

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

UTILIZAREA TEHNICILOR DE BIOLOGIE MOLECULARĂ PENTRU DETERMINAREA PURITĂȚII VARIETALE LA PLANTE DE CÂMP CULTIVATE PE TERITORIUL ROMÂNIEI

Doctorand: VASILE Valentina

Conducător științific: Prof. univ.Dr. CORNEA Călina Petruța

CUVINTE CHEIE: puritate varietală; grâu; porumb; markeri SSR; KASP; diversitate genetică

Agricultura are o importanță deosebită pentru umanitate și nu este de mirare faptul că interesul și evoluția cercetărilor a crescut în acest domeniu. Dezvoltarea tehnicilor de biologie moleculară, în special a celor care utilizează markerii moleculari sau tehnologia bazată pe reacția PCR, au oferit în ultimele decenii noi oportunități pentru cercetările din domeniul agricol. Cu toate acestea, schimbările climatice generează în continuare o nesiguranță alimentară datorată reducerii recoltelor, creșterilor de preț aferente, afectând în acest mod situația economică mondială.

Dat fiind rolul important jucat de țara noastră în ceea ce privește producția de cereale a Uniunii Europene devine imperativ faptul că investițiile în agricultură, în resursele umane și materiale implicate, precum și în evoluția cercetărilor științifice din domeniu, ar trebui să devină o prioritate.

Identificarea soiurilor de plante și evaluarea purității varietale joacă un rol important atât în controlul calității semințelor, cât și în reproducerea, înregistrarea și protecția plantelor.

În ceea ce privește controlul calității semințelor este important să se mențină sau să se confirme puritatea genetică a unui soi, iar utilizarea tehnicilor de biologie moleculară este mult mai utilă decât atunci când se utilizează tehnici ce implică abordarea fenotipică. Tehnicile bazate pe identificarea morfologică implică un efort intens iar puritatea și varietatea diverselor tipuri de semințe poate fi uneori dificil de evaluat. Astfel, utilizarea tehnicilor de biologie moleculară în testarea soiurilor poate simplifica mult procesul de control al semințelor, crescând obiectivitatea, eficiența și scăzând totodată efortul material depus și timpul necesar testării în câmp.

Scopul acestui studiu de cercetare a fost acela de a evalua puritatea varietală și implicit diversitatea genetică la principalele plante de cultură cultivate pe teritoriul

României prin utilizarea tehnicilor de biologie moleculară. În acest sens, prezentul studiu de cercetare a urmărit evaluarea purității varietale și a diversității genetice la diferite soiuri de grâu și linii consangvinizate de porumb cultivate pe teritoriul României folosind tehnici de biologie moleculară bazate pe utilizarea markerilor SSR.

În vederea atingerii scopului prezentului studiu de cercetare au fost parcurse următoarele obiective:

1. Selecția unei tehnici de biologie moleculară care să utilizeze markeri fiabili, astfel încât rezultatele să poată fi obținute rapid, iar tehnologia să fie ușor de utilizat, să nu genereze costuri ridicate, să nu necesite o cantitate mare de ADN și informații prealabile despre genomul plantei.

2. Selecția metodei de lucru și a celor mai bune condiții de reacție pentru markerii SSR selectați, metodă care să permită obținerea de rezultate satisfăcătoare în condiții de repetabilitate și reproductibilitate.

3. Selecția celor mai informativi markeri SSR care să permită evidențierea polimorfismului genetic asociat materialului biologic folosit.

4. Determinarea purității varietale la diferite soiuri de grâu și linii consangvinizate de porumb cultivate pe teritoriul României cu ajutorul markerilor SSR selectați.

5. Evaluarea diversității genetice la diferite soiuri de grâu și linii consangvinizate de porumb cultivate pe teritoriul României cu ajutorul markerilor SSR selectați.

6. Evidențierea faptului că sunt asigurate cerințele de calitate în producția de semințe certificate în România.

În urma atingerii obiectivelor propuse, se va putea realiza o determinare mai precisă a purității varietale la nivel de sămânță pentru soiurile de plante selectate și se va putea evidenția prezența în culturile de cereale din România a unei germoplasme diversificate, care menține statutul României de important cultivator și producător de cereale din Europa.

Prezenta lucrare a fost structurată în două părți principale și anume partea I ce prezintă **studiul bibliografic** și partea II ce prezintă **cercetările proprii**.

Prima parte a lucrării are incluse două capitole în care este prezentată atât o sinteză asupra stadiului actual al cercetărilor privind determinarea purității varietale la plante de câmp utilizând tehnici de biologie moleculară, cât și o sinteză a datelor referitoare la markerii moleculari și a tehnicilor de biologie moleculară bazate pe utilizarea acestora.

În **capitolul I** intitulat „**Stadiul actual al cercetărilor privind determinarea purității varietale la plante de câmp utilizând tehnici de biologie moleculară**” sunt sintetizate atât informații asupra stadiului actual și al tendințelor privind modalitățile de evaluare a purității varietale la plante, anume, determinarea purității varietale prin electroforeza proteinelor și determinarea purității varietale prin

utilizarea markerilor moleculari, cât și reglementări privitoare la modul de determinare al purității varietale și aplicarea tehnicilor de biologie moleculară la principalele plante de cultură. Dat fiind statutul României de important producător și exportator de grâu și porumb, cercetările în prezentul studiu s-au oprit asupra acestor două culturi. Astfel, este prezentată aici o sinteză asupra tehnicilor de biologie moleculară utilizate la grâu și porumb.

Capitolul II intitulat „**Markeri moleculari și tehnicile de biologie moleculară bazate pe utilizarea acestora**” cuprinde atât informații legate de clasificarea și importanța markerilor genetici, fiind incluși aici markerii tradiționali și markerii moleculari, cât și informații legate de markeri moleculari utilizați în tehnicile de biologie moleculară. Sunt sintetizate aici informații legate de markerii care nu au la bază tehnica PCR, precum și informații legate de markerii care au la bază tehnica PCR, cu enumerarea a zece dintre cei mai utilizați markeri PCR (markerii: RAPD, AFLP, RAMP, ISSR, SCAR, ScoT, CAPS, SNP, KASP și SSR). Dat fiind faptul că în prezentul studiu de cercetare s-au utilizat markerii SSR, s-a inclus în capitolul II și un subcapitol legat de importanța utilizării tehnicilor de biologie moleculară și a markerilor SSR în evaluarea purității varietale și a diversității genetice la plante de câmp.

Deoarece, conform studiilor de specialitate și a informațiilor prezentate în studiul bibliografic, tehnicile de biologie moleculară care utilizează markerii SSR prezintă numeroase avantaje în ceea ce privește simplitatea, eficiența, accesibilitatea și reproductibilitatea, aceștia au fost selectați în prezentul studiu de cercetare în vederea testării purității varietale și a diversității genetice la grâu și la porumb.

Partea a doua a lucrării include **capitolele III și IV**, unde sunt incluse informații legate de cercetările proprii privind determinarea purității varietale și a diversității genetice la diverse soiuri de grâu și diverse linii consangvinizate de porumb cultivate în România.

Capitolul III intitulat „**Determinarea purității varietale și a diversității genetice la soiuri de grâu cultivate în România**” include o scurtă introducere privind planul experimental, informații asupra materialelor și metodei de lucru, rezultate și discuții privind utilizarea markerilor SSR în determinarea purității varietale și a diversității genetice la soiurile de grâu selectate și concluzii parțiale rezultate în urma analizei datelor moleculare.

În subcapitolul „**Materiale și metode de lucru**” au fost introduse informații despre:

- Selecția materialului vegetal de grâu

Materialul vegetal utilizat în studiul de cercetare a fost reprezentat de 40 eșantioane de semințe (C1-C40) provenite de la Laboratorul Central pentru Calitatea Semințelor și a Materialului Săditor (LCCSMS), din diverse campanii de recoltare, precum și din colecții de semințe. Dintre acestea, 34 de eșantioane au fost reprezentate de soiuri certificate de grâu, restul fiind semințe din soiuri necertificate, precum grâu spelt

(*Triticum spelta* L.), *Triticum monococcum*, grâu emmer (*Triticum dicoccon* Schrank), semințe aparținând unui alt gen, precum semințe de triticales (*×Triticosecale* Wittmack) și ovăz golaș (*Avena nuda* L.), eșantioane provenite din colecția de semințe a LCCSMS.

Pentru 14 din cele 34 de soiuri certificate au fost introduse în studiu semințe din două campanii de recoltare (2019 și 2020), iar 4 dintre cele 14 soiuri au fost comparate și cu sămânța martor. Astfel, pe parcursul studiului de cercetare, au fost analizate în total 58 de eșantioane din cele două campanii de recoltare.

Pentru a scoate în evidență faptul că sunt respectate condițiile în ceea ce privește menținerea purității varietale, în studiu au fost introduse și șapte eșantioane de semințe aparținând aceluiași soi de grâu certificat, multiplicat în anul 2022 în locații diferite din județele Călărași, Ialomița, Suceava și Tulcea, aceste șapte eșantioane fiind comparate cu eșantionul martor.

- Selecția metodei de izolare ADN

Extracția ADN a fost efectuată cu ajutorul kitului de extracție NucleoSpin Plant II (Macherey -Nagel). Selectarea tamponului de liză a fost stabilită în urma unui plan experimental ce a constatat în utilizarea a trei tampoane de liză: un tampon pe bază de CTAB (PL1), un tampon care conține SDS (PL2) și un tampon de liză (CF) al unui kit de extracție din alimente și furaje (NucleoSpin Food).

- Markerii SSR utilizați în experimente

În studiul de față au fost selectați și utilizați pentru evaluarea purității varietale și a diversității genetice a unor soiuri de grâu cultivate pe teritoriul României un număr de 22 de markeri SSR. Dintre aceștia, 14 markeri SSR (DuPw167, DuPw217, DuPw004, DuPw115, DuPw205, Xgwm155, Xgwm413, Xgwm003, Xgwm372, Xbarc184, Xbarc347, Xbarc074, Xgwm052 și Xgwm095) sunt recomandați de un organism de acreditare internațional (ISTA) pentru verificarea purității varietale a soiurilor de grâu, iar markerii SSR rămași (Xwmc603, Xwmc596, Xwmc418, Xbarc170, Xgwm469, Xwmc474, Xwmc533, Xgwm71) au fost selectați din literatura de specialitate pentru a fi testați în scopul ales.

- Planul experimental privind selectarea condițiilor de reacție

Pentru cei 14 markeri SSR (DuPw167, DuPw217, DuPw004, DuPw115, DuPw205, Xgwm155, Xgwm413, Xgwm003, Xgwm372, Xbarc184, Xbarc347, Xbarc074, Xgwm052 și Xgwm095) planul experimental a constatat în alegerea pentru fiecare marker în parte atât a mixului PCR de reacție, cât și a temperaturii optime de annealing, astfel încât produșii de amplificare rezultați să poată fi bine evidențiați, fără apariția de produși nespecifici de amplificare, permițând o bună interpretare a rezultatelor obținute. În acest scop, s-au testat trei amestecuri de reacție PCR.

Pentru restul markerilor SSR optimizarea a constatat doar în realizarea unui gradient de temperatură în vederea alegerii temperaturii de annealing optime, precum și variații ale concentrației de primeri și a timpilor de reacție.

- Condițiile finale de reacție selectate

Sunt incluse aici condițiile finale de reacție pentru cei 22 de markeri SSR, condiții ce au fost selectate în urma analizei datelor obținute în planul experimental de optimizare al reacției PCR.

- Markerii KASP utilizați în experimente

Pentru a demonstra că rezultatele obținute cu ajutorul markerilor SSR sunt reproductibile, în prezentul studiu de cercetare au fost utilizați și 3 markeri KASP (markerul asociat genei *1-FEH w3*, markerul BS00023119 (6A) și markerul KASP BS00060097 (4A)), markeri utilizați pentru prima dată la nivel național pentru evaluarea purității varietale a soiurilor de grâu.

În subcapitolul „**Rezultate și discuții**” sunt prezentate informații despre rezultatele și discuțiile referitoare la: selecția metodei de izolare ADN pentru soiurile de grâu testate, optimizarea condițiilor de reacție pentru markerii SSR testați, analiza produșilor obținuți cu cei 22 de markerii SSR testați, evaluarea purității varietale și evaluarea diversității genetice a soiurilor de grâu prin utilizarea unor markeri SSR, precum și rezultate și discuții legate de utilizarea tehnicii KASP în evaluarea purității varietale și a diversității genetice a soiurilor de grâu selectate.

În urma analizei datelor obținute ca urmare a aplicării tehnicilor de biologie moleculară în vederea determinării purității varietale și a diversității genetice la soiurile de grâu selectate au putut fi enunțate în final o serie de **concluzii parțiale**.

Metoda de izolare ADN selectată pentru soiurile de grâu testate a permis obținerea unor bune rezultate de amplificare, ADN extras îndeplinind criteriile de acceptabilitate cu privire la concentrația și puritatea optimă pentru reacția de amplificare cu markeri SSR. Amplificabilitatea ADN extras a fost dovedită pentru toate condițiile de extracție testate, metoda de extracție selectată putând fi folosită și pentru alte specii de cereale.

Metoda de lucru aleasă pentru determinarea purității varietale și a diversității genetice la soiurile de grâu selectate cu ajutorul markerilor SSR îndeplinește condițiile referitoare la **robustețe, reproductibilitate și repetabilitate**.

Toți markerii SSR selectați au prezentat produși de amplificare în condițiile de reacție selectate, iar utilizarea unei enzime Hot Start a crescut **specificitatea** metodei.

În urma **analizelor moleculare** s-a observat că din cei **22 de markeri SSR, 21** au prezentat un anumit grad de polimorfism pe eșantioanele de grâu selectate.

Cel mai mare grad de polimorfism a fost observat pentru markerul **Xwmc596** (7 alele), urmat de markerii **Xwmc603** și **Xwmc474** (6 alele); Xgwm71, Xbarc347 și Xbarc074 (5 alele); Xgwm469, DuPw004, Xgwm155 și Xbarc184 (4 alele); Xwmc418, Xbarc170, Xwmc533, DuPw167, DuPw115, Xgwm413 și Xgwm372 (3 alele); DuPw217, DuPw205, Xgwm003 și Xgwm095 (2 alele). Markerul Xgwm052 a prezentat cel mai scăzut grad de polimorfism (o alelă), dar poate fi luat în considerare pentru studii viitoare asupra altor soiuri de grâu. Astfel, toți markerii SSR selectați au demonstrat că

au potențial în determinarea purității varietale, reușind să facă distincția între diferitele soiuri de grâu, dar și între specii și genuri diferite.

Analizele moleculare au arătat, totodată, că în cele două campanii de recoltare (2019 și 2020) nu s-au observat contaminări ale soiurilor, demonstrând astfel că **sunt menținute cerințele privind asigurarea calității producției de semințe certificate**. Nu au fost observate contaminări nici în situația comparării semințelor din cele 4 soiuri de grâu certificate cu sămânța martor și nici în cazul comparării semințelor aparținând aceluiași soi de grâu certificat, multiplicat în locații diferite cu sămânța martor.

Utilizarea unei noi tehnici în evaluarea purității varietale a soiurilor de grâu, și anume **tehnica KASP** arătat că rezultatele obținute sunt **reproductibile** întrucât nu au fost observate diferențe între rezultatele obținute prin utilizarea markerilor SSR și cele obținute prin utilizarea markerilor KASP. Astfel, utilizarea markerilor KASP: BS00023119_6A, BS00060097 și a markerului asociat *1-Feh-w3*, a arătat că între soiurile testate din cele două campanii (2019 și 2020) și comparate cu sămânța martor și între semințele multiplicat în locații diferite și comparate cu sămânța martor, nu sunt diferențe.

S-a putut demonstra în acest mod că este minimizat riscul ca metoda bazată pe utilizarea markerilor SSR să genereze rezultate fals pozitive sau fals negative, dar și faptul că sunt respectate condițiile în ceea ce privește menținerea purității varietale, factor important în procesul de ameliorare și certificare a semințelor.

Analiza diversității genetice pentru cele 40 de eșantioane a arătat capacitatea markerilor SSR selectați de a detecta diversitatea genetică între diferitele soiuri de grâu, dar și între grâu și alte specii. Markerii SSR selectați au putut să distingă grâul comun de *Triticum spelta* L., *Triticum monococcum*, *Triticum dicoccon* Schrank, dar și de cereale aparținând altui gen precum triticales (*×Triticosecale* Wittmack) și *Avena nuda* L.. Astfel, analiza datelor statistice generate de aplicația software NTSYSpc 2.10e și a dendrogramei generate de aplicarea algoritmului UPGMA și a coeficientului Dice, a putut evidenția prezența în culturile certificate de grâu din România a unei germoplasme diversificate.

Markerii SSR selectați în prezentul studiu de cercetare s-au dovedit a fi utili în evaluarea purității varietale și a diversității genetice, iar cei polimorfi pot fi utilizați și în viitoare programe de ameliorare a grâului. Utilizarea pe viitor a unui număr mai mare de markeri SSR poate crește specificitatea metodei.

În cadrul **capitolului IV** intitulat „**Determinarea purității varietale și a diversității genetice la linii consangvinizate de porumb cultivate în România**” sunt prezentate informații legate de materiale și metode utilizate în studiul experimental, rezultatele și discuțiile privind utilizarea markerilor SSR în determinarea purității varietale și a diversității genetice și concluzii parțiale privind

utilizarea markerilor SSR în determinarea purității varietale și a diversității genetice la liniile consangvinizate de porumb selectate.

Subcapitolul „**Materiale și metode**” include informații despre:

- Selecția materialului vegetal de porumb

Materialul vegetal de porumb a fost reprezentat de semințe din 13 linii consangvinizate de porumb (LC1-LC13) cultivate în România, obținute de la Laboratorul Central pentru Calitatea Semințelor și a Materialului Săditor (LCCSMS). Semințele testate au aparținut claselor de semințe prebază generație 2(PB G2) și bază (B). Pentru a verifica dacă puritatea soiului este păstrată, pentru 3 dintre liniile consangvinizate de porumb au fost analizate în paralel semințe atât din categoriile PBG2, cât și din categoria B. Pentru a se demonstra că markerii SSR își dovedesc eficiența în evaluarea purității varietale a liniilor de porumb au fost introduși în studiu și doi hibrizi de porumb (H1 și H2).

- Extracția ADN din semințe de porumb

Optimizarea în această etapă a constatat în extracția ADN din semințe de porumb utilizând tamponul PL1 al kitului NucleoSpin Plant II, variațiile incluse fiind: extracții ADN din semințe, embrioni și material vegetal rezultat în urma germinației semințelor pentru 3 dintre eşantioanele selectate.

- Markerii SSR utilizați în experimente

Pentru evaluarea purității varietale și a diversității genetice a celor 13 linii consangvinizate de porumb au fost selectați 8 markeri SSR (umc1545, umc1448, umc1117, umc1061, phi109275, phi102228, phi083, phi015).

- Testarea condițiilor de reacție pentru evaluarea purității varietale a liniilor consangvinizate de porumb selectate

Planul experimental a inclus optimizări ce au constatat în variația concentrației primerilor, volumului final de reacție și realizarea pentru toți markerii SSR a unui gradient de temperatură în vederea alegerii temperaturii optime de annealing.

Subcapitolul „**Rezultate și discuții**” a inclus rezultate și discuții privind selecția și optimizarea metodei de izolare ADN, optimizarea condițiilor de reacție pentru markerii SSR selectați, analiza produșilor obținuți cu markerii SSR selectați, rezultate și discuții privind evaluarea purității varietale a liniilor consangvinizate și a hibrizilor de porumb ca urmare a utilizării markerilor SSR, precum și analiza diversității genetice a liniilor consangvinizate de porumb selectate.

În ceea ce privește selecția și optimizarea metodei de izolare ADN, mojararea semințelor și extracția ADN cu tamponul de liză PL1 s-a dovedit a fi cea mai eficientă și rapidă metodă de extracție. Metoda de izolare selectată a permis obținerea unor bune rezultate de amplificare cu cei 8 markerii SSR testați, ADN genomic îndeplinind criteriile de acceptabilitate cu privire la concentrația și puritatea optimă pentru reacția PCR.

În condițiile de reacție selectate pentru studiul experimental, toți cei 8 markeri SSR au prezentat produși de amplificare.

În urma **analizelor moleculare** s-a observat că toți markerii selectați au prezentat un anumit grad de polimorfism pe liniile consangvinizate de porumb selectate. Astfel, markerul **phi015** s-a dovedit a fi cel mai polimorf dintre cei 8 markeri SSR selectați (5 alele), urmat de markerii **umc1545**, **umc1448** și **umc1117** (4 alele), markerii **phi102228** și **phi083** (3 alele) și markerii **umc1061** și **phi109275** (2 alele).

Markerii SSR testați și-au dovedit eficiența atât în **evaluarea purității varietale a liniilor de porumb, cât și în cazul verificării purității varietale a hibrizilor de porumb** selectați (H1 și H2).

Verificarea purității varietale a celor doi hibrizi de porumb selectați a putut fi confirmată doar cu 3 dintre cei 8 markeri SSR folosiți în studiu. Astfel, cu toate că markerul **phi109275** nu a prezentat inițial un polimorfism ridicat, acesta a putut stabili cu certitudine puritatea varietală a hibridului H2. Markerul **umc1117** a putut stabili cu certitudine puritatea varietală a ambilor hibrizi, iar markerul **phi083** a putut să stabilească cu certitudine puritatea varietală a hibridului H1.

Analiza statistică a datelor a inclus realizarea unei matrice binare precum și generarea, cu ajutorul unei aplicații online, a unei dendrograme care a arătat diversitatea genetică dintre liniile consangvinizate de porumb introduse în studiu.

În urma analizei datelor statistice generate de algoritmul de calcul UPGMA cu ajutorul coeficientului Dice și a datelor matricei de similaritate, s-a putut observa o asemănare genetică mare între liniile consangvinizate de porumb **LC1(PBG2)** și **LC2 (B)**, ceea ce demonstrează că **puritatea soiului este păstrată între categoriile de semințe**.

Întrucât între liniile consangvinizate de porumb **LC3 (PBG2)** și **LC13 (B)**, precum și între liniile **LC4 (B)** și **LC10 (PBG2)**, evaluarea produșilor de amplificare cu cei opt markeri SSR a evidențiat un grad de similitudine între 25- 37%, se pot emite două ipoteze: fie o contaminare a liniei inițiale, fie o îmbunătățire a liniei consangvinizate inițiale dorite de ameliorator.

Analizele moleculare realizate au demonstrat că markerii SSR s-au dovedit a fi utili pentru evaluarea purității varietale și a diversității genetice, fiind capabili să diferențieze între linii înrudite de porumb și să plaseze liniile consangvinizate de porumb în grupuri bazate pe asemănarea genetică.

Evaluarea purității varietale și a diversității genetice între diferitele linii consangvinizate de porumb poate juca un rol important în procesul de ameliorare și de obținere de noi hibrizi, de aceea, rezultatele obținute pot fi un punct de plecare pentru evaluarea altor linii consangvinizate de porumb și selectarea de linii cu trăsături dorite în programe de ameliorare a hibrizilor de porumb.

Rezultatele obținute atât în capitolul III, cât și în capitolul IV vor putea fi pe viitor utilizate în dezvoltarea și validarea unor metode noi de evaluare a purității varietale, în programe de ameliorare și/sau conservare a germoplasmei.

La finalul lucrării au fost incluse o serie de **concluzii generale**, precum și **caracterul de noutate al studiului de cercetare**.

Rezultatele obținute în prezentul studiu de cercetare aduc în integralitate un caracter de noutate în domeniu pe plan național.

Caracterul de noutate al temei de cercetare constă în faptul că, pe plan național, nu sunt validate și/ sau acreditate metode care să permită evaluarea purității varietale a materialului săditor prin tehnici de biologie moleculară bazate pe utilizarea markerilor SSR.

Un alt aspect de noutate al temei de cercetare constă și din faptul că tehnica KASP este utilizată pentru prima dată la nivel național în evaluarea purității varietale a soiurilor de grâu.

Rezultatele obținute în acest studiu de cercetare oferă atât informații de actualitate asupra diversității genetice a materialului săditor de grâu și porumb cultivat pe teritoriul României, cât și informații ce vor putea fi pe viitor utilizate în dezvoltarea unor metode noi de evaluare a purității varietale sau în programe de ameliorare și/sau conservare a germoplasmei.

Întrucât metodologia privind utilizarea markerilor SSR în evaluarea purității varietale a materialului săditor de grâu și porumb nu este pe deplin definită în legislația națională și internațională, prezentul studiu poate constitui pe viitor o sursă de informare în vederea dezvoltării unei metodologii adecvate care să poată fi aplicată atât la nivel național, cât și internațional.

Rezultatele obținute în prezentul studiu de cercetare vor putea fi utilizate pe viitor pentru validarea și acreditarea de metode care să permită evaluarea purității varietale a semințelor și a materialului săditor de grâu și porumb, iar metodologia de lucru va putea fi pe viitor introdusă în legislația națională specifică.

Activitatea de cercetare a fost efectuată atât în cadrul **Facultății de Biotehnologii** a USAMV din București, cât și în cadrul **Laboratorului de Electroforeză și Organisme Modificate Genetic** al LCCSMS. Activitatea de cercetare privind tehnica KASP a fost realizată în **Laboratorul de Fenotipare și Genotipare** al INCDA Fundulea.

Lucrarea de față conține un număr de 202 pagini, incluzând un număr de 13 tabele și 59 de figuri. Lucrarea include 6 anexe. În anexele I și II sunt prezentate listele de tabele și figuri. În anexa III sunt prezentate date referitoare la concentrația ADN și rapoartele de puritate pentru soiurile de grâu folosite în studiu. În anexele IV și V sunt prezentate datele incluse în matricea de similaritate rezultată în urma aplicării algoritmului UPGMA și a coeficientului Dice la speciile de grâu (anexa IV) și porumb (anexa V) testate. În anexa VI sunt prezentate rezultatele moleculare obținute pentru

markerii SSR utilizați în prezentul studiu pentru evaluarea purității varietale a soiurilor de grâu selectate. Bibliografia conține 213 referințe bibliografice publicate în reviste de specialitate și surse web.

Rezultatele obținute în prezentul studiu de cercetare au fost diseminate prin 4 articole publicate atât în reviste indexate WOS și BDI, cât și prin comunicări științifice la manifestări internaționale.