

CZU:633.15:631.527:581.4

MODELING THE MARKER SYSTEM IN CORN BREEDING
Part 1. Possibilities of marking at the level of morphological parameters

Batîru Gr., Comarova G., Cojocari D., Palii A., Erhan I.
Universitatea Agrară De Stat Din Moldova

Abstract: The presented article reflects the first part of the research paper in which an experimental analysis of the possibilities of use in *Zea mays* L. of some genetic models with a genome with pronounced expression of marker systems at morphological, biochemical and molecular-protein level is performed. The paper focuses on the traditional identification of maize lines with genes of endosperm structure at the level of morphological markers (according to UPOV requirements). The example of the use of a group of maize mutations with endosperm structure genes: *opaque2 (o2)*, *sugary2 (su2)* and *waxy1 (wx1)*, shows that morphological markers that are quite widely used in the assessment of varieties according to distinctiveness, uniformity and stability criteria need additional parameters, which would allow a complete and extensive marking characterization of the breeding material.

Key-words: UPOV, maize, marker, genes of endosperm structure, morphobiometric parameters.

Introducere

În prezent, Testarea de Stat a soiurilor de plante pentru identificare și patentabilitate în 68 de țări, inclusiv și în Republica Moldova, se realizează conform metodelor dezvoltate de UPOV (Uniunea Internațională pentru Protecția Noilor Soiuri de Plante) și metodologiile naționale ale țărilor membre UPOV [<https://www.upov.int/members/en/>; CEMAIHKO, 2011]. Testul de identificare constă în evaluarea soiului în funcție de criteriile distinctivității, uniformității și stabilității (DUS) pe baza determinării indicilor morfologici și fiziologici, caracteristicile și distinctivitățile cărora

pot fi descrise cu exactitate. De exemplu, la porumb, descrierea soiului, liniei etc., trebuie efectuată pe baza a 47 de caractere morfologice, reacții la 17 boli și 2 insecte dăunătoare [UPOV, 2007, 2019]. Cu toate acestea, indicii morfologici caracterizează interacțiunea dintre genotip și mediu și, cu regret, nu permit determinarea variabilității unei gene structurale (sau a complexului genic) foarte specifice care controlează o trăsătură deosebit de valoroasă economic. În acest sens, problema extinderii sistemului de markeri în ameliorarea plantelor a provocat interes sporit din partea savanților în ultimul timp [КОНОВАЛОВ и др., 2013] și anume, de concentrat atenția în procesul de ameliorare pe problema studierii sistemelor de markeri: morfologici, biochimici și genetici (moleculari). Abordarea optimă pentru soluționarea acestei probleme este selectarea modelelor genetice cu un genom cu o expresie pronunțată a tuturor sistemelor de markeri enumerați.

Prin urmare, ipoteza generală de lucru în lucrarea prezentată a fost luarea în considerare a posibilității de a utiliza modele genetice cu un genom cu expresie pronunțată a tuturor sistemelor de markeri menționați. Pentru cultura *Zea mays* L. un astfel de model poate fi propus grupa mutațiilor cu gene ale structurii endospermului (endosperm făinos, zaharat și ceros) care îmbunătățesc calitatea alimentară și furajeră a boabelor de porumb și sunt utilizate în mod eficient la ameliorarea calității bobului [PALII, 2014]. Această lucrare reflectă prima parte a lucrării de cercetare, concentrându-se pe identificarea tradițională a liniilor de porumb cu gene ale structurii endospermului la nivelul markerilor morfologici (conform cerințelor UPOV).

Material și metode

În calitate de material biologic au fost utilizate 11 linii de porumb și analogi mutanți cu genele *opaque2* (*o2*), *sugary2* (*su2*) și *waxy1* (*wx1*), în total - 26 de genotipuri, din genofondul de porumb, colectat și creat în ultimul deceniu în secția de genetică și ameliorarea plantelor din cadrul Departamentul Agronomie și Mediu al Universității Agrare de Stat din Moldova.

Observațiile în câmp, efectuate pe parcursul a două perioade de vegetație, precum și măsurările biometrice și gravimetrice ale elementelor structurii recoltei, au fost efectuate în 4 repetiții.

Măsurările morfobiometrice ale organelor vegetative ale porumbului au fost efectuate în perioada de vegetație după finalizarea procesului de morfogeneză. Au fost utilizați șapte indici morfobiologici ai organelor

vegetative ale porumbului: înălțimea plantei (talie) – \hat{InPl} ; înălțimea de inserție a știuletelui (inserția) – $\hat{InInȘt}$; lungimea frunzei – $LnFr$; lățimea frunzei – $LățFr$; lungimea paniculului – LnP ; lungimea paniculului de la ultima ramificație – $LnPUR$; numărul de ramuri în paniculul – $Nr.RP$.

Analiza indicatorilor biometrici și gravimetrice ai elementelor de productivitate a boabelor de porumb a fost efectuată după următorii parametri: lungimea știuletelui - $LnȘt$; diametrul știuletelui – $DȘt$, masa știuletelui – $MȘt$, masa rahisului – MR , diametrul rahisului – DR , masa 1000 de boabe – MMB .

Prelucrarea statistică a datelor obținute cu privire la valorile „mediei aritmetice” și „eroarea mediei aritmetice” au permis calcularea și stabilirea intervalelor de încredere pentru media aritmetică a fiecăruia dintre indicii morfometrici folosiți ai genotipurilor studiate.

Rezultate și discuții

Studiul indicilor morfobiometrici în timpul dezvoltării ontogenetice a plantelor în câmp, în decurs de doi ani de cercetări, a arătat un spectru larg de variații în valorile absolute pentru fiecare indicator. Totodată, specificitatea variației parametrilor discutați pentru două perioade de vegetație a demonstrat caracteristica tradițională a unei manifestări evidente a interacțiunii dintre genotip și mediul extern.

În experimente s-a folosit un material unic, din punct de vedere genetic: la 11 linii de porumb, a fost posibil de a studia expresia genelor structurii endospermului prin compararea mutațiilor monogene disponibile cu analogii lor normali.

Tabalul 1. Studiul gradului de marcarea a *expresiei genei o2* după indicii morfobiometrici ai organelor vegetative la porumb.

| Nr d/o | Genoti- pul | Parametrii [$\Delta = (norm - o2)$] | | | | | | |
|-----------|----------------|---------------------------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------------|
| | | $\Delta \hat{InPl}$, cm | $\Delta \hat{InInȘt}$, t, cm | $\Delta LnFr$, cm | $\Delta LățFr$, r, cm | ΔLnP , cm | ΔLnP UR, cm | $\Delta Nr.$ de ramuri, buc. |
| 1 | C81 | - 26,8 | -6,5 | +0,3 | +0,6 | +0,5 | -0,2 | +0,1 |
| 2 | MK 131 | -22,0 | -12,5 | +1,0 | -1,1 | -4,0 | -1,9 | -7,1 |
| 3 | SL 343 | +8,4 | +13,6 | -2,8 | +0,4 | +5,4 | +3,2 | +4,4 |
| 4 | W64A | +2,4 | -1,2 | -0,4 | -0,3 | +0,8 | -0,6 | +1,2 |
| 5 | MK 01 | +20,6 | +5 | +3,6 | +0,4 | +4,2 | -5 | +12 |
| 6 | W153 R | +3,4 | -1,1 | -10,7 | +1,4 | +0,4 | -0,4 | +3,8 |
| 7 | P502 P | -0,8 | -10,4 | -3,0 | 0,0 | -1,6 | -0,2 | +0,2 |
| 8 | P346 P | -7,6 | -6,8 | -1,8 | +0,7 | +2,8 | +1,0 | +1,6 |
| 9 | P346 K | -0,4 | -1,6 | -1,2 | +0,8 | -2,2 | -3,1 | -1,0 |

În procesul de interpretare a datelor morfobiometrice care caracterizează acest material, s-a constatat că încercarea de a utiliza prelucrarea statistică pentru a aprecia „semnificația diferenței dintre medii” nu permite interpretarea caracterului de marcă a parametrilor morfologici.

De aceea, în tabelele 1 – 3 pentru fiecare pereche de genotipuri ale unei linii se prezintă abaterile (Δ) în valori absolute ale fiecărui parametru. Datorită acestei tehnici, este posibilă simplificarea și, în același timp, în mod specific, caracterizarea expresiei genei corespunzătoare din grupul de gene ale structurii endospermului pentru fiecare genotip de porumb.

Analiza datelor din tabelele 1 – 3 arată că majoritatea parametrilor studiați ai organelor vegetative și generative și, în primul rând, indicii precum „înălțimea plantelor”, „înălțimea de inserție a știuletelui”, „lungimea frunzelor”, „lungimea paniculului”, „numărul de ramuri pe panicul” – pot fi utilizați ca markeri morfologici.

Cu toate acestea, acești parametri pot fi considerați doar ca markeri ai genotipului corespunzător (adică markeri genotipici), față de care poate fi interpretată doar specificitatea expresiei fenotipice a genelor *o2*, *su2*, *wx1*.

Tabelul 2. Studiul gradului de marcă a expresiei genei *wx1* după indicii morfobiometrice ai organelor vegetative la porumb.

| Nr. | Genotipul | Parametrii [$\Delta = (norm - wx1)$] | | | | | | |
|-----|-----------|--|----------------------|-------------------|--------------------|------------------|---------------------|------------------------------|
| | | Δ ÎnPl, cm | Δ ÎnIn Șt, cm | Δ LnFr, cm | Δ LățFr, cm | Δ LnP, cm | Δ Ln PUR, cm | Δ Nr. de ramuri, buc. |
| 1 | MK 131 | -19 | -3 | -5,6 | -0,7 | -3 | -3,2 | 5,8 |
| 2 | B73 K/P | +16,6 | +2 | +8 | +0,3 | +1,4 | +0,2 | -1,2 |
| 3 | A632 | -11,6 | -8 | +3 | +1,3 | -0,2 | +1,2 | -4,2 |
| 4 | W64A | -23,6 | -3 | +3,4 | +0,2 | +1,6 | +1,2 | -0,4 |

Pe baza faptului că genele *o2*, *su2*, *wx1* sunt exprimate fenotipic tocmai în bobul de porumb, la următoarea etapă a experimentului, cea mai mare atenție a fost acordată analizei fenotipice a organelor reproducătoare ale porumbului, precum și caracteristicile biometrice și gravimetrice ale elementelor structurii recoltei din genotipurile studiate.

Tabelul 3. Studiul gradului de marcarea a expresiei genelor su2 după indicii morfobiometricii organelor vegetative la porumb.

| Nr. d/o | Genotipul | Parametrii [$\Delta = (norm - su2)$] | | | | | | Δ Nr. de ramuri, buc. |
|---------|-----------|--|----------------------|-------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------------------|
| | | Δ ÎnPl, cm | Δ ÎnIn Şt, cm | Δ LnFr, cm | Δ LăţFr, cm | Δ LnP, cm | Δ LnPUR, cm | |
| 1 | A632 | -2 | -2 | +5,8 | +2,1 | 0,4 | +1 | -2,2 |
| 2 | W64A | -23,8 | -12 | +2 | 0 | -4,2 | -2,6 | -0,8 |

În figura este prezentată paşaportizarea vizuală a ştiuleţilor şi seminţelor fiecăreia dintre cele nouă linii de porumb studiate cu gena *opaque2* şi analogii lor normali ($a - i$), patru linii de porumb cu gena *waxy1* şi analogii lor normali ($j - m$) şi două linii de porumb cu gena *sugary2* şi analogii lor normali ($n - o$).

Fiecare figură constă dintr-o combinaţie din trei tipuri de caracteristici vizuale:

- 1) Forma, dimensiunea şi gradul de umplere a ştiuletelui (**Şt**);
- 2) Forma, culoarea şi mărimea bobului genotipului corespunzător în natură (**N**);
- 3) Manifestarea fenotipică a consistenţei bobului de porumb în lumina transmisă (**L**).

Efectuarea paşaportizării vizuale este un supliment semnificativ la indicii biometrici şi gravimetrice ai ştiuleţilor din fiecare genotip prezentat în tabelele 4 – 6, deoarece ne permite să apreciem specificitatea genotipică a reducerii frecvenţei legării boabelor la formele normale ale liniilor C81, MK131, A632, precum şi formele mutante ale liniei W64A cu genele *o2* şi *wx1*, precum şi linia B73 cu gena *wx1*. Mărimea şi culoarea seminţelor este, de asemenea, determinată în primul rând de genotipul corespunzător. Cu toate acestea, pentru liniile cu gena *su2*, a fost observată o uşoară scădere a volumului boabelor, în absenţa unui indice de şistăvire a boabelor.

Un marker vizual semnificativ al genei *o2* este manifestarea în lumina transmisă (**L**) a unor schimbări clare în consistenţa boabelor de porumb, exprimată prin consistenţa fainoasă a endospermului, care blochează transparenţa bobului datorită modificărilor structurii corpusculilor proteici ale boabelor de porumb [ПАЛИЙ, 1989]. Trebuie remarcat faptul că, în

lumina transmisă, natura manifestării consistenței boabelor la liniile cu gena *wx1* se schimbă semnificativ, unde se observă și blocarea transiluminării, dar cu o caracteristică vizuală diferită bazată pe o modificare a proporției fracției amilopectinice în structura grăunciorilor de amidon din endosperm [ȚÎGANĂȘ al, 2014]. Un marker vizual evident al genei *su2* în bobul translucid al liniilor studiate A632 și W64A este transparența cariopsei în lumina transmisă, care, pe baza datelor din literatura de specialitate, indică prevalența în endospermul genotipurilor mutante indicate a fracției ușor solubile de amiloză [ZGARDAN, 2000].

Cu regret, toți markerii morfologici identificați sunt de natură calitativă și nu pot marca cantitativ gradul de exprimare a genelor structurii endospermului la porumb.

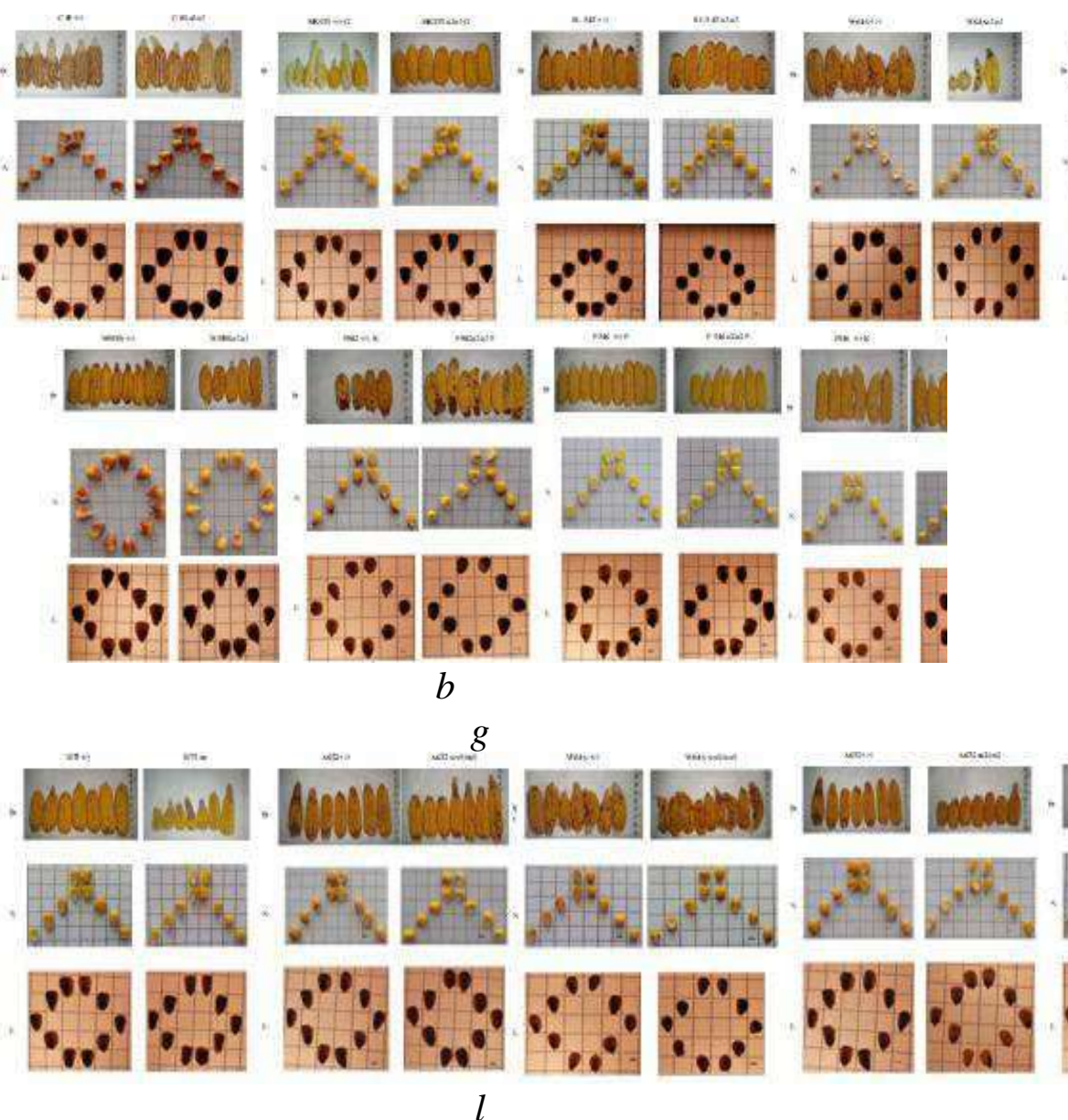


Fig.1. Pașaportizarea vizuală a liniilor de porumb cu genele structurii endospermului (*o2*, *wx2*, *su2*) și analogii lor normali

Pentru a concretiza eficiența utilizării markerilor morfologici la nivelul indicilor digitali informaționali, am studiat gradul de marcarea a genelor *o2*, *su2*, *wx1* în funcție de elementele structurii recoltei (tab. 4 – 6)

Tabelul 4. Studiul gradului de marcarea a *expresiei genei o2* după elementele structurii recolteila porumb

| Nr. d/o | Genotipul | Parametrii [$\Delta = (norm - o2)$] | | | | | |
|---------|-----------|---------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------------|-----------------|
| | | Δ Lungimea știuletelui, cm | Δ Diametrul știuletelui, cm | Δ Masa știuletelui, g | Δ Masa rahis, g | Δ Diametrul rahisului, cm | Δ MMB, g |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | C81 | -5,2 | -0,2 | -26,0 | -6,4 | -0,2 | +19,2 |
| | MK131G | +2,4 | -0,3 | +0,9 | +2,7 | -0,2 | +5,2 |
| | SL 343 | +2,3 | +0,2 | +39,7 | +5,3 | +0,2 | +137,7 |
| | W64A | +2,8 | +1,1 | +26,7 | +5,5 | +0,7 | +9,7 |
| | W153R | +1,3 | +0,2 | 23,1 | +4,8 | +0,1 | +63,1 |
| | P502 P | -3,7 | -0,2 | -15,9 | -6 | -0,1 | +20,3 |
| | P346P | -1,6 | 0 | -4,4 | -4,7 | +0,1 | +32,1 |
| | P346K | -3,1 | -0,7 | -28,4 | -5,2 | -0,2 | +9,2 |

Și din nou, ca și în discuțiile anterioare ale tabelului 1 – 3, trebuie menționat că majoritatea parametrilor structurii recoltei, și anume: „lungimea, masa și diametrul știuleților”, „masa și diametrul rahisului”, pot fi considerate doar markeri ai genotipului corespunzător (adică, markeri genotipici), împotriva căruia poate fi interpretată doar specificitatea expresiei fenotipice a genelor *o2*, *su2*, *wx1*.

Tabelul 5. Studiul gradului de marcarea a *expresiei genei wx1* după elementele structurii recoltei la porumb

| Nr d/o | Genotipul | Parametrii [$\Delta = (norm - wx1)$] | | | | | |
|--------|-----------|--|------------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------------|-----------------|
| | | Δ Lungimea știuletelui, cm | Δ Diametrul știuletelui, cm | Δ Masa știuletelui, g | Δ Masa rahis, g | Δ Diametrul rahisului, cm | Δ MMB, g |
| | MK01 | -1,3 | +0,4 | +10,9 | +2,8 | +0,3 | +37,6 |
| | B73 K/P | +2,9 | +0,5 | +40,1 | +7,4 | +0,6 | +43,2 |
| | A632 | -2,4 | -0,3 | -29,2 | -6,8 | -0,4 | -66,8 |
| | W64A | +1,5 | +0,6 | +6,1 | +3,8 | +0,5 | +11,8 |

Singurul parametru „masa a 1000 de boabe” este un marker morfologic distinct al acțiunii genei *o2*, precum și alte două gene ale structurii endospermei – *su2*, *wx1* – și este exprimat într-o scădere

Tabelul 6. Studiul gradului de marcare a **expresiei genei *su2*** după elementele structurii recoltei la porumb

| Nr. d/o | Genotipul | Parametrii [$\Delta = (norm-su2)$] | | | | | |
|---------|-----------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|------------------------|-----------------------------------|-----------------|
| | | Δ Lungimea știuletelui, cm | Δ Diame-trul știuletelui, cm | Δ Masa știuletelui, g | Δ Masa rahis, g | Δ Dia-metrul rahisului, cm | Δ MMB, g |
| | A632 | +4,5 | +0,2 | +18,2 | +14,3 | +0,2 | <u>+2</u> |
| | W64A | +2,7 | +0,4 | +8,6 | +5,7 | +0,5 | <u>+19,2</u> |

semnificativă a caracteristicilor gravimetrice ale acestui indicator în analogii mutanți. Singura excepție prezintă linia A632 cu gena *wx1*, la care masa a 1000 de boabe depășește în mod semnificativ analogul normal.

Concluzii

1.S-a stabilit că majoritatea parametrilor studiați ai organele vegetative și generative pot fi utilizați ca markeri morfologici. Cu toate acestea, acești parametri pot fi considerați doar ca markeri genotipici, pe fonul cărora poate fi interpretată doar specificitatea expresiei fenotipice a genelor *o2*, *su2*, *wx1*.

2.Markerii morfologici vizuali identificați (manifestarea unei consistențe specifice a bobului de porumb în lumina transmisă) au o natură calitativă și nu pot marca cantitativ gradul de exprimare a genelor structurii endospermului porumbului.

3.Conform celor șase elemente studiate ale structurii recoltei, singurul parametru „masa a 1000 boabe” este un marker morfologic distinctiv al acțiunii genelor structurii endospermului și este exprimat printr-o scădere semnificativă a caracteristicilor gravimetrice ale acestui indicator în analogii mutanți.

4.Pe exemplul utilizării unui grup de mutații ale porumbului cu gene ale structurii endospermului, este arătat că markerii morfologici care sunt destul de larg folosiți la aprecierea soiurilor după criteriile distinctivității, uniformității și stabilității (după UPOV) au nevoie de parametri suplimentari ceea ce ar permite o caracterizare completă și extinsă de marcare a materialului de ameliorare.

Bibliografie

- 1.PALII, A. Cercetări privind ameliorarea și genetica porumbului efectuate în cadrul Universității Agrare de Stat din Moldova. Culegerea jubiliară. Institutul de Fitotehnie”Porumbeni” - 40 ani de activitate științifică, Pașcani, 17 septembrie 2014, pp. 59-69.
- 2.ȚÎGANAȘ, V., ȚÎGANAȘ, D., DÎRZU-COCOȘ, O. Investigații perspective în ameliorarea calității porumbului prin acțiunea mutațiilor wx1 și y1(endosperm alb). Institutul de Fitotehnie”Porumbeni” - 40 ani de activitate științifică, Pașcani, 17 septembrie 2014, pp. 152-158.
- 3.UPOV. Document TGP/7: Development of test guidelines. Geneva, 2019. 80 p.
- 4.UPOV. Maize – Zea mays L. Guidelines for the conduct of test for distinctness uniformity and stability. Geneva, 2007, 69 p.
- 5.UPOV. Members. In: <https://www.upov.int/members/en/>
- 6.ZGARDAN, D. Expresia genelor structurii endospermului de porumb la nivelul moleculelor proteice și în embriocultură. Chișinău, 2000, pp. 9-20.
- 7.КОНОВАЛОВ, Ю. и др. Общая селекция растений. Санкт Петербург. Москва: Краснодар, 2013,477 с. ISBN 978-5-8114-1387-4.
- 8.ПАЛИЙ, А. Генетические аспекты улучшения качества зерна кукурузы. Кишинёв: Штиинца, 1989, 175 с.
- 9.СЕМАШКО, Т. Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений . Минск, 2011. 36 с.