și de perioadele de secetă prelungită din lunile iulie și în special august. Afidele își încetează activitatea la temperaturi mai mari de 30°C, iar perioadele lungi de secetă și temperaturile foarte ridicate sunt letale pentru majoritatea speciilor (Fig. 4.15 și 4.16). Specia *M. persicae* este cea mai periculoasă dintre speciile de afide ce interesează cultura de cartof deoarece este capabilă să transmită toate tipurile de virusuri (persistente și non-persistente) la cartof pentru sămânță. Activitatea sa a fost în anul 2015 redusă, cele mai mari populații fiind capturate în zona Brașov -24 indivizi; Harghita -21 indivizi. În zona Cluj populațiile monitorizate în toată perioada de vegetație a cartofului nu au depășit 18 indivizi iar în zona Covasna s-au capturat doar 7 indivizi din această specie.

Specia *A. fabae* a fost foarte abundentă în zona Brașov-399 indivizi și Covasna- 243 indivizi. În zona Harghita -109 indivizi și Cluj-162 indivizi. Specia nu colonizează planta de cartof dar poate transmite prin activitatea de hranire virusuri de tip non-persistent la cartof pentru sămânță.

O specie foarte abundentă în culturile de cartof din cele patru zone a fost *P. humuli*. În zona Braşov au fost capturați 474 de indivizi; în zona Cluj-306 indivizi; Harghita – 236 indivizi iar în Covasna-109 indivizi. În ultimii ani afidologii plasează această specie pe lista celor cu potențial vector în culturile de cartof pentru sămânță iar numărul foarte mare de indivizi capturați într-o perioadă de vegetație face să crească mult riscul virozării culturilor.

c) Monitorizarea datelor pedo-climatice a zonelor luate în studiu

Zona Braşov. Depresiunea Braşov are o suprafață de 1.800 km² și este una din cele mai tipice depresiuni intracarpatică din țara noastră. Prin situarea sa aproape în centrul țării, Depresiunea Braşov se află într-o zonă de interferență a influențelor climatice estice și vestice, care datorită condițiilor geografice și în special datorită configurației reliefului înconjurător, capătă trăsături specifice locale și imprimă regiunii un caracter de tranziție între partea estică și sud-estică a țării, expusă predominant maselor de aer continental și cea vestică și nord-vestică, aflate sub influența maselor de aer oceanic. Altitudinea medie a Depresiunii este de 550 - 560 m dar nu altitudinea este factorul principal care influențează desfășurarea și caracterul climei ci poziția geografică și configurația reliefului înconjurător. Toate acestea delimitează o regiune total diferită față de teritoriile învecinate, cu caracteristici fizico-geografice proprii, în care clima are, sub influența condițiilor locale, unele particularități caracteristice.

Temperatura aerului. În arealul depresiunii Braşov, temperaturile medii anuale au o distribuție neuniformă datorită influenței factorilor locali (altitudine, formele de relief, expoziția, înclinarea versanților și gradul de acoperire cu vegetație). Comparativ cu media multianuală, temperaturile înregistrate în fiecare an diferă uneori destul de mult, atât față de medie cât și de la un an la altul, fapt ce poate explica diferențele mari înregistrate în comportamentul de zbor al afidelor în perioada analizată.

Precipitațiile atmosferice. Precipitațiile atmosferice se caracterizează printr-o mare varietate în timp și spațiu în ceea ce privește intensitatea, frecvența și durata. Poziția geografică a Depresiunii Braşov în aria de interferență a condițiilor climatice continentale din est cu cele vestice de origine oceanică precum și configurația reliefului imprimă precipitațiilor atmosferice trăsături specifice. În timp ce în vestul țării cad anual în medie 650 mm iar în regiunile din est cantitățile de precipitații scad cu 150 – 200 mm, în Depresiunea Braşov se înregistrează anual 550 – 600 mm. Apare astfel caracterul de tranziție pe care îl are Depresiunea Braşov între cele două mari regiuni climatice ale țării.

Zona Tg. Secuiesc. Deși face parte din Depresiunea Braşov, zona Tg. Secuiesc prezintă diferențe semnificative față de restul depresiunii. Astfel, în compartimentul estic se înregistrează temperaturi anuale mai scăzute cu aproximativ 0,4°C decât în cel vestic. Această scădere a temperaturii aerului la Tg. Secuiesc se datorează atât altitudinii mai ridicate cu cca. 60 m cât mai ales influenței est-continentale, resimțite în special iarna. În compartimentul Tg. Secuiesc, expus influențelor excontinentale, numărul zilelor cu îngheț depășește 150, fiind cel mai mare din toată depresiunea. Primele zile cu temperaturi minime sub 0°C apar în luna septembrie. Zilele cu îngheț

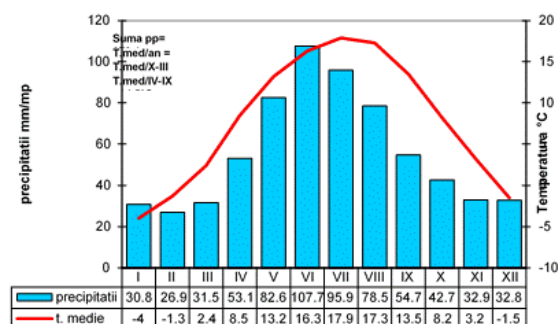


Fig. 3. Temperatura medie multianuală și media precipitațiilor în zona Braşov.

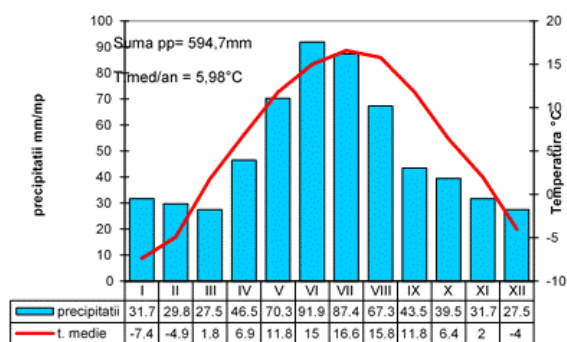


Fig. 5. Temperatura medie multianuală și media precipitațiilor în zona Ciuc.

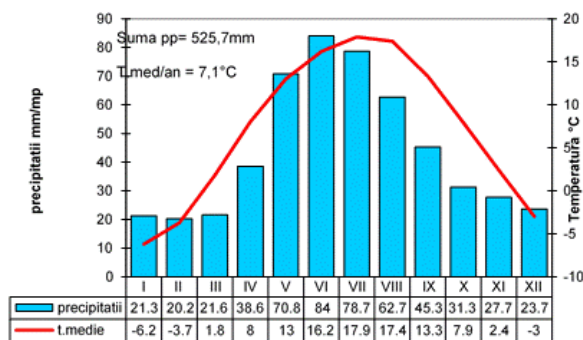


Fig. 4. Temperatura medie multianuală și media precipitațiilor în zona Tg. Secuiesc.

din luna septembrie ajung până la 8. În luna ianuarie inversiunile de temperatură au cea mai mare frecvență și în 98 – 99 % din numărul zilelor temperatura minimă a aerului scade sub 0°C.

În compartimentul Tg. Secuiesc se înregistrează anual până la 500 – 550 mm precipitații. Reducerea cantității de precipitații trebuie pusă pe seama influențelor climatului continental caracteristic părții de est a țării. În această zonă cantitățile anuale de precipitații sunt cele mai reduse din Depresiunea Brașovului, cu cca. 100 – 150 mm mai mari decât zona cea mai secetoasă din țară.

Zona Miercurea Ciuc. Zonele situate între lanțul munților Giurgiu și Harghita la vest și Carpații Orientali la est prezintă trăsături comune în ceea ce privește clima, relieful și solurile. Condițiile fizico-geografice specifice județului Harghita, cu forme variate de relief, de la depresiuni, văi largi, dealuri subcarpatice și munți înalți duc însă la o mare varietate a climei pe zone restrânse.

În zonele de depresiune temperaturile sunt mai ridicate dar noaptea inversiunile termice sunt frecvente, ceea ce face ca aici să se înregistreze cele mai scăzute temperaturi minime din țară. În aceste depresiuni iernile sunt geroase și foarte geroase în proporție de 90 – 94 %. Temperatura medie anuală oscilează între 5,2 – 5,7°C, în zonele muntoase scăzând foarte mult (0 – 2°C). Media multianuală se situează în jurul valorii de 5,8°C (fig. 5.3.4.1.), media lunilor de vară nedepășind 17°C. Față de media multianuală, și în aceste zone se înregistrează oscilații de la un an la altul, oscilații ce pot determina diferențieri în abundența populațiilor de afide sau în comportamentul de zbor al acestora. Direcția vânturilor dominante este în general dinspre vest, dinspre masivul Harghita, ceea ce determină climatul răcoros din timpul verii.

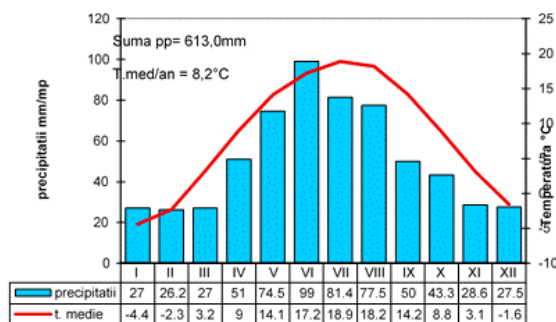


Fig. 6. Temperatura medie multianuală și media precipitațiilor în zona Cluj.

Zona Cluj. Zona Cluj se caracterizează printr-un climat boreal temperat, de tip continental, cu ierni reci, veri puțin călduroase și precipitații bogate, repartizate neuniform în timpul anului. Din punct de vedere termic clima este continentală, influențată de Munții Apuseni, cu ușoare nuanțe oceanice.

Temperatura medie multianuală se situează în jurul valorii de 8,2°C, precipitațiile însumând 613 mm. Regimul eolian se caracterizează prin valori moderate, zona fiind în general ferită de vânturi puternice. Viteza medie a vânturilor oscilează între 3,8 – 4,5 m/s.

Datele privind tipurile de sol din zonele țintă sunt prezentate sintetic în tabelul 4.3. Datele privind monitorizarea PVY, vectori (afide) și datele pedoclimatice au fost încărcate în baza de date (BD) aflată la CO. Detalii privind aceste date se regasesc pe site-ul proiectului.

Tabel 4.3. Tipuri de sol în zonele țintă (caracteristici pedologice) 2014-2015

Zona	Tipul de sol
Brașov	Soluri cernoziomoide cu următoarele caracteristici: textura - T, argilă – cca 30 %, pH – cca 6,2, humus4 – 5%, fosfor mobil - 50 ppm, potasiu mobil - 110, gradul de saturare în baze – peste 88 %
Covasna	Soluri cernoziomoide levigate, soluri brune, brune pseudogleizate, brune podzolite, humico-gleice drenate
Harghita	Soluri de tipul Cernoziomoid rendzinic litic
Suceava	Soluri- cernisoluri de tipul și subtipul –faeziom cambic
Cluj	Soluri aluviale frecvent gleizate și cernoziomuri cambice, pe depozite fluviatile recente (uneori vertice, gleizate sau alcalizate), Soluri brune eu-mezobazice tipice, soluri brune eu-mezobazice erodate, soluri brune argiloiluviale tipice și soluri brune argiloiluviale erodate

Activitate II.5. Evaluarea rezistenței la infecția cu izolate necrotice PVY, a unor genotipuri de cartof, în condiții de infecție provocată

În vederea testării rezistenței virotice a materialului biologic la INCDCSZ Brașov (CO) suprafața experimentală a constat din 2 experiențe și anume una cu sursă de virus și una de postcontrol pentru estimarea infecțiilor realizate. În experiențele cu sursă de virus s-au plantat linii avansate și soiuri de cartof autohtone și străine din materialul biologic ales, în 11 blocuri, în 16 rânduri, fiecare parcelă conținând câte 5 plante. Proporția infectorului a fost de 17 % așezat astfel încât majoritatea plantelor să

aibă în vecinătate sursă de infecție. Ca infectori s-au folosit izolate PVY^{NTN} (liniile de ameliorare INCDCSZ Brasov 1791/1; 1876/1; 1871/1) și un izolat al virusului PVY^{NWilga} (linia de ameliorare 1871/4). În perioada îmbobocirii-înfloririi s-a făcut evaluarea infecțiilor realizate în anul precedent prin bonitare vizuală și s-au notat eventualele aspecte anormale. Exprimarea rezistenței s-a făcut prin 9 clase respectiv note de rezistență stabilite în funcție de infecția medie a martorilor sensibili incluși în experiență iar încadrarea materialelor în aceste clase s-a realizat pe baza procentului de infecție. La finalizarea experimentării, pe baza notelor anuale obținute se va calcula nota medie de rezistență, rezistența finală.

a) Evaluarea infecțiilor cu tulpinile necrotice PVY la INCDCSZ Brasov. 14 genotipuri (linii de ameliorare și soiuri) de cartof care au fost supuse unei presiuni de infecție create artificial în condiții de câmp la 2 tipuri de tulpini PVY (necrotice și comune) au fost evaluate prin bonitare vizuală, apoi testate prin tehnica DAS ELISA pentru estimarea procentului de infecție cu PVY și apoi cu tulpinile necrotice PVY.

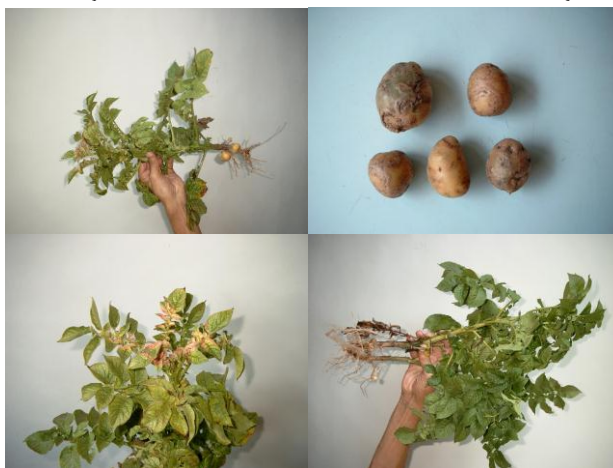


Figura 5.1. Simptome specifice infectori.

Evaluarea s-a făcut pentru fiecare parcelă în perioada apariției și manifestării clare a simptomelor infecției (infecțiile secundare) pe foliajul plantelor. Acest moment a coincis în cea mai mare parte cu perioada de îmbobocire a plantelor până la înflorirea deplină. În cazul virusului PVY^N simptomele infecției secundare s-au manifestat prin mozaicuri grave de tipul stricului și necrozarea nervurilor la materialele foarte sensibile respectiv mozaicuri ușoare la soiurile mai puțin sensibile (fig. 5.1.). În urma bonitării vizuale a materialului plantat, s-au notat numărul de plante cu simptome, respectiv infectate, numărul de goluri și totalul plantelor testate din fiecare material.

Tabel 5.1. Situația evaluării rezistenței în condiții de câmp față de infecțiile cu virusul Y (tulpini necrotice) a liniilor și soiurilor de cartof studiate. Estimarea rezistenței la infecțiile PVY(N) la genotipurile studiate.

Nr. crt.	SOI	Nr plante analizate	Nr plante cu simptome	Nr plante identificate (teste serologice DAS ELISA)		Nota	
				PVY	PVY Necrotic	Virusul PVY	Grupa PVY ^N
1.	Bellarosa	95	0	0	0	9	9
2.	Carrera	65	20	35	29	4	5
3.	Christian	65	0	0.00	0.00	9	9
4.	Hermes	50	18	40	28	4	4
5.	Jelly	80	0	4	0.00	9	9
6.	Red Fantasy	45	2	2	0.00	8	8
7.	Red Lady	90	48	80	56	4	4
8.	Riviera	90	0	0.00	0.00	9	9
9.	Roclas	55	0	1.00	0.00	9	9
10.	AlbastruGălănești	55	24	55	23	7	6
11.	1791/1 *	25	25	25	25	2	2
12.	1876/1*	40	38	40	40	2	2
13.	1871/*	55	52	55	0	2	2
14.	1871/*	30	22	10	4	6	8

*Pozițiile 11-14 = martori pentru tulpinile necrotice PVY, infectori.

Rezultatele cuprind toate probele din același soi (din toate parcelele)

Note acordate: 1,0-2,5- foarte sensibil (FS); 2,6-3,5- sensibil spre foarte sensibil (S-FS); 3,6-4,5-sensibil (S)
 4,6-5,5- sensibil spre mijlociu de sensibil (S-MS); 5,6-6,5- mijlociu de sensibil (MS)
 6,6-7,5- rezistență moderată (RM); 7,6-8,5- rezistență (bună) ridicată (RB)
 8,6-9 - rezistență foarte (bună) ridicată (FR)

Rezultatele bonitării sunt prezentate în tabelul 5.1 care conține datele brute, fără procentele de infecție, notele sau calificările materialelor, aceasta urmând a fi prezentate într-o etapă ulterioară.

Pe baza infecțiilor evaluate, s-au calculat procentele de infecție realizate de fiecare material în parte. În funcție de media infecției maritorilor foarte sensibili amplasați în experiență, s-a estimat intervalul de clasă și apartenența la una din clasele de infecție. După stabilirea frecvenței infecțiilor s-au acordat notele de rezistență de la 1 la 9 pentru fiecare din cele două virusuri iar pe baza notelor s-au acordat calificativele de rezistență. Materialul biologic este grupat în clase de rezistență pe baza notelor de rezistență. În ceea ce privește rezistența la infecția cu virusul Y^N la soiurile analizate, 70,0 % sunt situate în grupa soiurilor moderat de rezistente și rezistente, 0,0 % soiuri mijlocii de sensibile, iar 30,0 % soiuri sensibile și foarte sensibile. Pentru caracterizarea definitivă a liniilor sau soiurilor de cartof din punct de vedere al rezistenței la infecțiile cu virusul Y^N este necesară testarea în minim 3 cicluri.

Tabel 5.2. Gruparea liniilor și soiurilor testate pe grupe de rezistență

Material testat	Nr. cicluri de testare	Nr. linii / soiuri	Virusul Y al cartofului			Grupa tulpini PVY ^N		
			MR-FR	MS	S-FS	MR-FR	MS	S-FS
			%	%	%	%	%	%
Linii	1	4	0,0	25,0	75,0	25,0	0,0	75,0
Soiuri	1	10	70,0	0,0	30,0	60,0	20,0	20,0

Clase de rezistență: MR-FR-moderat de rezistent până la foarte rezistent 6,6-9,0; MS-mijlociu de sensibil 4,6-6,5; S-FS-sensibil până la foarte sensibil 1,0-4,5

Deși rezultatele obținute deocamdată sunt preliminare, nu definitive (am testat doar un ciclu vegetativ), în urma testelor efectuate în 2015 se constată că există soiuri cu rezistență ridicată și chiar foarte ridicată față de tulpinile necrotice PVY, patogen care afectează producția și calitatea cartofului pentru sămânță și consum din țara noastră.

b) Identificarea genelor de rezistență la tulpinile necrotice de PVY

Un alt obiectiv al acestei activități a fost identificarea genelor de rezistență în diferitele soiuri de cartof. Speciile sălbatice înrudite cu cartoful constituie o importantă sursă de gene de rezistență la PVY. Una dintre acestea este gena de rezistență extremă (*Ry_{chc}*) originară din *S. chacoense*, pentru care a fost stabilit un marker de detecție și care poate fi prezentă și în unele soiuri de cartof (Mori și colab., 2011). Acest marker, denumit Ry186, constă într-un aplicon de 587 pb, rezultat în urma unei reacții PCR utilizând primerii RY186-11 - TGGTAGGGATATTTTCCTTAGAA și RY186-12 - GCAAATCCTAGGTTATCAACTCA (Mori și colab., 2011).

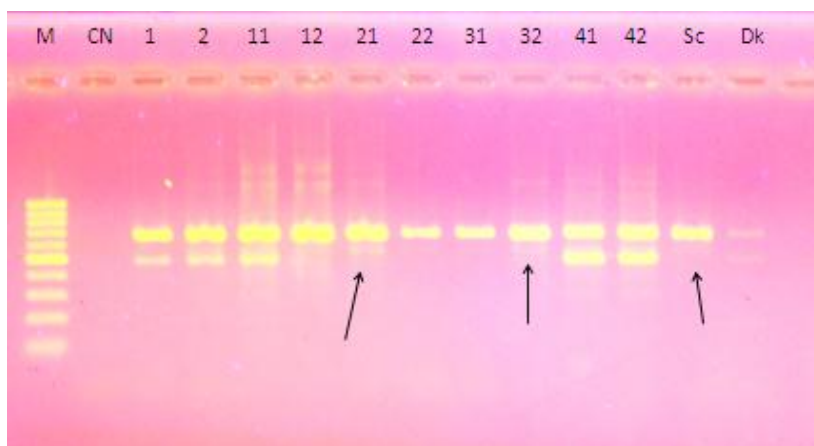


Fig 5.2 Imaginea migrării în gel de agaroză a produșilor PCR obținuți în urma utilizării unei temperaturi de aliniere de 55.°C a, unui timp de aliniere de 30 sec, și a unui timp de extensie de 30 sec la identificarea markerului *Ry_{chc}*. M-marker de greutate moleculară, CN – control negativ, 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42 – liniile de cartof utilizate pentru optimizarea metodei, Sc – *S. chacoense*, Dk – *S. tuberosum*, Delikat.

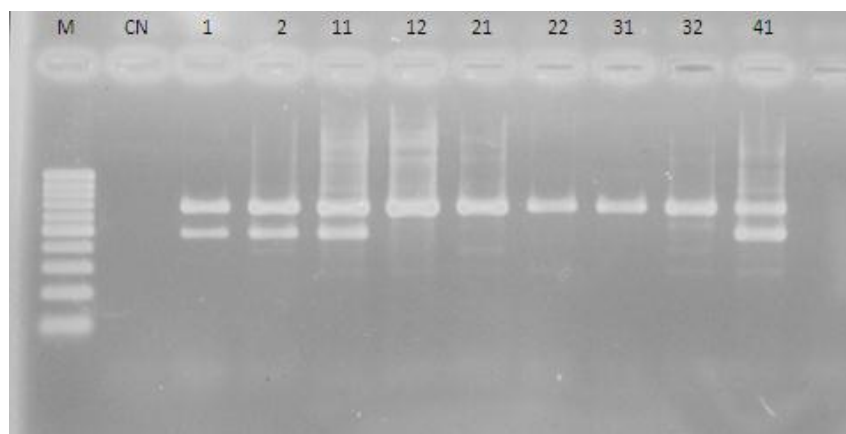


Fig 5.3. Imaginea migrării în gel de agaroză a produșilor PCR obținuți în urma utilizării unei temperaturi de aliniere de 57°C la identificarea markerului *Ry_{chc}*. M-marker de greutate moleculară, CN – control negativ, 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41 – liniile de cartof utilizate pentru optimizarea metodei.

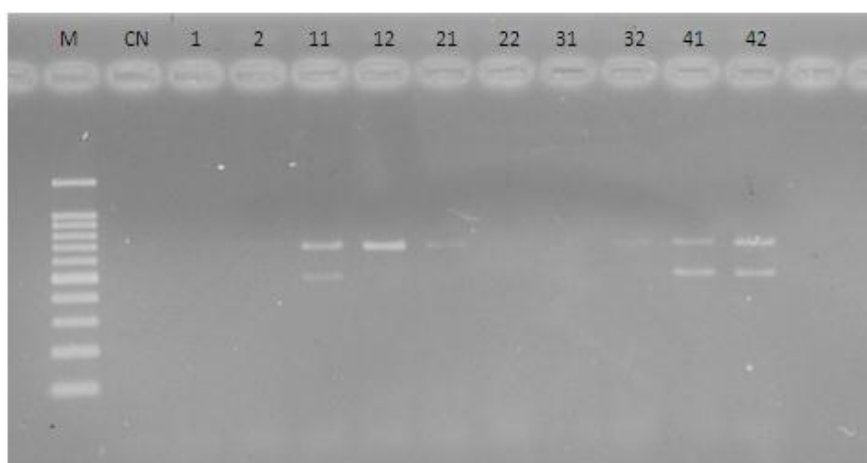


Fig 5.4. Imaginea migrării în gel de agaroză a produșilor PCR obținuți în urma utilizării unei temperaturi de aliniere de 59°C la identificarea markerului *Ry_{chc}*. M-marker de greutate moleculară, CN – control negativ, 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42 – liniile de cartof utilizate pentru optimizarea metodei

Urmând metoda descrisă de Mori și colab., (2011) am căutat prezența markerului *Ry_{chc}* în anumite soiuri de cartof (codificate 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31, 32, 41, 42), în *S. chacoense* Bitt ca și posibil control pozitiv (Sc) și *S. tuberosum* soiul Delikat (Dk). Pentru o parte dintre probe (1, 2, 11, 41, 24) au fost obținute două benzi (una de aprox. 500 și alta de 700 pb) iar pentru restul a fost obținută o bandă intensă de 700 pb. A apărut și o bandă discretă aparent de dimensiunea așteptată (587 pb, marcată cu săgeată) dar care nu a putut fi amplificată mai intens indiferent de parametrii de PCR utilizați (Fig. 5.2, 5.3., 5.4.), dispărând total chiar odată cu ceșterea temperaturii. O posibilă explicație a faptului că nu a apărut markerul de dimensiunea așteptată este lipsa genei de rezistență *Ry_{chc}* în soiurile testate. O altă posibilitate este variabilitatea genetică ce poate exista între soiuri ameliorate în Japonia, în care a fost identificat markerul și cele Europene, care ar putea să nu poseze markerul respectiv chiar dacă gena de rezistență este prezentă.

Bibliografie:

Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Nakao T., Ishii T., Hosaka K. 2011 - Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica*, 180: 347–355.

Rigotti S., Gugerli P. 2007 - Rapid identification of potato virus Y strains by one-step triplex RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 140: 90–94.

Activitate II.6. Prelevare (asistată GPS) de probe tuberculi din zonele țintă (pentru georeferențierea datelor) anul II(CO, P1, P2, P3)

Din zona Brașov s-au prelevat 14 probe pentru testarea virotică și identificarea eventualei prezențe a agentului patogen, tuberculi fiind prelevați din sole diferite și din soiurile următoare: Riviera (din

Codlea, Braşov, 2 sole din Ghimbav, Stupini); Bellarosa (din Ghimbav); Red Lady (din Hărman, 2 sole Făgăraş); Roclas (din Braşov); Christian (din Braşov); Carrera (2 sole din Ghimbav). Probele din judeţul Braşov, prelevate de către CO, au provenit din 14 sole de la 7 producători (tabelul 6.1.).

Din zona Covasna s-au prelevat 24 probe din soiurile: Riviera (Sânzieni, Sfântu Gheorghe, 2 sole din Zăbala1+2, 2 sole din Cernat1+2); Bellarosa (din Sânzieni, Sfântu Gheorghe, 2 sole din Tg Sec, Zăbala1, Cernat); Jelly (din Sfântu Gheorghe, Tg Sec1); Red Lady (din Sfântu Gheorghe, Tg Sec3); Carrera (din Sânzieni, 2 sole Tg Sec, Sfântu Gheorghe, Zăbala1, 2 sole din Cernat); Red Fantasy (din Cernat2, Tg Sec2); Hermes (din Cernat2). Probele din judeţul Covasna au fost prelevate de către P2 şi P3. Acestea au provenit din 24 sole de la 11 producători. Provenienţa probelor (codificarea solilor conform hărţii APIA, suprafaţa cultivată, categoria biologică) este prezentată în tabelul 6.1.

Tabelul 6.1. Soiuri prezente în probele prelevate din zonele Braşov, Covasna şi Harghita (provenienţa^{*,**}, categoria biologică şi suprafaţa cultivată)

Judeţul BRAŞOV

Soiul	Loc.Producator*	Cat.biol* */ Supraf	Parcela***	Soiul	Loc.Producator*	Cat.biol**/ Supraf	Parcela ***
CARRERA	Ghimbav3	CA/5	A 1460/2	RIVIERA	Braşov	CB/3	A 121
	Ghimbav1	CA/5	BF 123		Codlea	CA/3	BF 467
RED LADY	Hărman 1	CB/5	A 553		Ghimbav3	CA/10	A 1474/2
	Făgaras	CA/3.5	A 32		Ghimbav3	CA/3	A 1247/3
	Făgaras	CB/21.5	A 102;370		Stupini	CB/3	A 1474
BELLAROSA	Ghimbav1	CL A/2	86519-429		CHRISTIAN	Braşov	E/5; E/5
				ROCLAS	Braşov	E/5	A 121

Judetul COVASNA

RIVIERA	Sânzieni	Cl.A /4	T89P770	BELLA ROSA	Gheorghe	Cl.A/2	BF608
	Gheorghe	Cl.A /2	BF 575		Sânzieni	Cl.B /2	T82P429
	Zăbala1	Cl.A /4	P 46		Zabala1	Cl.A/2,38	P46
	Cernat1	Cl.A /3	T126P922		Cernat2	Cl.A /3	BF 42
	Zăbala2	Cl.A /2	BF 450;	HERMES	Cernat2	Cl.E	BF 43
JELLY	Gheorghe	Cl.A /2	BF 575	CARRERA	Sanzieni	Cl.A /2	T89P770
	Tg Sec1	Cl.A /3	T82P429/22		Tg Sec4	Cl.A /3	BF 64639
RED FANTASY	Tg Sec2	Cl.A /3	T82P429/22		Gheorghe	Cl.A/2	BF 589
	Cernat2	Cl.A /3	BF 42		Zăbala1	Cl.A /3.3	P 39
RED LADY	Gheorghe	Cl.A /2	BF 589		Cernat3	Cl.A /5	T147P685
	Tg Sec3	E /5	T23P283		Cernat2	Cl.A/3	T129P645
				Tg Sec2	Cl.A /3	T82P429	

Judeţul HARGHITA

RED LADY	M.Ciuc1	CL 1/1	86461-594	JELLY	Ciceu	CL A/2	86461-594
BELLAROSA	M Ciuc 2	CL A/2	83320-61	CARRERA	M Ciuc3	CL B/2	86519-406
	Sâncraieni	CL A/2	86519-429		M Ciuc3	CL A/2	86461-594
HERMES	M Ciuc3	CL A/2	86188-296		Sâncraieni	CL A/2	86519-429
DESIRE	Ciceu	E/2	86461-594		M Ciuc 2	CL A/2	83320-61
REDFANTASY	M Ciuc3	CL B/2	M Ciuc3				

* Sunt specificate codificat doar localităţile în care au sediul unitatile/fermele care au acceptat sa se preleveze probe de pe terenurile lor / localităţile cele mai apropiate de sola din care s-au prelevat tuberculii.

**Categoria biologică este cea declarată la recoltarea culturii. Conform Legii seminţei şi materialului săditor - pentru categoriile elita (E), clasa A şi clasa B este obligatorie respectarea unor condiţii referitoare la situaţia virotică a cartofului pentru sămânţă. Unul din motivele de respingere sau de declararea a materialului fiind adesea legat şi de prezenţa virusului Y (PVY) în procente care depăşesc limita maxim admisă.

***Parcellele sunt codificate conform hartilor APIA, coordonatele solilor se regăsesc în baza de date georeferenţiată.

Din zona Harghita (Sâncrăieni, Miercurea Ciuc, Ciceu), tot în cadrul activității A I.4, partenerul P3 a prelevat 11 probe (7 soiuri) de la 5 producători (tabelul 6.1.). Tuberculii au provenit din următoarele soiuri: Bellarosa (din 2 sole din M Ciuc2+3, Sâncrăieni) Desire (din Ciceu) Carrera (din M. Ciuc, Sâncrăieni) Red Fantasy (din M. Ciuc3), Jelly (din Ciceu, M. Ciuc3), Hermes (din M. Ciuc3), Red Lady (din M. Ciuc1).

Au fost prelevate 8 probe de către P1 din regiunea Cluj (de la 6 producători din Viisoara, Viisoara Lunca Arieșului, Pădureni, Aiton, Răscruci), o probă de către CO din Brașov (soiul Albastru Violet de Gălănești). Totodată, partenerul P2 a prelevat din zona Covasna (Târgu Secuiesc) probe din soiul Productiv. Coordonatele soleur se regăsesc în baza de date georeferențiate. Probele prelevate din zona Cluj în această activitate au provenit din soiurile: Carrera (Viisoara, Viisoara Lunca Arieșului); Bellarosa (Viisoara, Viisoara Lunca Arieșului, Pădureni, Răscruci); Roclas (Răscruci); Christian (Aiton).

Activitate II.7. Realizare primele hărți favorabilitate și de risc (rezultate preliminare, modele)

Datele obținute la testarea probelor prelevate în anul 2014 (probe provenite de la 9 producători din Brașov, 11 fermieri din Covasna, 5 din Harghita, 6 din Cluj și 5 din Suceava) au fost utilizate pentru realizarea primelor hărți, în vederea estimării favorabilității și a zonelor de risc pentru cultura cartofului în corelație cu incidența spațială a virusului Y (tulpini necrotice). Referitor la zonele recomandate pentru cultivarea cartofului pentru samanta, nu putem deocamdata, să formulăm concluzii pertinente, deoarece testele au fost efectuate doar un an. Din figura 7.1., se desprind doar rezultate preliminare privind existența și frecvența probelor infectate cu virusul Y al cartofului și cu tulpinile necrotice ale acestui patogen.

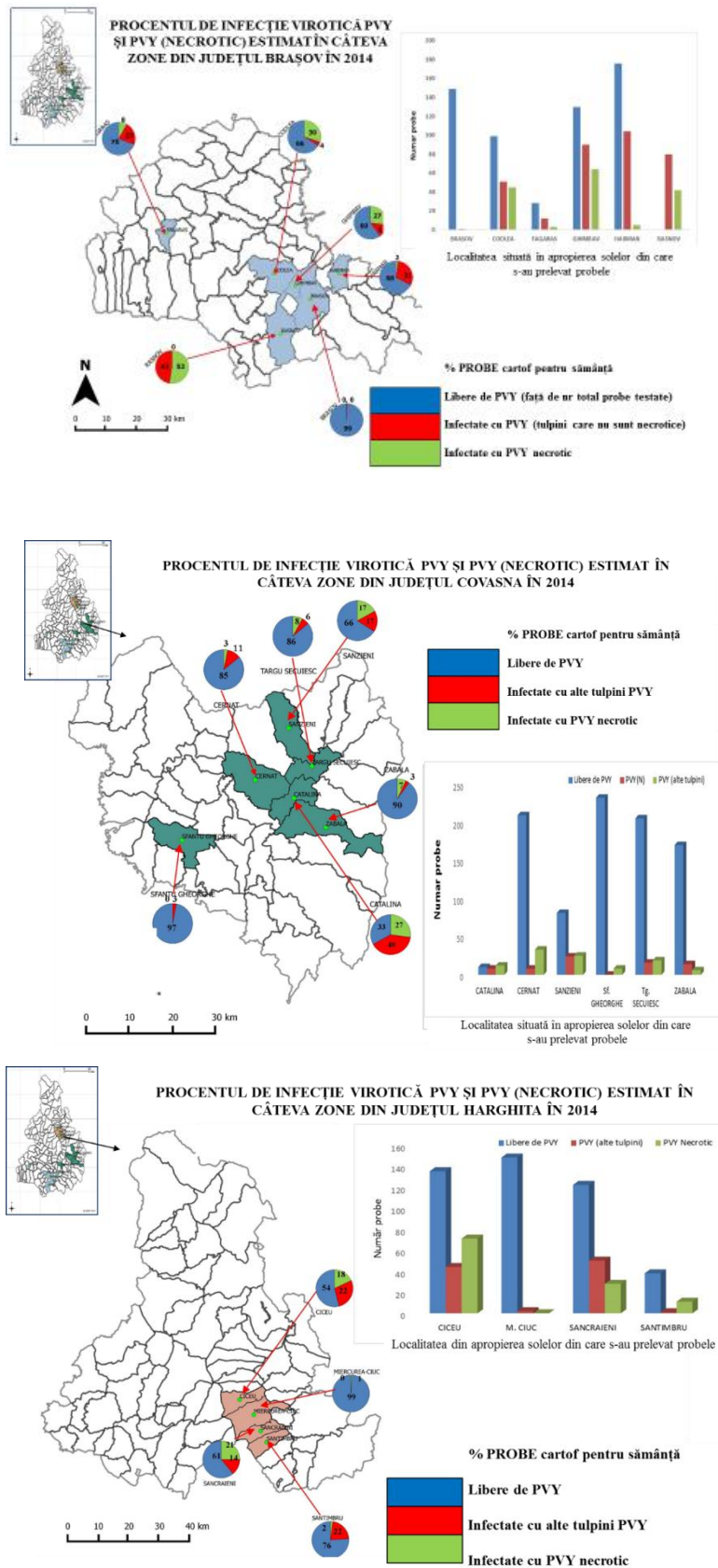


Fig. 7.1. Modele harti favorabilitate zonele Brasov, Covasna, Harghita (detaliere pe site-ul proiectului).

Activitate II.8. Diseminare rezultate preliminare

Articol revista B+ Bădărău C.L., Chiru S.C., Damșa F., Mărculescu A. „Behavior of several potato varieties with different starch content to potato tuber necrotic ringspot disease (preliminary studies)”. In: Bulletin of Transilvania University Brasov, Series II: Forestry • Wood Industry • Agricultural Food Engineering, Vol. 8(57) No.1 – 2015, p. 43-51, ISSN 2065-2135 (Print), ISSN 2065-2143 (CD-ROM)

Articole popularizare

1. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Olteanu Ghe., Chiru S. „Tulpinile necrotice ale virusului Y al cartofului – o permanentă provocare pentru fermieri și producători”. In: Cartoful in România” Vol. 24(1) 2015, p. 70-73
2. Bădărău Carmen Liliana, Chiru Sorin Claudiu, Sigmond Simona. „Tulpinile necrotice ale virusului Y al cartofului (PVY) – o amenințare prezentă deocamdată pentru venitul producătorilor de cartof pentru sămânță”. In: Horti magazin octombrie 2015, p15
3. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Olteanu Ghe., Chiru S. „Tulpinile necrotice ale virusului Y al cartofului (PVY) – o provocare pentru cercetători și o amenințare pentru producătorii de cartof pentru sămânță” In: Revista Hortus nr. 14, 2015, p.133-138

Postere

1. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Olteanu Ghe., Chiru S. „Behavior of several potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties with different starch content to potato tuber necrotic ringspot disease”. Al 3-lea Congres International NEEFood (Tehnologii Alimentare în Nordul și Estul Europei) “Provocări locale și globale în Știința și Tehnologia Alimentului”, 20-23 mai 2015, Brasov, site <http://neefood2015.rosita.ro/>
2. Damșa Florentina, Woinaroschy A., Olteanu Ghe., Bădărău Carmen Liliana, Mărculescu Angela “Total monomeric anthocyanin and total flavonoid content of processed purple potato”. Al 3-lea Congres International NEEFood (Tehnologii Alimentare în Nordul și Estul Europei) “Provocări locale și globale în Știința și Tehnologia Alimentului”, 20-23 mai 2015, Brasov, site <http://neefood2015.rosita.ro/>
3. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Olteanu Ghe., Mărculescu A. “Total ascorbic acid content in 10 varieties of potato different resistant to PVY necrotic strains”. A II-a Conferința internațională “New Trends on Sensing – Monitoring - Telediagnosis for Life Sciences”, Brașov, NT-SMT-LS, 2-5 septembrie 2015, <http://www.healthfoodenviron.unitbv.ro/2015/>
4. Aurori A.C., Rakosy-Tican E. “The current status of inducing potato virus Y (PVY) resistance in *Solanum tuberosum* by biotechnological approaches”. Pannonian Plant Biotechnology Association Conference (PPBA) Integration fundamental research into the practical agriculture Progress and Perspectives" 8-10 iunie 2015, Slovenia, Ljubljana, <http://www.pannonbiotech.hu>
5. Investigation of the potato virus Y status in seed potatoes in Romania (preliminary studies) Bădărău C.L., Rakosy E., Damșa F., Olteanu G., Chiru S.C. The 18th Joint Meeting of the EAPR Breeding and Varietal Assessment Section and the EUCARPIA Section Potatoes, Vico Equense, Italia, 15-19.11.2015, <http://www.pqsonline.it/corsi-congressi/assessment-section-and-the-eucarpia-section-potatoes>

Prezentari orale

1. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Nistor Andreea, Chiru Nicoleta. „Effects of some electrotherapy treatments of PVX and PVY infected potato plantlets cv. Roclas, on the chlorophyll and anthocyanin content of regenerated plants”. Conferința Anuală de Biologie, 22-26 iunie 2015 Atena, Grecia, site www.atiner.gr. (Abstracts book, ed. p. 21-23)
2. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Nistor Andreea. “Effects of some combined treatments of PVY infected potato plantlets cv. Roclas”. A II-a Conferința internațională “New Trends on Sensing –Monitoring-Telediagnosis for Life Sciences”, Brașov, NT-SMT-LS, 2-5 septembrie 2015, <http://www.healthfoodenviron.unitbv.ro/2015/>
3. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Chiru S., Olteanu Ghe. „Tulpinile necrotice ale virusului Y al cartofului – o permanentă provocare pentru fermieri și producători”. Sesiunea de referate științifice Horticultura 2015, 15 octombrie 2015, ASAS București

Capitole carte “Challenges in medicine, food control and environmental”, Editori Floroian Laura, Badea Mihaela, Editura Universității Transilvania din Brașov, 2015, ISBN 978-606-19-0591-1 (CD, editura acreditată CNCȘIS)

1. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Nistor Andreea . “Effects of some combined treatments of PVY infected potato plantlets cv. Roclas”. Capitolul 11, pag. 160-188
2. Bădărău Carmen Liliana, Damșa Florentina, Olteanu Ghe., Mărculescu A. “Total ascorbic acid content in 10 varieties of potato different resistant to PVY necrotic strains”. Capitolul 12, pag. 189-203

Director proiect
Dr. ing. Sorin Claudiu CHIRU



Titlul proiectului: Tehnologie inovativă pentru eficientizarea controlului virusului Y (tulpini necrotice), patogen al cartofului cu incidență spațială ridicată în contextul schimbărilor climatice din România PN-II-PT-PCCA-2013-4-0452, Contract nr. 178 / 2014