

MANIFESTAREA UNOR CARACTERE CANTITATIVE LA *TRITICUM AESTIVUM* L. ÎN REACȚIA LA FILTRATUL DE CULTURĂ *HELMINTHOSPORIUM AVENAE* EIDAM

Elena SAȘCO

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM

Au fost studiate caracterele: *lungimea* rădăcinii embrionare și a tulpiniței la etapă timpurie a ontogenezei, *frecvența* de calusare a embrionilor maturi, *suprafața* și *biomasa* calusului la genotipurile-părinți de grâu comun de toamnă Niconia, Odeschi 267 și la hibrizii reciproci F₁, F₂, BC proveniți din încrucișarea reciprocă a genitorilor. S-a constatat că la formarea caracterelor de creștere în condiții optime (martor) a fost implicat genitorul matern Niconia. Pe fondal cu filtrat de cultură *H. avenae* în calitate de donator matern, dar și patern al rezistenței în cazul rădăcinii și doar matern – în cazul tulpiniței s-a manifestat genotipul rezistent Odeschi 267. Hibrizii combinației reciproce au demonstrat specificitate înaltă la manifestarea fenotipică a caracterelor *frecvența* de calusare și *suprafața* calusului, între indici fiind stabilite corelații negative în variantele martor și pe fondal cu FC *H. avenae*. În calitate de genitor eficient în ereditatea *frecvenței* de calusare s-a manifestat genotipul Niconia, pe când în cazul caracterului *suprafața* calusului a fost atestat părintele Odeschi 267. În expresia fenotipică a caracterelor de calusogeneză la hibrizii generațiilor F₁, F₂ s-a manifestat efectul matern, pe când cota varianței factorilor aditivi la hibrizii retroîncrucișați a fost influențată de forma paternă. Prin analiza clusteriană (dendrograme, *k*-medii) a indicilor de creștere și calusogeneză s-au constatat similarități și diferențe de repartiție a hibrizilor reciproci, manifestarea genelor ce controlează caracterele fiind influențată de FC *H. avenae*.

Cuvinte-cheie: *Triticum aestivum* L., hibrizi reciproci, filtrat de cultură *Helminthosporium avenae*, *lungimea* rădăcinii și tulpiniței, *frecvență* de calusare, *suprafața* și *biomasa* calusului.

THE MANIFESTATION OF SOME QUANTITATIVE CHARACTERS OF *TRITICUM AESTIVUM* L. IN REACTION TO *HELMINTHOSPORIUM AVENAE* EIDAM CULTURE FILTRATE

The following characters have been studied: the length of embryonic root and stem at early ontogenetic stage, the callus frequency of mature embryos, callus area and biomass of autumn common wheat parent genotypes Niconia, Odeschi 267 and reciprocal hybrids F₁, F₂, BC derived from reciprocal crossover of the genitors. It has been determined that maternal genitor Niconia was involved in the development of growth characters in optimum conditions (witness). On background with culture filtrate *H. avenae* the resistant genotype Odeschi 267 manifested as a maternal and also as paternal donor for the root and only maternal – for the stem. The hybrids of reciprocal combinations have demonstrated high specificity in phenotypic manifestation of callus frequency and callus area characters, between indexes being established negative correlations in witness and background choices with FC *H. avenae*. Genotype Niconia has been attested as an efficient genitor for the heredity of callus frequency, while for the callus area character – parent Odeschi 267. In phenotypic expression of callus genesis maternal effect manifested for characters at hybrids F₁, F₂, while the paternal form influenced the alternative proportion of additive factors in character expression at retro crossover hybrids. Through cluster analysis (dendrograms, *k*-means) of the growth index and callus genesis, it has ascertain similarities and repartition differences of reciprocal hybrids, the manifestation of genes that control characters – being influenced by FC *H. avenae*.

Keywords: *Triticum aestivum* L., reciprocal hybrids, *Helminthosporium avenae* culture filtrate, length of root and stem, frequency of callus, callus surface area and biomass.

Introducere

Agenții patogeni facultativi *Helminthosporium* sp. produc la culturile cerealiere putregaiul de rădăcină comun, manifestat de leziuni ovale, brunificate sub nodul de înfrățire sau la baza tulpinii. Complexul acestora cu fungii *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana* sau *Pyrenophora tritici-repentis*, în condiții de umiditate sporită, provoacă pătarea și putrezirea frunzelor la grâu, orz, ovăz. Pierderile de recoltă, evaluate la 3-50%, sunt raportate în multe regiuni ale lumii, în special în zonele de producere de cereale din Asia, Africa de Nord, Australia și Canada. Maladia este deosebit de severă în regiunile de stepă, unde frecvența înaltă a factorilor de stres afectează fiziologia gazdei [1,2]. În condițiile Republicii Moldova, incidența fungilor *Helminthosporium*, implicați în complexul de patogeni la grâul de toamnă, constituie 16,6-27,0% [3]. Cu o penetrare mai profundă a miceliului în țesutul gazdei este caracterizat fungul *Drechslera avenae* (Sin. *Pyrenophora chaetomioides*, *H. avenae*), ce-l face mai rezistent la diverse condiții, inclusiv tratament fungicid. Patogenitatea fiind determinată de capacitatea avansată de a produce metaboliți secundari [4]. În controlul și ereditatea caracterelor de

rezistență la patogeni se acordă o atenție deosebită implicării relațiilor nealelice, precum și factorilor citoplasmatici [2,5]. Ameliorarea genetică a rezistenței grâului în Asia de Sud se bazează pe surse din China și America de Sud, încrucișări interspecifice sau cu germoplasmă consangvinizată adaptată [1]. Prin colaborare integrată de CIMMYT, Mexic și Turcia au obținut progrese substanțiale în dezvoltarea germoplasmei rezistente [6].

Tehnica de cultură de țesut este considerată un instrument util în stabilirea abilității combinative a genitorilor, în alegerea celei mai bune forme materne și a hibridilor în cadrul programelor de ameliorare a grâului [7]. Abordarea metodologică complexă de evaluare a grâului de toamnă la filtratele de cultură ale patogenilor este determinată de existența unor relații pozitive între sensibilitatea sau toleranța plantelor întregi *in vivo* și a explantelor *in vitro* la metaboliții toxici. *Screening*-ul preventiv al liniilor nou-create la utilizarea metaboliților sau suspensiilor de spori ale agenților patogeni se efectuează implicând tulpinile patogene larg răspândite în localitatea dată [8,9]. Explantele frecvent utile la graminee sunt embrionii imaturi și anterele. Embrionii maturi prezintă vitrocultura cu capacități morfogenetice avansate, nelimitate de timp și, deci, mai puțin costisitoare. În acest context prezintă interes *screening*-ul genitorilor și hibridilor reciproci F₁, F₂ și BC de grâu comun de toamnă la filtratul de cultură *H. avenae* în condiții *in vivo* și *in vitro*.

Material și metode

Au fost investigate genotipurile de grâu comun de toamnă Niconia, Odeschi 267 și hibridii F₁, F₂ și BC proveniți din încrucișarea reciprocă a genitorilor. În calitate de factor selectiv a fost investigat filtratul de cultură (FC) de 21 zile a 3 tulpini *H. avenae* Eidam: integru, în condiții de laborator și în concentrație de 30% de volum în mediul Murashige-Scoog (MS) – în condiții *in vitro*. Semințele de grâu au fost tratate cu FC *H. avenae* timp de 18 ore, clătite cu apă distilată și menținute timp de 6 zile în cutii Petri între 2 foițe de hârtie de filtru umectată cu apă distilată la temperatura de 20-22°C. Reacția populațiilor de grâu la metaboliții fungici a fost apreciată în baza caracterelor de lungime a rădăciniței embrionare și a tulpiniței plantulelor (mm) [10]. În cazul culturii *in vitro*, semințele au fost sterilizate la suprafață cu etanol de 96%, timp de 50 sec., apoi cu soluție de clorură de calciu de 9% – 20-30 min., clătite de 4 ori și pregerminate 2 ore în vase cu apă sterilă la 32°C. Embrionii excizați au fost plasați pe mediul nutritiv MS, care conținea un set complet de macro- și microelemente, vitamine [11], acidul 2,4-diclorfenoxiacetic (2,4-D) 4 mg/l, mezo-inozitol 100 mg/l, zaharoză 30 g/l și agar-agar 7 g/l, pH-ul fiind ajustat la 5,8. Frecvența de calusare (%), suprafața (mm²) și masa brută a calusului (mg) au fost înregistrate la 28 zile de cultură. Variația caracterelor cercetate a fost analizată în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate și discuții

Creșterea rădăciniței și tulpiniței la hibridii reciproci de grâu de toamnă la etapă timpurie ontogenetică în varianta martor a înregistrat valori intermediare genitorilor (114,0±2,8...139,4±3,5 mm și 66,2±3,0...80,0±2,6 mm). Sub acțiunea FC *H. avenae* rădăcinița a fost veridic reprimată cu 5,3-25,5%, pe când tulpinița a manifestat creștere la nivelul martorului sau inhibare de până la 15,6% (*a se vedea* Tabelul).

Tabel

Manifestarea caracterelor de creștere la hibridii reciproci de grâu comun de toamnă (mm)

Genitori/hibridi reciproci	Lungimea rădăciniței		Lungimea tulpiniței	
	Martor	FC <i>H. avenae</i>	Martor	FC <i>H. avenae</i>
Niconia	138,4±3,1	110,5±3,2*	74,2±2,2	62,6±2,0*
Odeschi 267	122,8±4,2	112,5±3,7*	69,8±2,2	62,2±2,6*
F ₁ Niconia x Odeschi 267	123,8±4,5	117,2±3,9	69,1±2,7	65,8±2,7
F ₁ Odeschi 267 x Niconia	126,6±3,2	119,6±3,5*	69,2±1,8	66,5±2,3
F ₂ Niconia x Odeschi 267	136,7±4,2	101,8±4,7*	80,0±2,6	63,5±2,8*
F ₂ Odeschi 267 x Niconia	124,9±3,6	111,8±5,0*	72,3±1,8	73,8±1,5
BC (Niconia x Odeschi 267) x Niconia	116,4±4,4	95,8±4,0*	66,2±3,0	60,3±3,0
BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267	139,4±3,5	115,4±3,6*	73,2±2,4	63,9±1,9*
BC (Odeschi 267 x Niconia) x Odeschi 267	114,0±2,8	102,2±3,8*	71,1±2,2	68,9±2,3
BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia	134,0±4,0	120,5±3,8*	75,2±2,2	71,3±2,1

* – deosebire cu suport statistic la nivelul p<0,05

Analiza clusteriană de repartiție în clase fenotipice a caracterelor de creștere în varianta martor a atestat similaritate înaltă de comportament la hibridii F_1 . În formarea lungimii rădăciniței și tulpiniței la hibridii F_2 Niconia x Odeschi 267, BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267 și BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia a fost implicat efectul matern, dar și patern al genitorului Niconia, genotipurile date formând cluster comun cu valori sporite în raport cu hibridii reciproci respectivi. Sub acțiunea FC *H. avenae* genitorii Niconia și Odeschi 267 s-au situat la cea mai joasă distanță euclidiană, formând subcluster comun. În reacția la metabolizii fungici are loc majorarea sau diminuarea distanțelor dintre hibridii reciproci ca rezultat a implicării efectelor parentale în manifestarea reacției caracterelor de creștere. Astfel, grație efectului parental al genotipului cu rezistență avansată Odeschi 267, populațiile hibride F_2 Odeschi 267 x Niconia, BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia și BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267 s-au situat în cluster distanțat de hibridii reciproci respectivi (Fig.1).

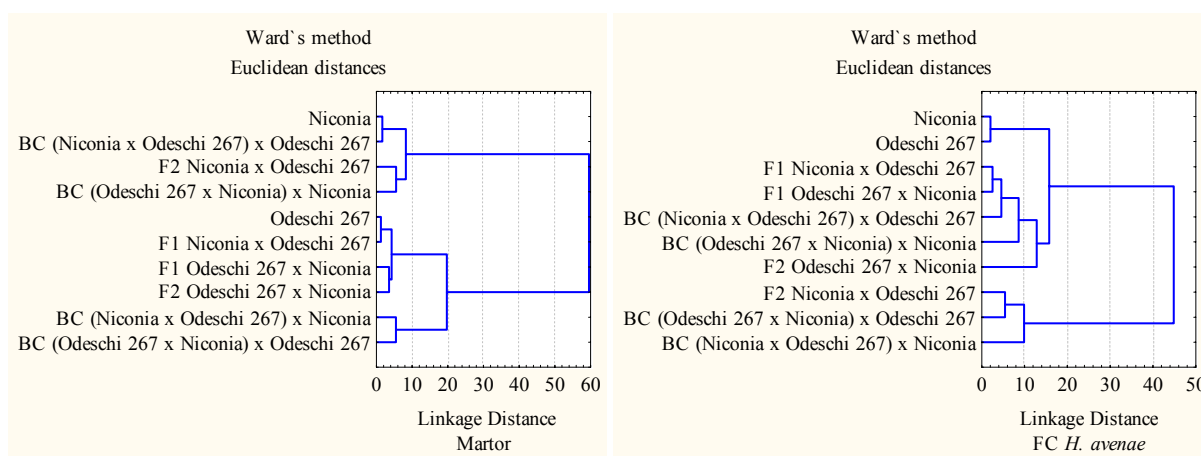


Fig.1. Dendrograma de distribuție a hibridilor reciproci de grâu comun în reacția caracterelor de creștere la FC *H. avenae*.

Lungimea rădăciniței a stabilit corelații pozitive înalte și medii cu lungimea tulpiniței și biomasa plantulei: în varianta martor – 0,73, 0,84 și 0,51, iar în varianta cu FC *H. avenae* – 0,41, 0,69 și 0,62. Fenomenul a atestat reacție diferențiată a rădăciniței și tulpiniței la FC *H. avenae*.

Frecvența de calusare la genitorul Odeschi 267 a fost veridic mai joasă decât la Niconia în ambele variante de cultură, iar la hibridii reciproci a manifestat valori intermediare genitorilor. Un rol mai important în formarea caracterului la hibridii retroîncrușiți în ambele variante l-a avut forma paternă Niconia, pe când, pe fondal cu FC, s-a atestat efectul matern la heterozigoții F_1 , iar cel patern – la descendenții F_2 . În reacția la FC *H. avenae* suprafața calusului a manifestat rezistență înaltă la genitorul Odeschi 267, pe când la populațiile hibride descendente indicele a manifestat reprimare de diferită intensitate. Genitorul Odeschi 267 a manifestat efect matern la nivelul generațiilor F_1 , F_2 atât în varianta martor, cât și pe fondal cu FC. În cazul descendenților retroîncrușiți, eficiența paternă a genitorului Odeschi 267 s-a constatat doar în varianta martor. Acumularea biomasei calusului la genitorii homozigoți a fost la nivel similar în ambele condiții de vitrocultură, dar, totodată, majorată sub influența metabolizilor fungici. În varianta martor s-a manifestat implicarea genitorului Odeschi 267 în sporirea acumulării biomasei calusului la hibridii F_2 Odeschi 267 x Niconia și BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267 în raport cu hibridii reciproci respectivi. Sub acțiunea FC *H. avenae* s-a produs inhibarea biomasei calusului la hibridii descendenți F_1 Odeschi 267 x Niconia și BC (Odeschi 267 x Niconia) x Odeschi 267 (Fig.2).

Frecvența de calusare a stabilit corelații negative joase cu suprafața calusului (-0,27; -0,13), dar pozitive joasă și medie (0,12; 0,64) – cu biomasa calusului, respectiv, în varianta mator și pe fondal cu FC. În ambele variante de cultură între suprafața și biomasa calusului au fost atestate corelații pozitive medii (0,62 și 0,24).

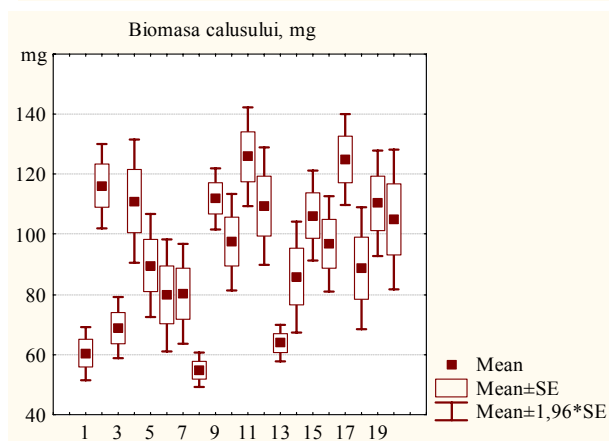
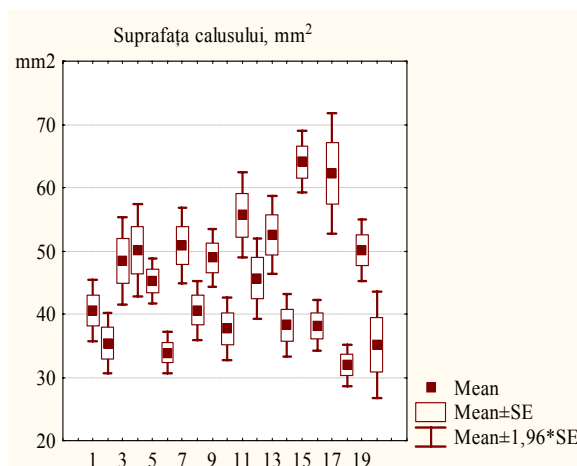
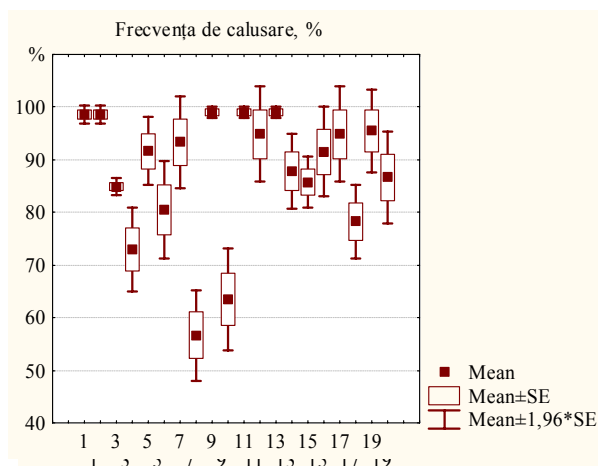


Fig.2. Particularitățile de calusogeneză la hibridii reciproci de grâu comun pe fondal cu FC *H. avenae*

Pe orizontală: 1, 2–Niconia; 3, 4–Odeschi 267; 5, 6–F₁ Niconia x Odeschi 267; 7, 8–F₁ Odeschi 267 x Niconia; 9, 10–F₂ Niconia x Odeschi 267; 11, 12–F₂ Odeschi 267 x Niconia; 13, 14–BC (Niconia x Odeschi 267) x Niconia; 15, 16–BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267; 17, 18–BC (Odeschi 267 x Niconia) x Odeschi 267; 19, 20–BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia
Variante: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19–martor; 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20–FC *H. avenae*.

Prin construirea dendrogramelor (ward's method) de distribuție a genotipurilor de grâu în baza indicilor de calusogeneză s-au constatat diferențe de repartiție a hibridilor reciproci. Astfel, hibridii generației F₁, ca rezultată a similarității de moștenire a indicilor de calusogeneză, au format subcluster comun în varianta martor. Pe fondal cu FC *H. avenae* hibridii au fost repartizați în clustere diferite ca urmare a implicării formei materne în ereditatea caracterelor, ceea ce a și produs majorarea distanței euclidiene de la 11,1 la 35,2 (Fig.3).

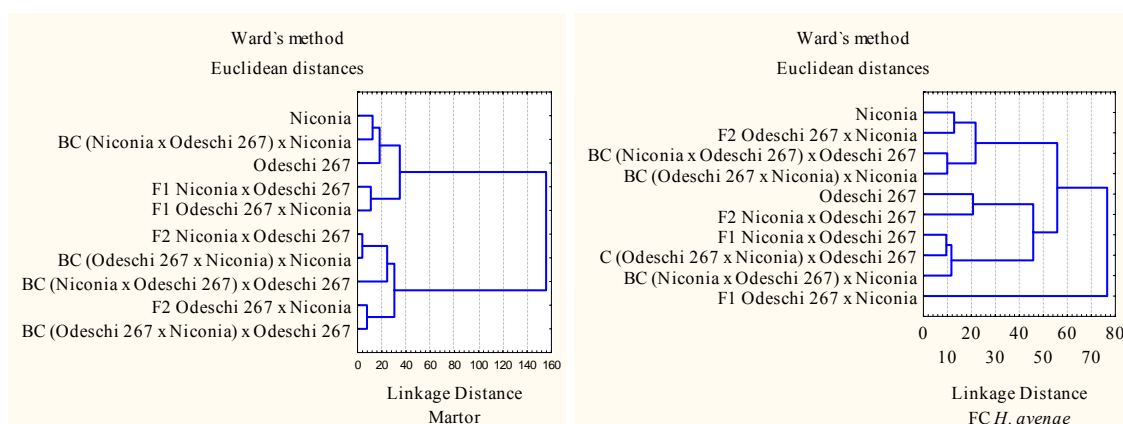


Fig.3. Dendrograma de repartiție a genitorilor și hibridilor descendenți de grâu comun în baza caracterelor de calusogeneză.

Clasificarea hibridilor reciproci în 3 clustere în baza analizei *k*-mediilor a stabilit în varianta martor capacitate înaltă de separare a indicelui *biomasa* calusului, pe când, pe fondal cu FC *H. avenae* – atât a *biomasei*, cât și a *frecvenței* de calusare. În componența clusterelor 1, 2 și 3 au fost distribuite populațiile: 3, 4; 5, 6, 8,

9, 10 și 1, 2, 7 – în varianta martor și, totodată, 4; 3, 5, 7, 9 și 1, 2, 6, 8, 10 – pe fondal cu FC *H. avenae* (variantele au fost numerotate conform Figurii 2). Deci, în varianta martor s-au separat doar componentele cu valori avansate ale suprafeței calusului, pe când pe fondal cu FC – cele cu valori joase (Fig.4).

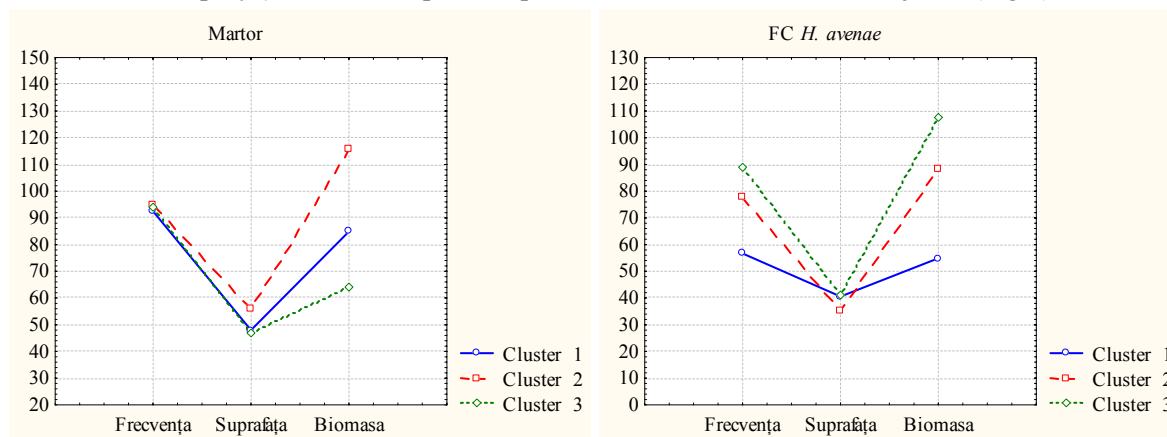


Fig.4. Analiza clusteriană (*k*-medii) de repartire a genotipurilor de grâu în baza caracterelor de calusogeneză.

Concluzii

În formarea caracterelor *lungimea rădăcinii embrionare* și a *tulpiniței* la hibridii reciproci în condiții optime a fost implicat genitorul matern Niconia. Reacția plantelor de grâu la FC *H. avenae* a fost determinată de acțiuni ale genelor care tind să mărească sau să micșoreze sensibilitatea. În calitate de donator eficient matern, dar și patern al rezistenței rădăcinii și doar matern – în cazul tulpiniței, s-a manifestat genotipul rezistent Odeschi 267.

Hibridii combinației reciproce au demonstrat specificitate înaltă în manifestarea fenotipică a caracterelor *frecvența de calusare* și *suprafața calusului*, în variantele martor și pe fondal cu FC *H. avenae* indicii au stabilit corelații negative. În ereditatea *frecvenței* de calusare s-a manifestat implicarea genitorului Niconia, pe când în cazul *suprafeței* calusului a fost atestată eficiența părintelui Odeschi 267.

În expresia fenotipică a caracterelor de calusogeneză la hibridii generațiilor F_1 , F_2 s-a constatat efectul matern, pe când cota varianței factorilor aditivi în expresia caracterului la hibridii retroîncrușiți a fost influențată de forma paternă.

Prin analiza clusteriană (dendrograme, *k*-medii) a indicilor de calusogeneză s-au constatat similarități și diferențe de repartire a hibridilor reciproci, manifestarea genelor ce controlează caracterele fiind influențată de FC *H. avenae*.

Referințe:

1. DUVEILLER, E., SHARMA, R. Genetic Improvement and Crop Management Strategies to Minimize Yield Losses in Warm Non-traditional Wheat Growing Areas due to Spot Blotch Pathogen *Cochliobolus sativus*. In: *Journal of Phytopathology*, 2009, vol.157, nr.9, p.521-534.
2. KUMAR, S. et al. Inheritance And Allelic Relationship Of Resistance Genes To Spot Blotch Of Wheat Caused By *Bipolaris Sorokiniana*. In: Buck, H. et al. (eds.). *Wheat Production in Stressed Environments. Developments in Plant Breeding*, 2007, vol.12, p.113-118. ISBN 978-1-4020-5497-6
3. LUPAȘCU, G., SAȘCO, E., GAVZER, S. Componenta speciilor de fungi care produc boli la *Triticum aestivum* L. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*, 2008, nr.2(305), p.66-73. ISSN 1857-064X
4. CEGIELKO, M. et al. Pathogenicity of *Drechslera avenae* for leaves of selected oat genotypes and its ability to produce anthraquinone compounds. In: *Acta Scientiarum Poonorum, Hortorum Cultus*, 2011, vol.10(2), p.11-22.
5. ÖZGEN, M. et al. Cytoplasmic effects on the tissue culture response of callus from winter wheat mature embryos. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2001, vol.64, p.81-84.
6. NICOL, J. et al. The international Breeding Strategy for the Incorporation of resistance in bread wheat against the soil borne pathogens (Dryland root rot and cyst and lesion cereal nematodes) using conventional and molecular tools. In: Buck, H. et al. (eds.). *Wheat Production in Stressed Environments. Developments in Plant Breeding*, 2007, vol.12, p.125-137. ISBN 978-1-4020-5497-6

7. ABDEL-HADY, M. Heterosis and Combining Ability Effects for Callus Growth of Wheat (*Triticum durum*, Desf.) *In Vitro*. *Journal of Applied Sciences Research*, 2006, vol.2(6), p.360-363.
8. LUPAȘCU, G., FANDEEV, E. *Genetica rezistenței culturii triticale la fuzarioză. Cercetări in vitro*. Chișinău: Tipografia AȘM, 136 p. ISBN 9975-62-108-2
9. SVABOVA, L. et al. Comparison of the effects of *Fusarium solani* filtrates *in vitro* and *in vivo* on the morphological characteristics and peroxidase activity in Pea cultivars with different susceptibility. In: *Journal of Plant Pathology*, 2011, vol.93, no.1, p.19-30.
10. ЛУПАШКУ, Г., САШКО, Е., ГАВЗЕР, С. Взаимодействие растений пшеницы с возбудителями корневой гнили. В: *Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция)*. Научные труды / Отв. ред. И.М. КУЛИКОВА, В.Ф. ПИВОВАРОВ. Москва, 2011, Т. IV, Ч. I, с.101-106. ISBN 978-5-901695-48-7
11. MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. In: *Physiology of Plants*, 1962, vol.15, p.473-497.

Prezentat la 30.03.2016