

STAȚIUNEA DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU POMICULTURĂ BISTRIȚA

Str. Drumul Dumitrei Nou, nr. 3, cod 420127, Bistrița

tel. 0263-217895, tel/fax. 0263-214752,

www.scdp-bistrita.ro

RAPORT FINAL



ADER 4.1.3. Studiul impactului prunului transgenic rezistent la Plum pox potyvirus asupra organismelor nevizate si evaluarea stabilității rezistenței și a performanțelor agronomice ale acestuia în contextul protejării mediului și a sănătății consumatorilor.

Plan Sectorial ADER

ADER 4.1.3/06.10.2015

- **Titlul proiectului:** *Studiul impactului prunului transgenic rezistent la Plum pox potyvirus asupra organismelor nevizate si evaluarea stabilității rezistenței și a performanțelor agronomice ale acestuia în contextul protejării mediului și a sănătății consumatorilor.*
- Valoarea proiectului: 762.500 lei
- Perioada de derulare a proiectului: 06.10.2015-05.12.2018

Finanțator: Ministerul Agriculturii și Dezvoltării Rurale (MADR)

Contractor: Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură Bistrița (SCDP Bistrița)

- **Director de proiect:** Dr. Ing. Zagrai Ioan

Partener: Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj-Napoca (USAMV Cluj) – P1

- **Responsabil P1:** Prof. Univ. Dr. Mărghițaș Liviu ALEXANDRU

1.Obiectivul proiectului vizează „studiul potențialului utilizării prunului transgenic în combaterea eficientă a virusului *Plum pox* (PPV), în contextul reducerii poluării mediului de abuzul utilizării pesticidelor și a efectului neutral asupra organismelor nevizate”.

2.Rezultate preconizate pentru atingerea obiectivului:

- Obținerea de date privind potențialul impact al transgenelor inserate în prunul modificat genetic asupra populațiilor indigene de afide vectoare;
- Analiza comparativă a preferinței albinelor pentru prunii transgenici și convenționali;
- Date privind potențialul productiv și calitativ al prunului transgenic în condițiile endemice de PPV din România;
- Evaluarea stabilității și durabilității rezistenței prunului transgenic în condiții de presiune de infecție naturală cu PPV și obținerea de fructe libere de virus;
- Evaluarea posibilității de reducere a numărului de tratamente fitosanitare necesare combaterii vectorilor în scopul producerii de prune cu mai puține reziduuri de insecticide;
- Realizarea unei broșuri cu informații utile referitoare la prunul transgenic;
- Recomandări pentru politica națională referitoare la OMG-urile cu insert similar prunului transgenic.



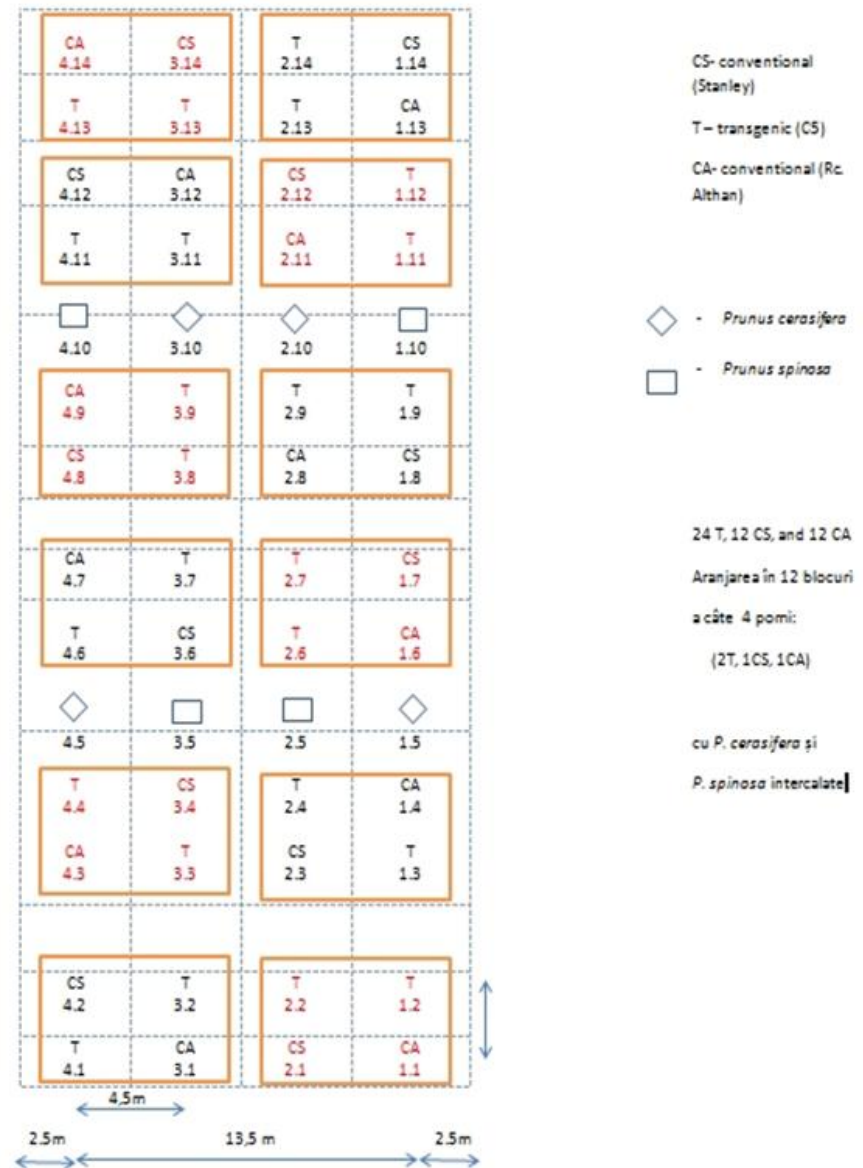
Activitățile proiectului:

- **Activitate 1 - Studiul potențialului impact al transgenelor inserate în prunul modificat genetic asupra populațiilor indigene de afide vectoare și stabilirea preferinței albinelor pentru prunii transgenici și convenționali.**
- **Activitate 2 – Evaluarea potențialului productiv și calitativ al prunului transgenic HoneySweet în condițiile reducerii numărului de tratamente fitosanitare necesare combaterii vectorilor.**
- **Activitate 3 – Evaluarea stabilității și durabilității rezistenței prunului transgenic în condiții de presiune de infecție naturală cu PPV.**
- **Activitate 4 - Diseminare rezultate.**

Lotul experimental

Experiențele în câmp au fost organizate în cadrul unui lot experimental care conține atât pruni transgenici, cât și pruni convenționali, ceea ce a permis o analiză comparativă (convențional-transgenic) care să conducă la atingerea obiectivelor asumate.

Lotul experimental, înființat în primăvara lui 2013, conține 56 de pomi, din care: 24 pruni transgenici (soiul HoneySweet), 24 pruni convenționali (12 pomi din soiul Renclod Althan și 12 din soiul Stanley), 4 pomi din specia *Prunus cerasifera* și 4 pomi din specia *Prunus spinosa*. Lotul este construit după un design statistic cu 12 blocuri a câte patru pomi fiecare (doi pruni transgenici – soiul Honey Sweet + doi pruni convenționali – soiurile Stanley și Renclod Althan).

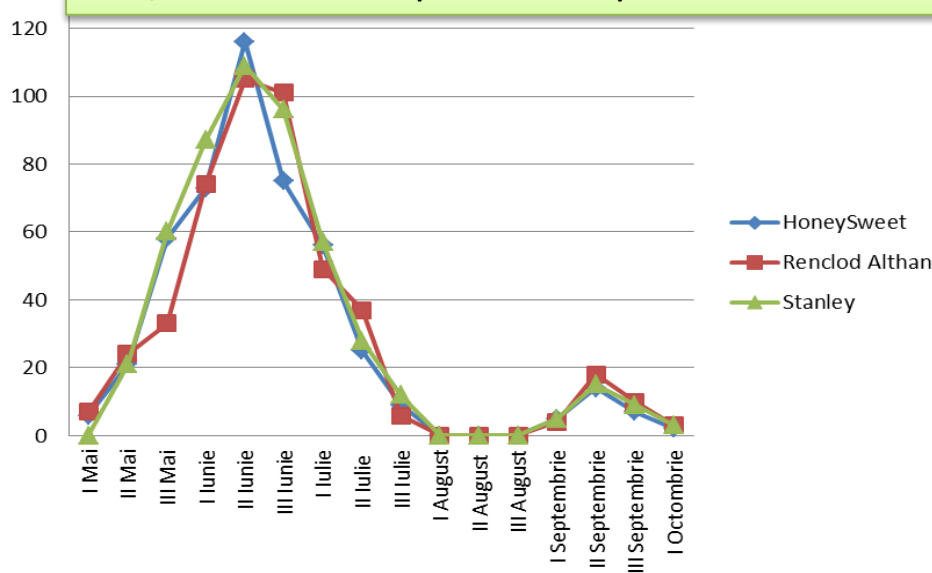


Rezultate obținute

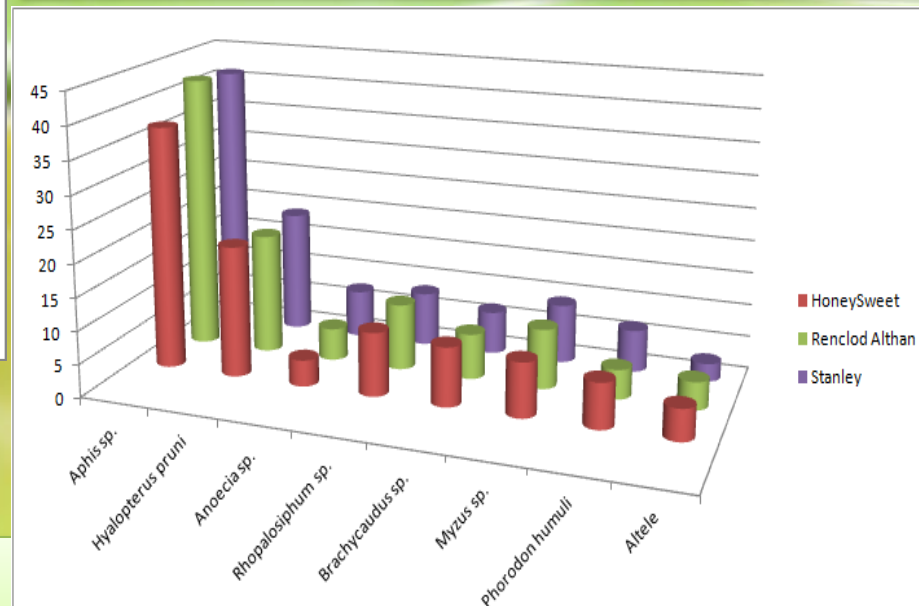
Activitate 1 - Studiul potențialului impact al transgenelor inserate în prunul modificat genetic asupra populațiilor indigene de afide vectoare și stabilirea preferinței albinelor pentru prunii transgenici și convenționali.

a) Monitorizarea afidelor vectoare

Curbele de zbor și numărul total de afide colectate în perioada 2016-2018, la cele trei soiuri de prun din lotul experimental - SCDP Bistrita



➤ Rezultatele evaluării potențialului impact al prunului transgenic asupra populațiilor indigene de afide arată o similaritate, atât a curbelor de zbor, cât și a numărului și speciilor de afide care au populat cele două categorii de prun (convențional și transgenic), ceea ce susține ipoteza efectului neutral al prunului transgenic asupra populațiilor indigene de afide vectoare



Speciile de afide capturate în perioada 2016-2018 la cele trei soiuri de prun luate în studiu

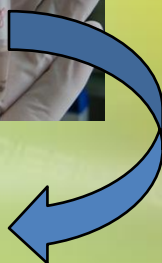
Evaluarea posibilității de reducere a numărului de tratamente cu insecticide pentru combaterea afidelor

Deoarece soiul 'HoneySweet' nu poate fi infectat cu PPV în mod natural prin intermediul afidelor vectoare, teoretic există posibilitatea reducerii numărului de tratamente pentru combaterea afidelor, fără a facilita răspândirea virusului. Totuși, situația este mai complexă deoarece evitarea unor tratamente cu insecticide ridică întrebări nu numai asupra combaterii directe a afidelor, ci și a unor alți dăunători problemă precum *Laspeyresia funebrana*. De aceea, dinamica zborului afidelor virulifere a fost urmărită în paralel cu cea a adulților de *Laspeyresia funebrana*. Monitorizarea afidelor s-a efectuat prin metoda "Sicky shoot", iar cea a viermelui prunelor cu ajutorul capcanelor feromonale.

Monitorizarea afidelor prin metoda "Sicky shoot"



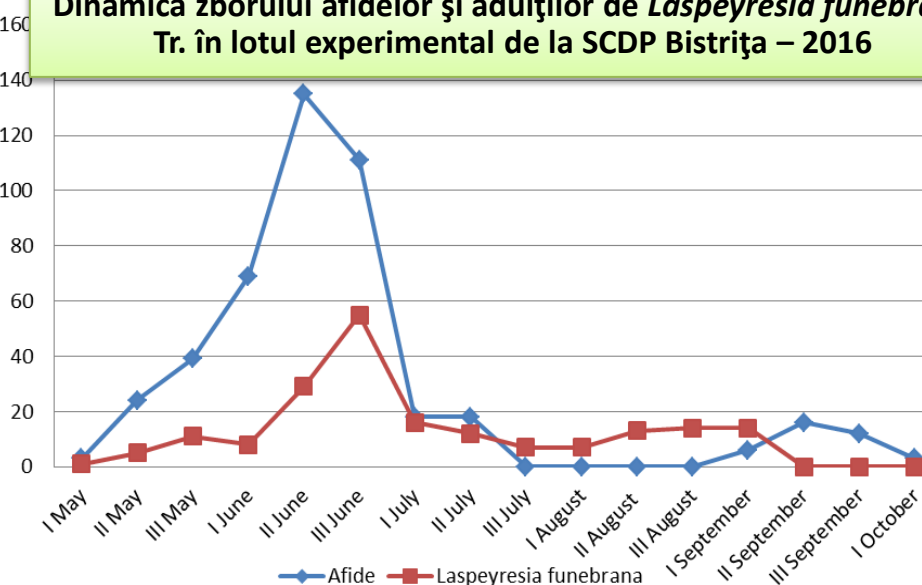
Monitorizarea adulților de *Laspeyresia funebrana* cu ajutorul capcanelor feromonale



Evaluarea posibilității de reducere a numărului de tratamente cu insecticide pentru combaterea vectorilor PPV

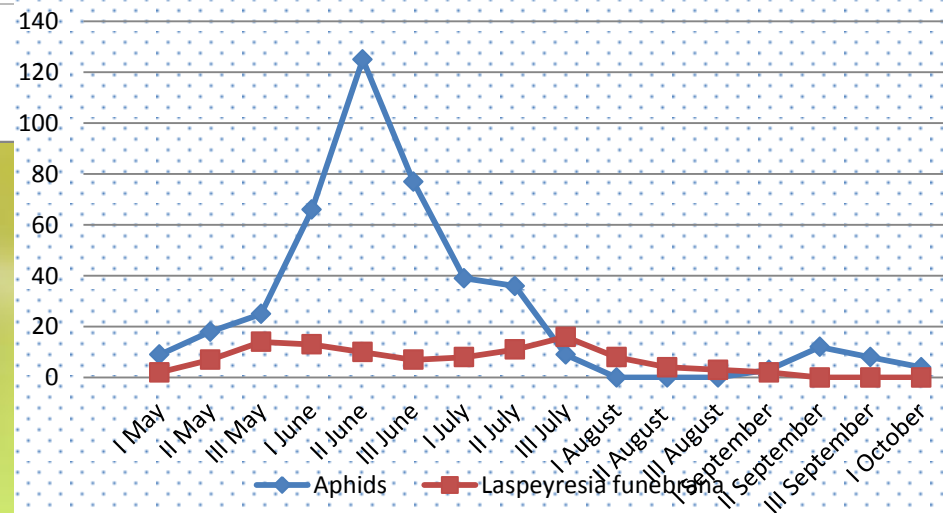
- Prin analiza simultană a curbelor de zbor (anii 2016 și 2017) ale afidelor și adulților de *Laspeyresia funebrana* Tr.) s-a constatat că perioadele de zbor coincid în cea mai mare parte. Prin urmare, tratamentele cu insecticide sunt necesare pentru combaterea viermelui prunelor, indiferent dacă este sau nu necesară combaterea afidelor. Totuși, identificarea unor perioade când curbele de zbor nu se suprapun permite evitarea unor tratamente cu insecticide, fără a stimula răspândirea virusului *Plum pox* în cazul prunului transgenic HoneySweet. Curbele de zbor ale celor doi dăunători din anii 2016 și 2017 identifică o astfel de perioadă în luna septembrie, când afidele își reiau zborul pentru o perioadă scurtă, iar prezența zborului la *Laspeyresia funebrana* Tr. este practic inexistent. Prin urmare, în această perioadă nu sunt necesare tratamente cu insecticide pentru combaterea afidelor în livezile cu prun transgenic.

Dinamica zborului afidelor și adulților de *Laspeyresia funebrana* Tr. în lotul experimental de la SCDP Bistrița – 2016



- Evitarea aplicării unor tratamente cu insecticide în livezile cu prun transgenic rezistent la PPV ar putea fi posibilă și în situația în care populațiile altor dăunători (cu excepția afidelor), combătute în același timp, se află sub pragul economic de dăunare sau dacă alte metode ecologice (de ex. capcanele feromonale) pentru combaterea acestor dăunători sunt disponibile și aplicabile.

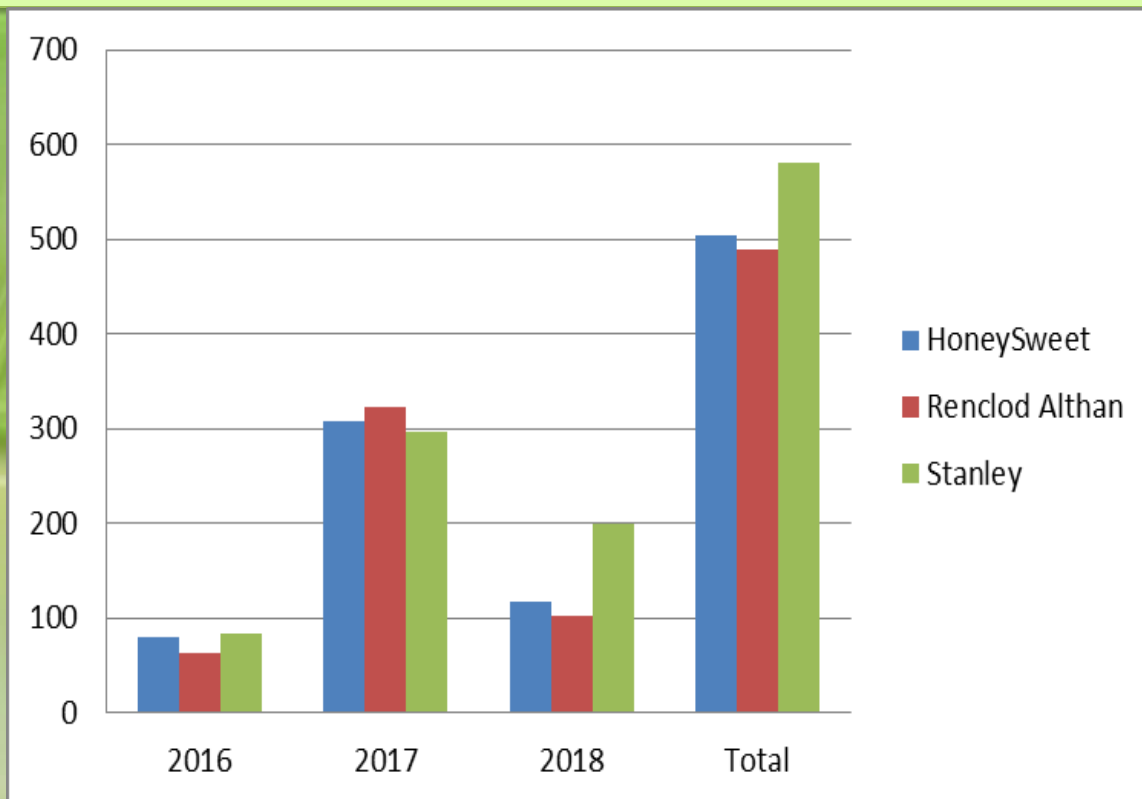
Dinamica zborului afidelor și adulților de *Laspeyresia funebrana* Tr. în lotul experimental de la SCDP Bistrița – 2017



- Rezultatele cercetărilor demonstrează potențialul utilizării prunului transgenic rezistent la virusul *Plum pox* ca parte integrantă a unor practici de management prietenoase mediului, în contextul necesității prevenirii răspândirii și limitării impactului virusului *Plum pox*.

b) Stabilirea preferinței albinelor pentru prunii transgenici și convenționali

- Numărul total al albinelor de pe ramurile de control, în perioada 2016-2018, relevă o mare similaritate a prezenței acestora la prunul transgenic HoneySweet și la soiul de prun convențional Renclod Althan și o diferență între acestea și soiul Stanley. Această diferență poate fi însă explicată prin înflorirea abundentă și numărul de flori mai mare la soiul Stanley în anul 2018, care a atras mai multe albine. Această înflorire a fost determinată de numărul mai mare de muguri floriferi diferențiați la soiul Stanley pe fondul producției extrem de redusă din anul 2017.
- Rezultatele în ansamblu relevă că nu există vreun indiciu care să susțină ipoteza unei preferințe a albinelor pentru unul din cele două categorii de prun, respectiv convențional sau transgenic.



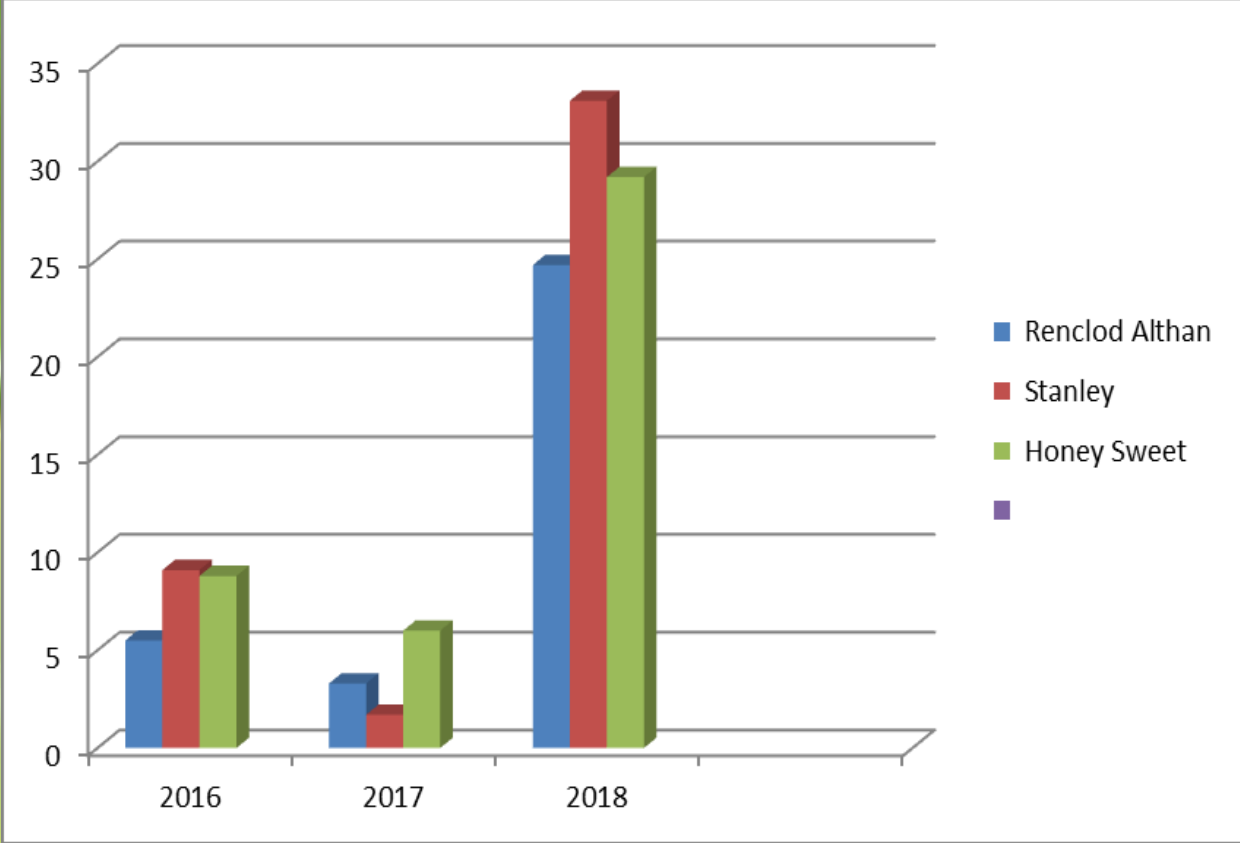
Reprezentarea grafică a numărului de albine / ramurile de control la prunul transgenic HoneySweet și la două soiuri de prun convențional (Stanley și Renclod Althan), în perioada de suprapunere a înfloritului (2016-2018)

Activitate 2. Stabilirea potențialului productiv și calitativ al prunului transgenic HoneySweet în condițiile reducerii numărului de tratamente fitosanitare necesare combaterii vectorilor.

a) Potențialului productiv:

În condițiile climatice ale anului 2016 a existat o similaritate a producției la soiul Stanley și la prunul transgenic HoneySweet, cu o tendință ușor favorabilă soiului Stanley. În condițiile climatice ale anului 2017 , pe fondul survenirii unei perioade de îngheț pe durata înfloritului, s-a constatat o diferență mare de producție între prunul transgenic și cele două soiuri convenționale, în favoarea soiului HoneySweet. Producția soiului Stanley a fost mult diminuată de efectul înghețului. Soiul de prun transgenic HoneySweet a fost cel mai puțin afectat de temperaturile negative din timpul înfloritului (2017).

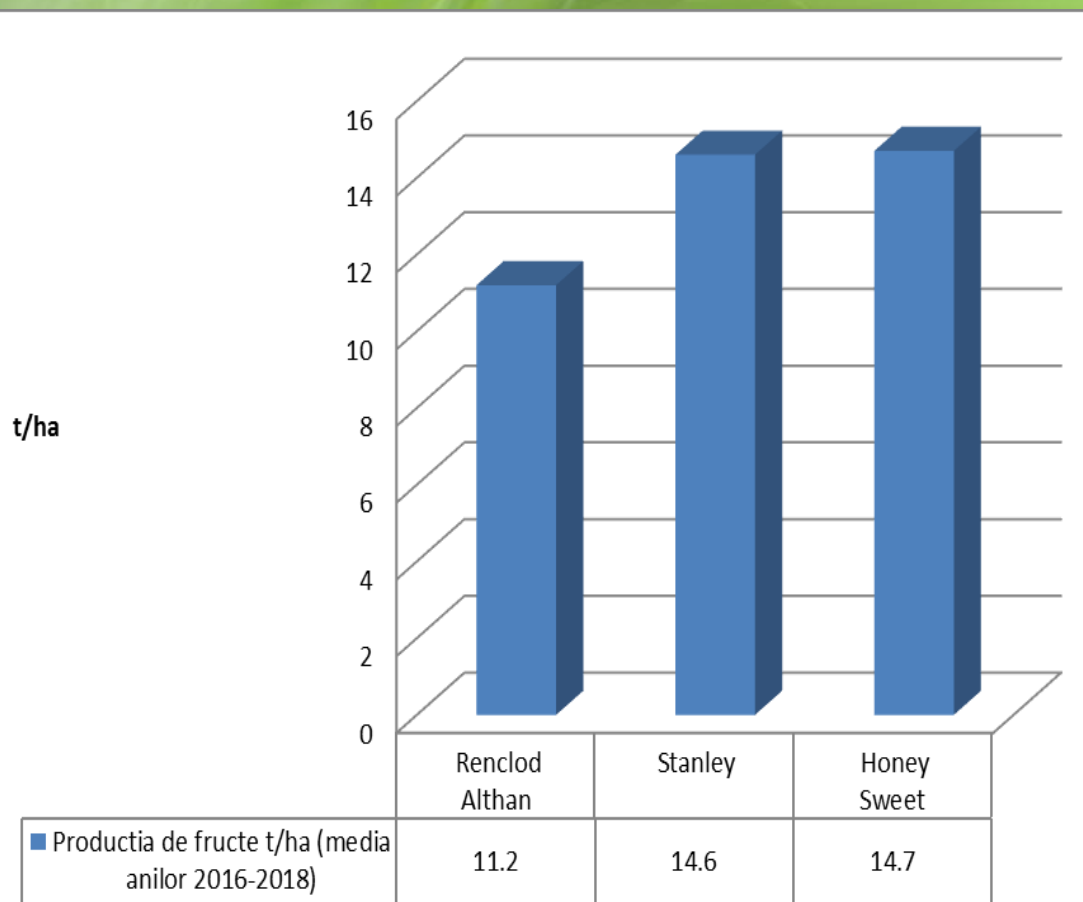
În condițiile climatice ale anului 2018 a existat, pe de o parte, o diferență de producție între prunul transgenic HoneySweet și soiul de prun convențional Renclod Althan, în favoarea soiului HoneySweet. Pe de altă parte, s-a constatat o diferență de producție între prunul transgenic HoneySweet și soiul de prun Stanley, însă de această dată în favoarea celui din urmă.



Producțiile medii de fructe (t/ha) la cele trei soiuri, realizate în condițiile climatice ale anilor 2016, 2017 și 2018. Plantație înființată în primăvara anului 2013 cu pomi CIII.

➤ Potențialul productiv

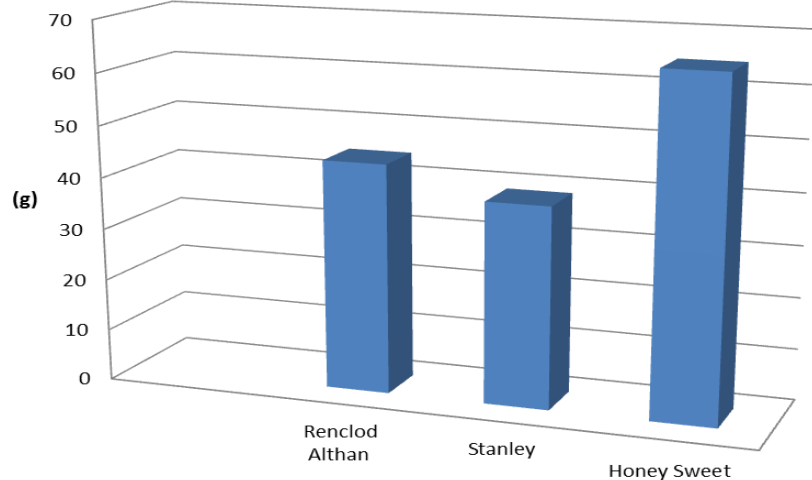
- Producția medie pe perioada de studiu (2016 – 2018), relevă că soiul de prun transgenic HoneySweet a realizat o producție similară soiului Stanley, în timp ce soiul Renclod Althan a avut o producție inferioară. Prin urmare, soiul de prun transgenic HoneySweet poate fi considerat un soi care se încadrează în grupa soiurilor cu productivitate ridicată. Totuși, trebuie menționat faptul că soiul de prun transgenic HoneySweet a realizat o producție similară soiului Stanley, în condițiile în care acesta din urmă a fost puternic afectat de înghețul survenit în perioada înfloritului din anul 2017.



b) Potențialul calitativ:

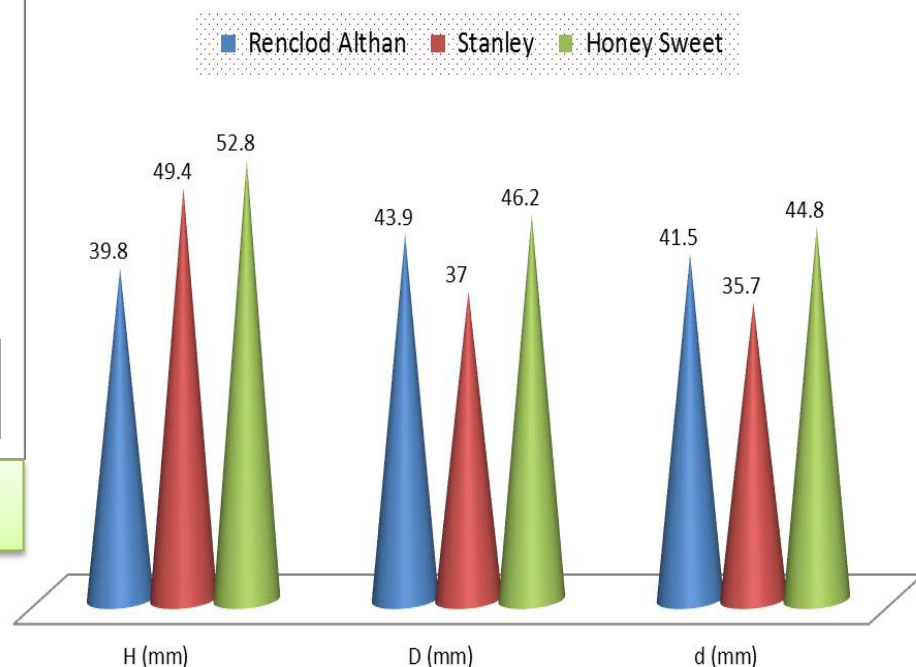
➤ Biometrie și însușiri fenotipice

- Greutatea medie a fructelor reliefează superioritatea soiului de prun transgenic HoneySweet față de soiurile de prun convențional Renclod Althan și Stanley pentru aceasta caracteristică.



	Renclod Althan	Stanley	Honey Sweet
■ Greutatea medie a fructelor (g) (2016-2018)	44.5	38.9	64.9

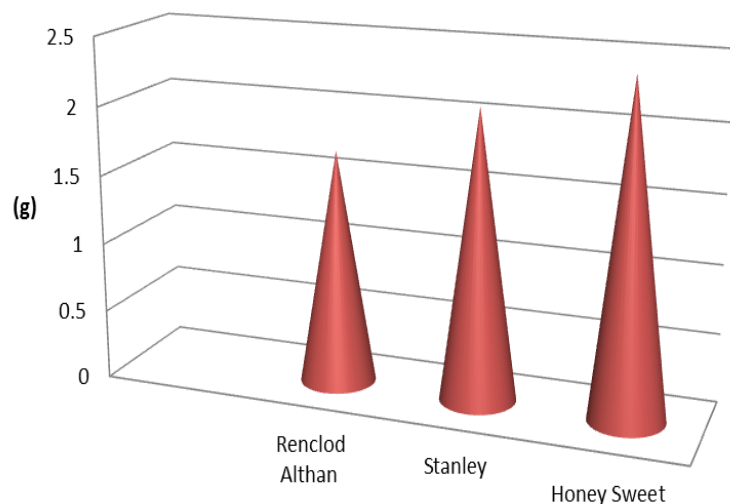
Greutatea medie a fructelor la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2016-2018)



Biometria fructelor înălțime (H), diametrul mare (D), diametrul mic (d) la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2016-2018)

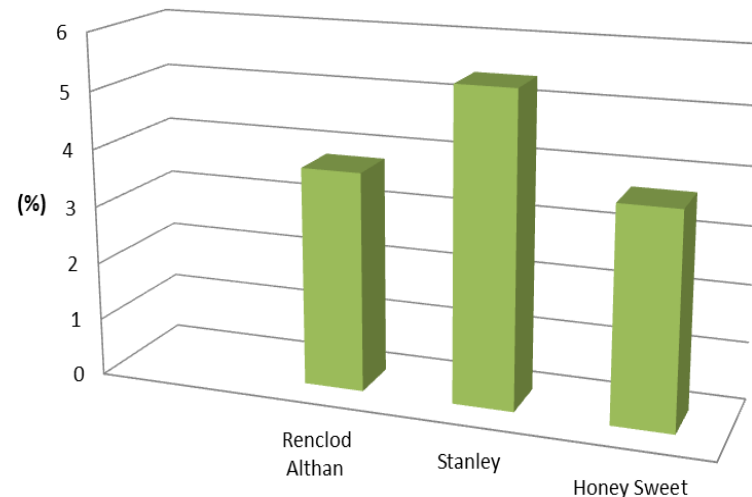
- Măsurătorile biometrice confirmă că nici unul dintre cele trei soiuri nu prezintă o simetrie perfectă. Totuși, soiul de prun transgenic HoneySweet are forma ovală, destul de regulată, comparativ cu soiul Stanley.

- Soiul transgenic HoneySweet a avut o greutate a sâmburelui mai mare decât cele două soiuri convenționale, însă o pondere a sâmburilor în greutatea fructelor similară soiului Renclod Althan, și mult mai redusă decât la soiul Stanley. Se remarcă astfel superioritatea soiului de prun transgenic HoneySweet față de soiul Stanley în ceea ce privește ponderea sâmburilor în greutatea fructelor.



	Renclod Althan	Stanley	Honey Sweet
■ Greutatea medie a sâmburilor (g) (2016-2018)	1.7	2.1	2.4

Greutatea medie a sâmburilor înregistrată la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2016-2018)



	Renclod Althan	Stanley	Honey Sweet
■ % samburi din greutatea fructului (2016-2018)	3.8	5.4	3.7

Ponderea sâmburelui în greutatea fructului înregistrată la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2016-2018)

➤ Atractivitatea fructului

- Din punct de vedere al **atractivității**, analiza comparativă cu soiurile Stanley și Renclod Althan reliefează superioritatea soiului HoneySweet. Astfel, mărimea fructului este net superioară comparativ cu celelalte două soiuri analizate. Forma fructului la soiul HoneySweet este una destul de regulată, ovală. Colorația uniformă, preferată de majoritatea consumatorilor, precum și lipsa supraîncălcării cu pruină contribuie la aspectul atrăgător al fructului la soiul de prun transgenic HoneySweet. Culoarea de fond a epidermei (cu pruină) este albastră violacee, plăcută. Pulpa, de culoare galben-verzui, este fermă și succulentă. Sâmburele este mic raportat la greutatea fructului, ceea ce conferă un plus la aprecierea soiului.
- Aspectul global al fructelor la soiul HoneySweet este foarte plăcut, impactul vizual fiind unul pozitiv.

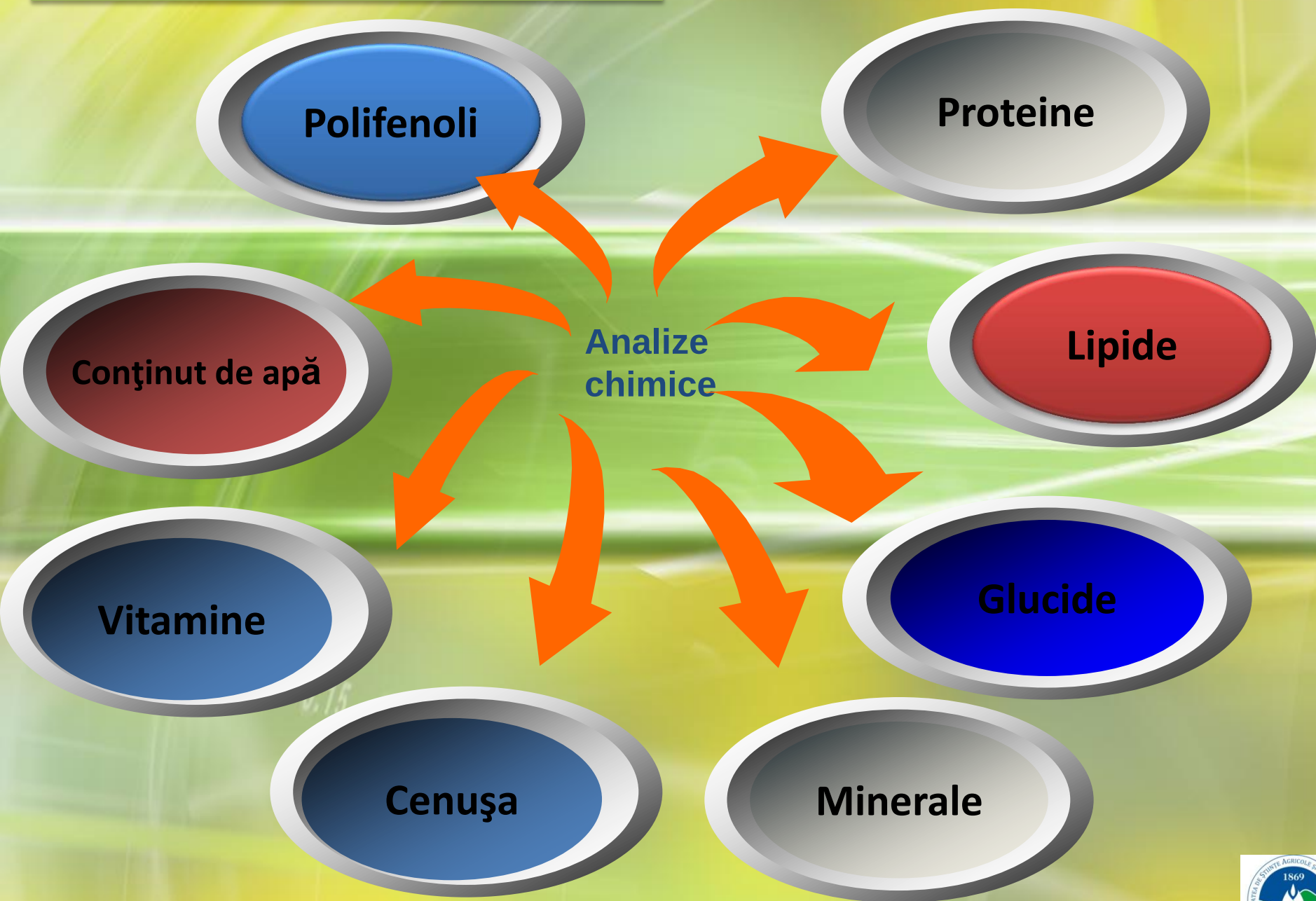


Mărimea fructelor la prunul transgenic HoneySweet (stânga) comparativ cu soiul Stanley (dreapta)

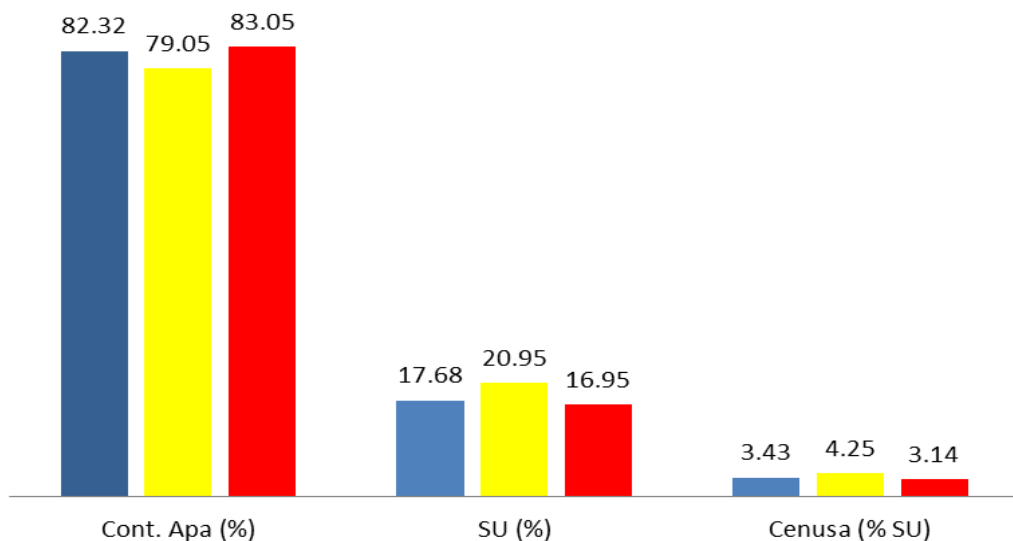


Aspectul fructelor la soiul de prun transgenic HoneySweet

➤ **Compozitia chimica a fructelor**



■ Renclod Althan ■ Stanley ■ HoneySweet

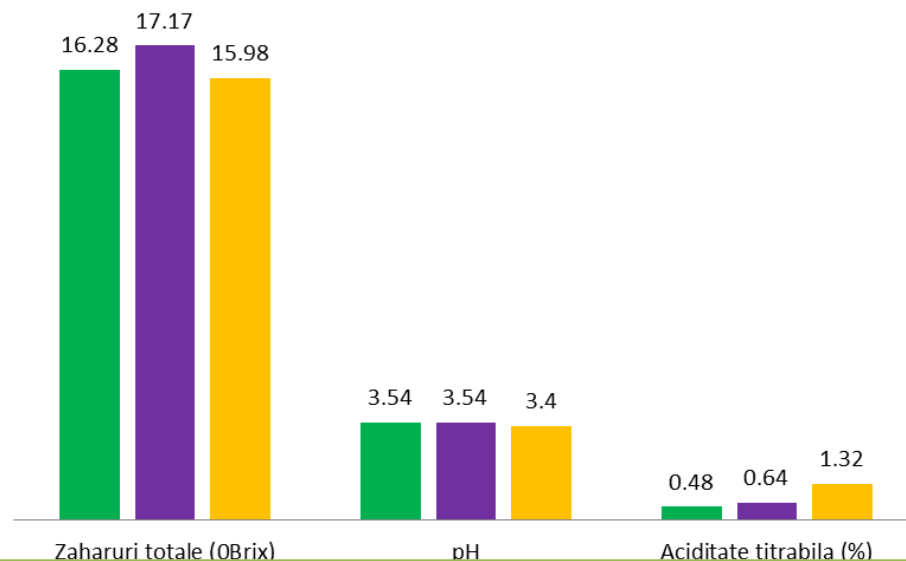


Conținutul de apă, substanță uscată și cenușă din fructele de prune la cele trei soiuri din lotul experimental de la SCDP Bistrița (media anilor 2016-2018)

- Conținutul în zaharuri totale a fost similar la soiurile HoneySweet și Renclod Althan și ușor mai crescut la soiul Stanley. pH-ul probelor a fost acid, cu valori apropiate pentru toate soiurile. Aciditatea titrabilă a prezentat valori mai scăzute la soiul Renclod Althan și Stanley și mai ridicate la soiul HoneySweet

- Soiul Stanley a avut o concentrație de apă în fruct mai mică decât soiurile Renclod Althan și HoneySweet, ceea ce s-a repercutat și în cantitatea de cenușă determinată, care a fost mai ridicată la soiul Stanley, deoarece și cantitatea de substanță uscată a fost mai ridicată. Soiurile Renclod Althan și HoneySweet au avut valori similare pentru acești parametri.

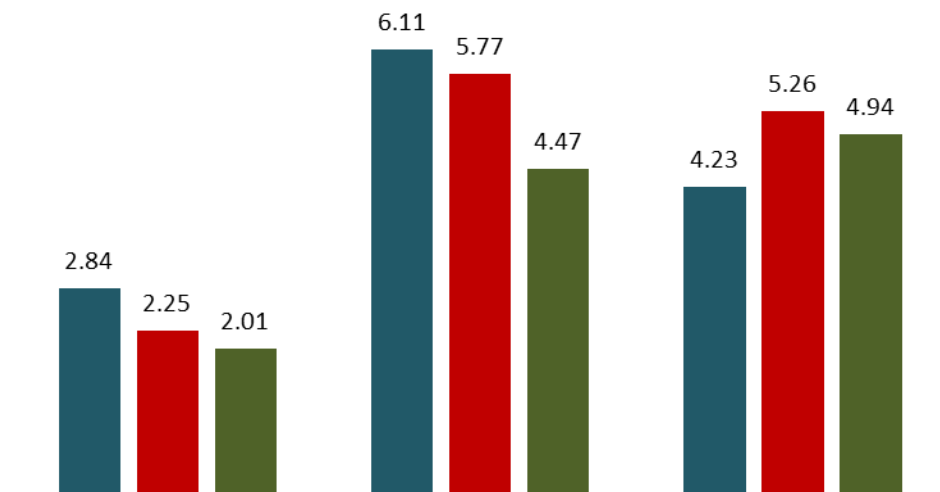
■ Renclod Althan ■ Stanley ■ HoneySweet



Cantitatea de zaharuri totale (°Brix), pH-ul și aciditatea titrabilă (AT)(%) din fructele de prune la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2016-2018)

Determinarea glucidelor prin HPLC-IR

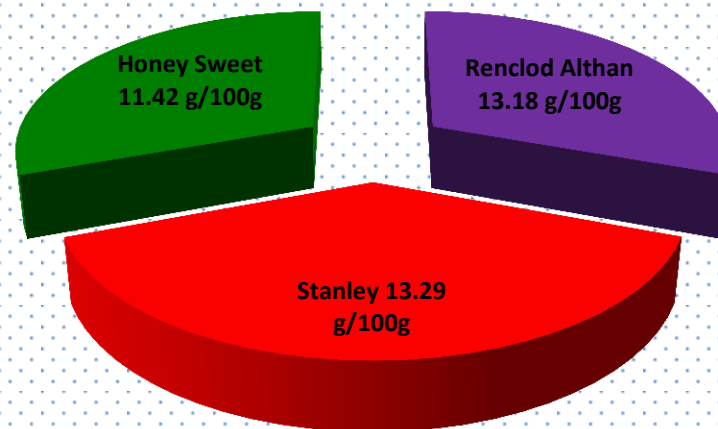
■ Renclod Althan ■ Stanley ■ HoneySweet



Conținutul mediu de fructoză, glucoză și zaharoză din fructele de prune la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2016-2018)

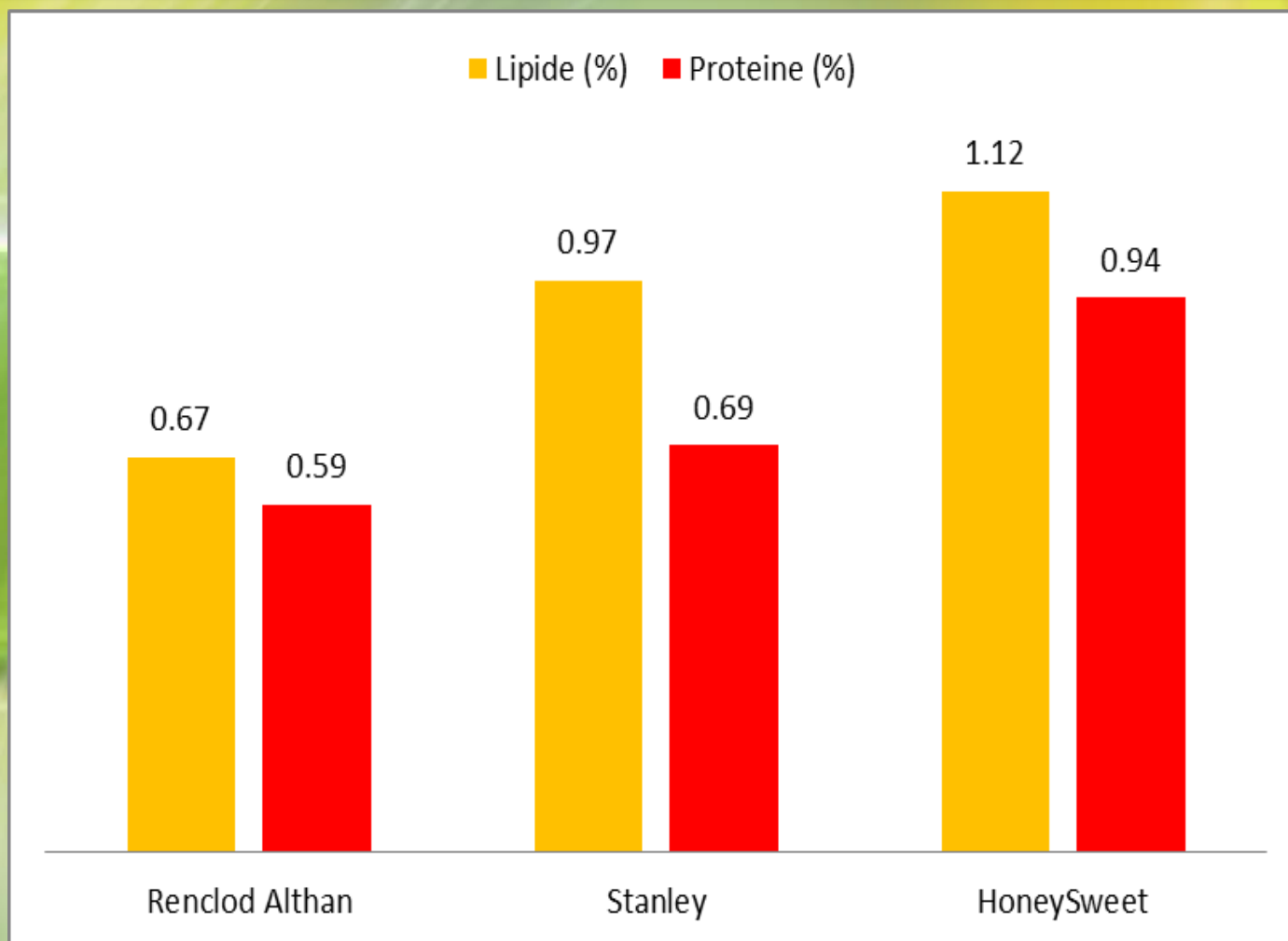


Continutul de glucide simple
(media anilor 2016-2018)



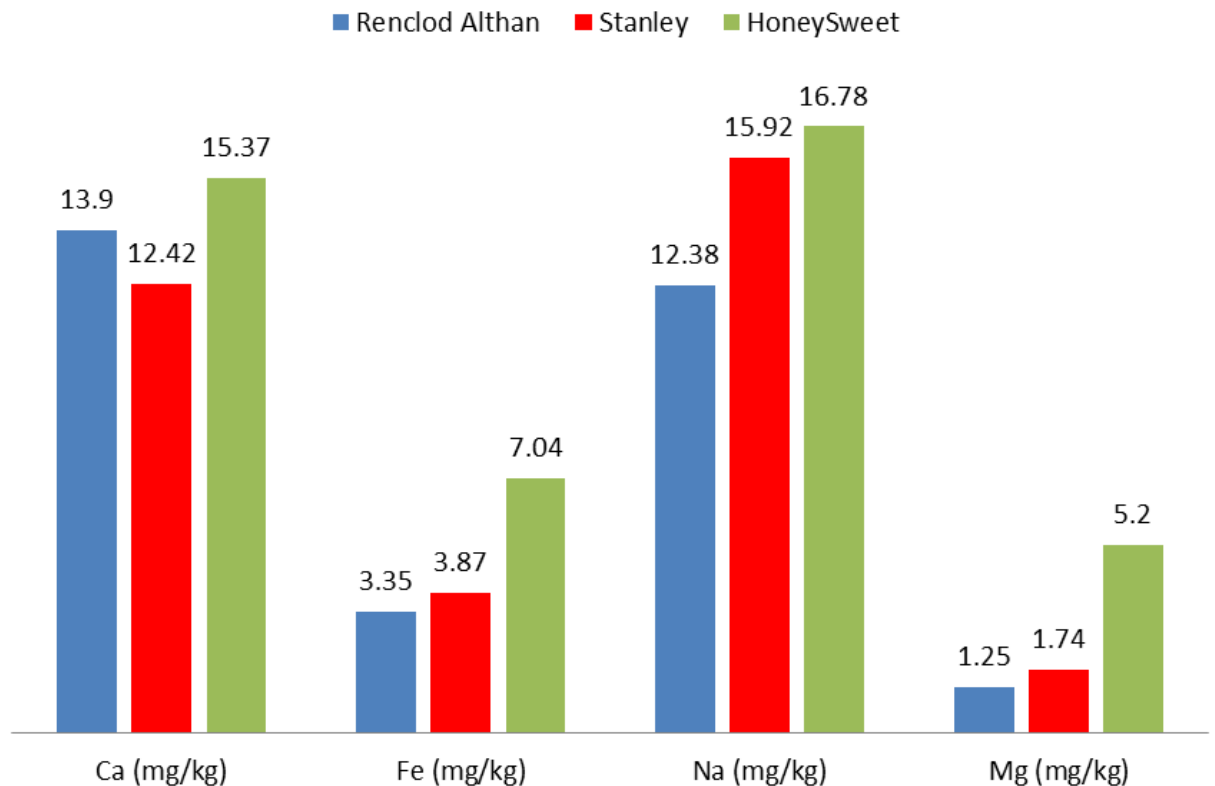
- In ansamblu, conținutul de glucide simple a avut valori similare la soiurile Stanley și Renclod Althan, mai ridicate decât la soiul HoneySweet

Conținutul mediu în lipide și proteine din fructele de prune la cele trei soiuri din lotul experimental de la SCDP Bistrița (media anilor 2016-2018)



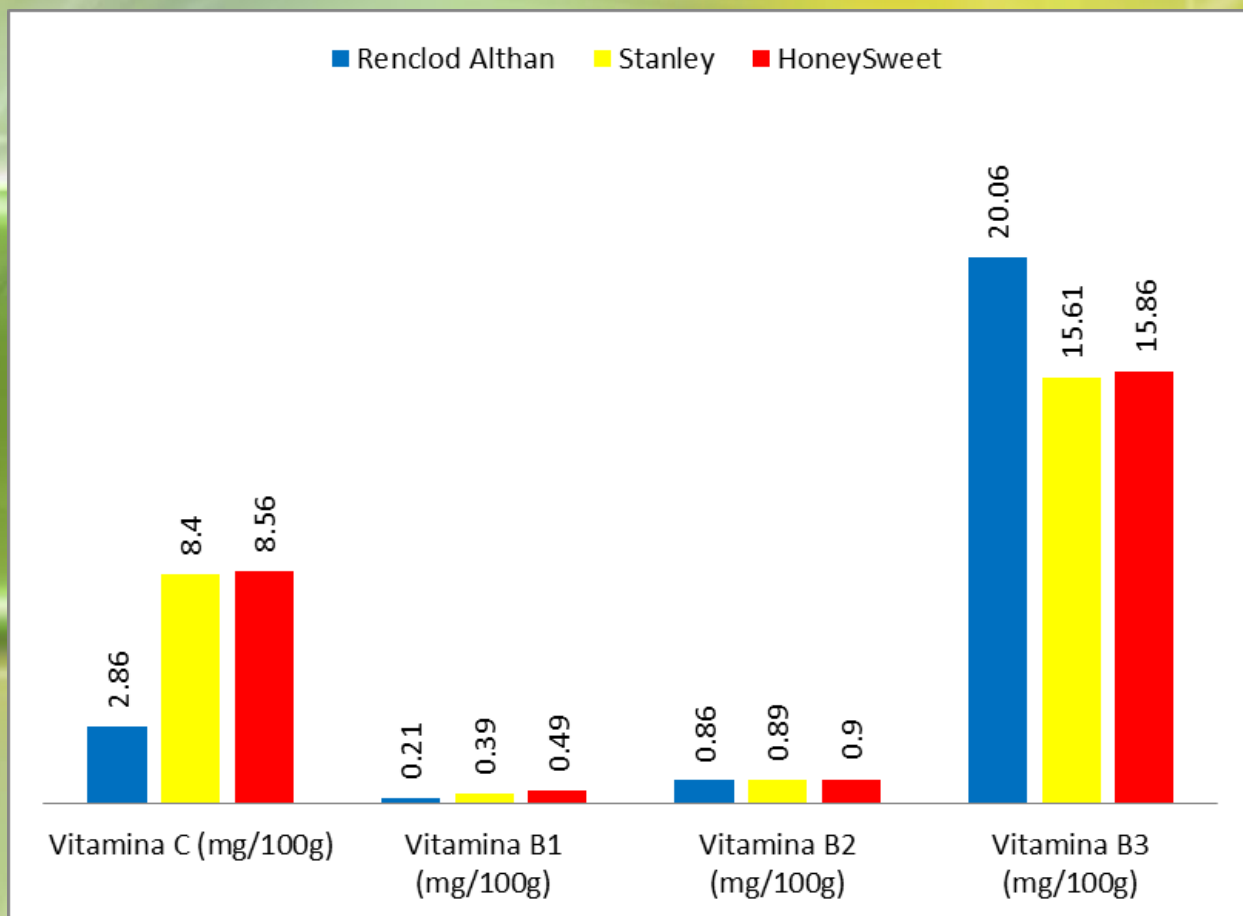
- Soiul HoneySweet a prezentat un conținut în lipide sensibil mai mare decât soiul Stanley și mult superior soiului Renclod Althan. De asemenea, soiul HoneySweet a prezentat un conținut de proteine apreciabil mai mare decât soiurile Renclod Althan și Stanley

Continutul de minerale determinat prin spectrometrie de absorbtie atomica (media anilor 2017-2018)



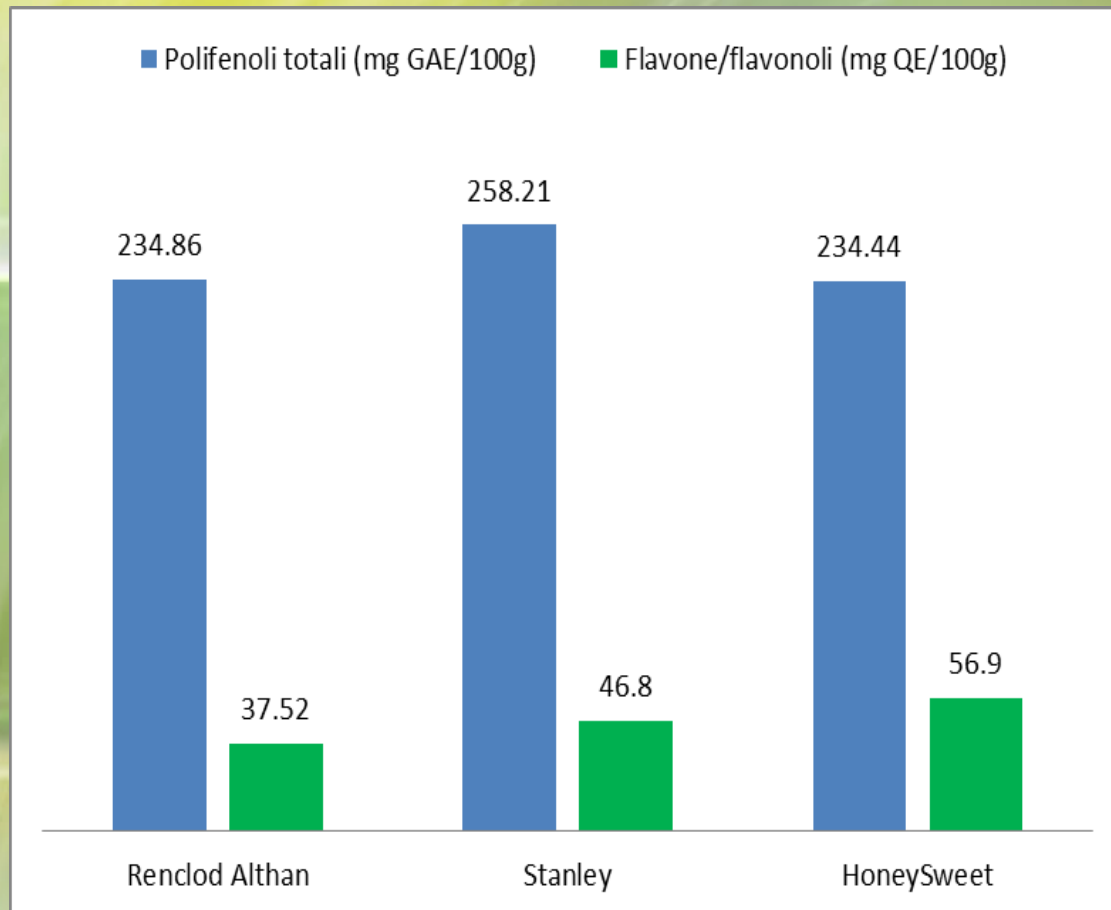
- Soiul HoneySweet a avut în medie un continut de **Ca** mai mare decât soiurile Renclod Althan și Stanley. De asemenea, soiul HoneySweet a înregistrat un continut de **Fe** aproape dublu față de soiurile Renclod Althan și Stanley. Conținutul mediu de **Na** a avut valori apropiate la soiurile HoneySweet și Stanley, superioare soiului Renclod Althan. Soiul HoneySweet a excelat prin conținut ridicat în **Mg**, valoarea medie înregistrată fiind de aproximativ patru ori mai mare decât la soiul Renclod Althan, respectiv de trei ori mai mari decât la soiul Stanley.

Continutul in vitamine B (determinat prin cromatografie de lichide de inalta performanta) si C (media anilor 2016-2018)



- Soiul HoneySweet a înregistrat un conținut în vitamina C similar soiului Stanley, mult superior soiului Renclod Althan. Conținutul în vitamina B1 a avut valori apropiate la soiurile HoneySweet și Stanley, aproape duble față de soiul Renclod Althan. Conținutul în vitamina B2 a avut valori similare la toate cele trei soiuri. Conținutul în vitamina B3 a avut valori medii similare la soiurile HoneySweet și Stanley, mai reduse decât la soiul Renclod Althan.

Conținutul de polifenoli totali și flavone din fructele de prun la cele trei soiuri din lotul experimental (media anilor 2017-2018) determinat prin spectrofotometrie



- Conținutul de polifenoli totali a fost asemanator la soiurile HoneySweet și Renclo Althan, ușor mai scăzut decât la soiul Stanley. Cea mai mare cantitate de flavone s-a înregistrat la soiul HoneySweet, urmat de Stanley și Renclo Althan.

- Capacitatea de captare a radicalilor liberi (activitatea antioxidantă) este corelată cu conținutul de polifenoli, cea mai ridicată activitate antioxidantă fiind prezentă la probele ce au avut cea mai mare concentrație de polifenoli totali

Activitatea 3 – Evaluarea stabilității și durabilității rezistenței prunului transgenic în condiții de presiune de infecție naturală cu PPV.

- Rezultatele testelor de diagnostic serologic (DAS-ELISA) și molecular (IC-RT-PCR) pentru detecția virusului *Plum pox*, au indicat prezența virusului la cinci probe, două de la soiul Stanley și trei de la soiul Renclod Althan. Toți pomii aparținând prunului transgenic HoneySweet au rămas liberi de PPV, confirmând astfel stabilitatea și durabilitatea rezistenței în condiții de presiune de infecție naturală cu PPV.

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 C- C+ M



Probe pozitive

- 13. Stanley / (CS 2.1)
- 21. Renclod Althan / (CA 2.11)
- 30. Stanley / (CS 3.6)
- 34. Renclod Althan / (CA 3.12)
- 42. Renclod Althan / (CA 4.7)

M 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 C- C+ M



M 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 C- C+ M



Electroforeza in gel de agaroză a produsilor RT-PCR [C ter (CP) a PPV] - (2018)



a



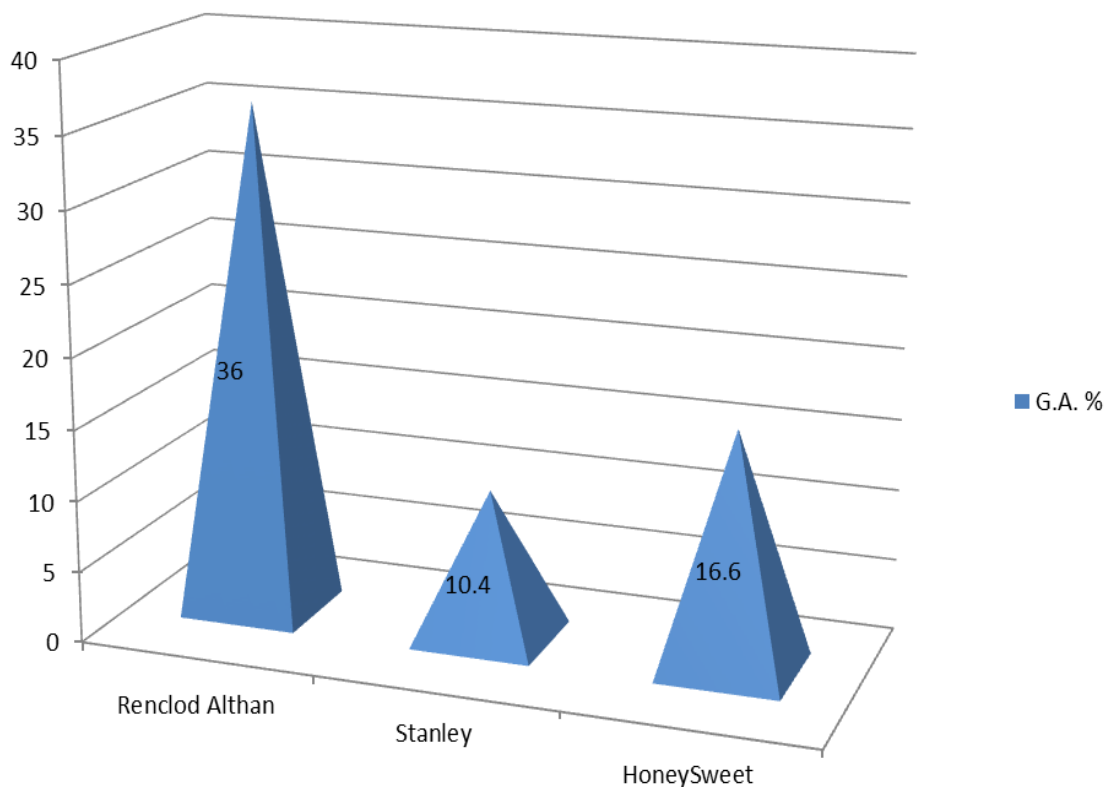
b

Simptome tipice de PPV pe frunze la variantele Renclod Althan / (CA 2.11)(a) si Stanley / (CS 3.6) (b)

Comportarea soiurilor din lotul experimental la atacul de *Monilinia laxa* (2017)

- Rezultatele privind atacul de monilioză pe fructe arată că, în condițiile efectuării unui număr redus de tratamente, soiul Renclod Althan a fost grav afectat de infecțiile cu *Monilinia laxa*. Soiurile Stanley și HoneySweet au fost și ele semnificativ afectate, însă gradul de atac a fost mult mai redus. Aceste rezultate ne îndreptătesc să opinăm că reducerea numărului de tratamente pentru combaterea moniliozei nu este oportună la cele trei soiuri, întrucât afecțiunile pot compromite în mare parte producția.

Gradul de atac al moniliozei pe fructe (2017)

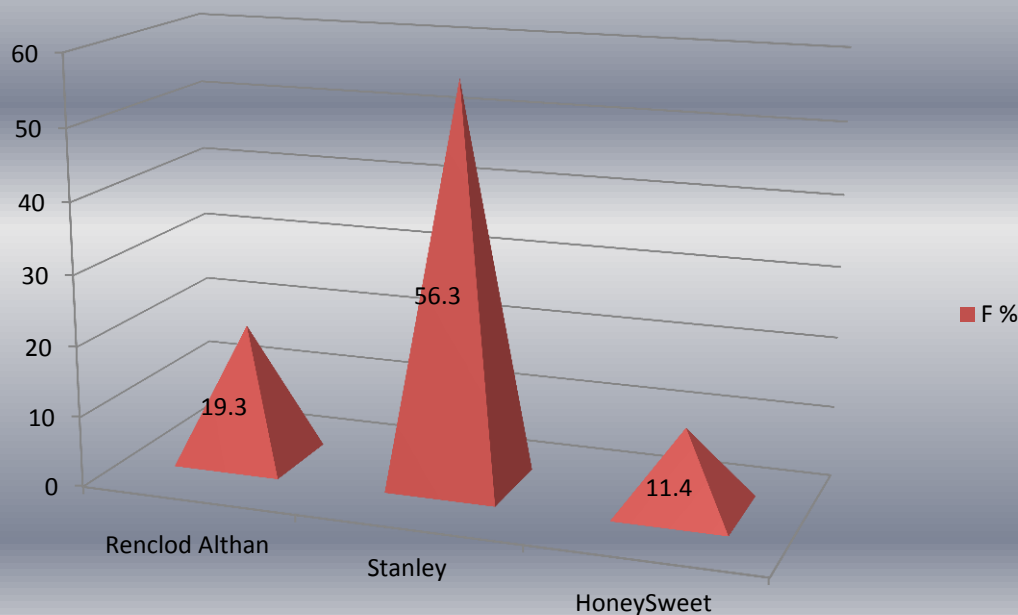


Simptome de monilioză pe fructe la soiul Renclod Althan

Comportarea soiurilor din lotul experimental la atacul de *Eurytoma schreineri* (2017)

- Rezultatele privind comportarea la atacul produs de de viespea semințelor de prun (*Eurytoma schreineri*), în condițiile aplicării unui număr redus de tratamente cu insecticide, observațiile și determinările efectuate indică prezența acestui important dăunător la toate cele trei soiuri, însă cu predilecție la soiul Stanley . Celelalte două soiuri au fost și ele afectate, însă frecvența atacului a fost mult mai redusă.

Frecvența atacului de *Eurytoma schreineri* (2017)



a



b

Cădere masivă a fructelor cauzată de *Eurytoma schreineri* (a) și modul de dăunare (b) la soiul Stanley din lotul experimental (2017)

Activitate 4. Diseminare rezultate

- Activitatea de diseminare a rezultatelor a fost una semnificativă, atât la nivel național, cât și internațional, prin participarea la simpozioane, conferințe, întâlniri cu fermierii și alți beneficiari și prezentarea și publicarea de articole și lucrări științifice.
- Proiectul s-a finalizat cu organizarea unei Mese rotunde. La această întâlnire au participat fermieri, reprezentanți ai DADR, ANF, ITCSMS, APIA, GNM, cercetători, proiectanți, etc. Cu această ocazie a fost distribuită gratuit participanților broșura intitulată **TESTAREA PRUNULUI TRANSGENIC HONEYSWEET ÎN ROMÂNIA**, grație finanțării acesteia de către MADR prin proiectul ADER 413/2015. Broșura prezintă o sinteză a rezultatelor referitoare la prunul transgenic obținute de-a lungul timpului în țara noastră, astfel:
 - problematica virusului *Plum pox* (PPV) pentru cultura prunului și necesitatea obținerii de soiuri rezistente, ca soluție eficientă în combaterea acestuia, cu referire specială la prunul transgenic;
 - testarea rezistenței prunului transgenic la infecțiile naturale cu virusul *Plum pox* în condiții endemice din România și verificarea stabilității rezistenței prunului HoneySweet la infecțiile artificiale mixte PPV+ virusuri heteroloage;
 - ereditatea rezistenței la PPV a prunului transgenic HoneySweet;
 - performanțele agronomice și fenotipice ale prunului transgenic HoneySweet în condițiile din România, în contextul producerii de fructe libere de virusul *Plum pox* și reducerii poluării mediului;
 - potențialul utilizării prunului transgenic rezistent la virusul *Plum pox*, ca parte integrantă a unor practici de management prietenoase mediului, în contextul necesității prevenirii răspândirii și limitării impactului virusului *Plum pox*,
 - recomandări privind politica națională referitoare la eventuala cultivare a prunului transgenic în România.

La realizarea activităților proiectului au contribuit:

CO - SCDP Bistrita la toate activitățile, exceptând compoziția chimică a fructelor

Director de proiect Dr. ing. Ioan ZAGRAI

Membri: Dr. ing. Luminița Antonela ZAGRAI

Dr. ing Zsolt JAKAB

Ing. Georgeta GUZU

Tehn. Sabin SUCIU

P1 – USAMV Cluj la determinările privind compoziția chimică a fructelor

Responsabil: Prof. Liviu Al. Mărghițaș

Membri: Prof. Daniel Dezmirean

Conf. Otilia Bobiș

Chim. Victorita BONTA

Drd. Claudia PASCA

Drd. Adriana URCAN