

UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA
INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR

Cu titlu de manuscris:

C.Z.U: [633.16:631.528]:575.2 (043.2)

GRIGOROV Tatiana

**EFFECTUL INFECȚIEI VIRALE ȘI A RADIAȚIEI GAMA ASUPRA
VARIAȚIILOR *IN VIVO* ȘI *IN VITRO* LA ORZ (*HORDEUM VULGARE* L.)**

SPECIALITATEA 162.01. GENETICĂ VEGETALĂ

Teză de doctor în științe biologice

Conducător științific:  ANDRONIC Larisa, dr. hab. în științe biologice,
conferențiar cercetător

Autor:  GRIGOROV Tatiana

CHIȘINĂU, 2023

© Grigorov Tatiana, 2023

CUPRINS

ADNOTĂRI (română, engleză, rusă)	5
LISTA TABELELOR ȘI FIGURILOR	8
LISTA ABREVIERILOR	14
INTRODUCERE	15
1. CONCEPTE TEORETICE ȘI PRACTICE PRIVIND BAZELE GENETICE ALE AMELIORĂRII ȘI EXTINDERII VARIABILITĂȚII LA ORZ	22
1.1. Genetica și analiza dezvoltării și morfologiei la orz (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	22
1.2. Variații genetice la plantele de orz prin tehnici de cultură <i>in vitro</i>	30
1.3. Variabilitatea genetică indusă la orz prin mutageneză fizică și chimică	33
Concluzii la Capitolul 1.....	52
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	54
2.1. Obiectul de studiu	55
2.2. Metode de cercetare	58
2.3. Prelucrarea statistică a datelor	62
Concluzii la Capitolul 2	64
3. OBȚINEREA SOMACLONELOR (SC₀) DE ORZ PRIN MORFOGENEZĂ INDIRECTĂ ÎN REZULTATUL INFLUENȚEI VIRUSULUI MOZAICULUI DUNGAT AL ORZULUI ȘI A RAZELOR GAMA.....	65
3.1. Optimizarea și selectarea mediilor nutritive pentru inițierea calusogenezei, morfogenezei și regenerării somaclonelor de orz din embrioni imaturi	65
3.2. Impactul virusului mozaicului dungat al orzului solitar sau în complex cu radiația gama asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare a somaclonelor la orz	68
3.3. Efectul infecției virale și al razelor gama și asupra indicilor citogenetici și biochimici în calusul și regeneranții (SC ₀) de orz de primăvară	82
Concluzii la Capitolul 3	87
4. EVALUAREA IMPACTULUI VIRUSULUI ȘI AL RADIAȚIEI ASUPRA VARIATIILOR SOMACLONALE LA ORZUL DE PRIMĂVARĂ	89
4.1. Aprecierea rolului acțiunii comune și separate a iradierii gama și infecției virale în inducerea diversității agromorfologice la somaclonele (SC ₀) de orz de primăvară	89
4.2. Analiza influenței virusului mozaicului dungat al orzului și a razelor gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC ₁ -SC ₃) somaclonelor de orz	97
4.3. Identificarea genotipurilor cu însușiri agrobiologice nespecifice formelor inițiale și evaluarea somaclonelor de orz de primăvară (SC ₂ -SC ₃)	107
4.4. Aprecierea polimorfismului proteinelor de rezervă la somaclonele de orz de primăvară obținute de la soiurile supuse acțiunii infecției virale și radiației gama	110
Concluzii la Capitolul 4	116
5. EVALUAREA ACȚIUNII COMUNE ȘI SEPARATE A INFECȚIEI VIRALE ȘI A RAZELOR GAMA ÎN INDUCEREA VARIABILITĂȚII <i>IN VIVO</i> ȘI <i>IN VITRO</i> LA ORZUL DE PRIMĂVARĂ	118

5.1. Analiza impactului virusului și a radiației gama asupra caracterelor biomorfologice la descendenții orzului de primăvară	118
5.2. Evaluarea caracterelor biomorfologice la formele mutante de orz (<i>calcaroides</i>) obținute din semințe iradiate cu razele gama (250 Gy) și plantule infectate cu virusul mozaicului dungat al orzului	126
5.3. Heritabilitatea și corelația caracterelor agromorfologice la orzul de primăvară cu mutația spic ramificat	129
Concluzii la Capitolul 5	146
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE	148
BIBLIOGRAFIE	151
ANEXE	178
Anexa 1. Gene implicate în formarea caracterelor morfologice și expresia fenotipică a mutațiilor la orz	178
Anexa 2. Date privind variabilitatea indicilor biomorfologici la somaclonele SC ₀ și SC ₁	206
Anexa 3. Coeficientul de corelație pentru caracterele de productivitate și componentele ei structurale la diferite generații ale somaclonelor de orz cu spic ramificat	216
Anexa 4. Date privind variabilitatea indicilor biomorfologici indusă de razele gama la orzul neinfestat și infestat cu virusul mozaicului dungat al orzului	218
Anexa 5. Acte de implementare	223
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	226
CV-UL AUTORUL	227

ADNOTARE

Grigorov Tatiana, „Efectul infecției virale și a radiației gama asupra variațiilor *in vivo* și *in vitro* la orz (*Hordeum vulgare* L.)”. Teză de doctor în științe biologice. Chișinău, 2023

Structura tezei: include introducere, 5 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie (305), 5 anexe, 150 pagini conținut de bază, 27 tabele, 56 figuri. Rezultatele au fost publicate în 22 lucrări.

Cuvinte cheie: variabilitate genetică, infecție virală, raze gama, orz, *in vivo*, *in vitro*, forme mutante, caractere biomorfologice, indici citogenetici și biochimici.

Domeniul de studiu: Genetică vegetală

Scopul cercetărilor: Evaluarea variațiilor *in vivo* și *in vitro* la orzul de primăvară (*Hordeum vulgare* L.) sub acțiunea solitară sau asociată a infecției virale și razelor gama.

Obiectivele studiului: Evaluarea impactului infecției virale și razelor gama asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare a somaclonelor de orz; aprecierea acțiunii infecției virale și radiației gama asupra indicilor citogenetici și biochimici în calusul și regeneranții de orz; analiza influenței virusului și razelor gama asupra variațiilor somaclonale la regeneranții de orz; estimarea variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții de orz obținuți în condiții *in vitro* și *in vivo* din material biologic iradiat și virozat; aprecierea efectului inter- și transgenerațional al infecției virale și radiației gama solitar sau în asociere la descendenții de orz obținuți *in vivo* și *in vitro*.

Noutatea și originalitatea științifică constă în argumentarea suplinirii variațiilor induse de cultura *in vitro* prin aplicarea razelor gama și/sau a infecțiilor virale, generarea modificărilor calusogenezei, morfogenezei, regenerării și extinderii variabilității la somaclone comparativ cu descendenții *in vivo*, reflectând un efect transgenerațional.

Problema științifică soluționată constă în fundamentarea științifică a extinderii variabilității la plantele cerealiere autogame prin complimentarea culturii *in vitro* cu acțiunea solitară sau în asociere a infecției virale și razelor gama, ceea ce a condus la evidențierea genotipurilor cu valori ale indicilor heritabilității înalte și progresului genetic ridicat pentru caractere agronomice valoroase, ce reflectă efectele aditive în moștenirea însușirilor, fapt ce a permis selectarea eficientă a formelor de interes cu potențial de utilizare în soluționarea problemelor științifice și ameliorative.

Semnificația teoretică: A fost demonstrată varianța caracterelor cantitative la orz sub acțiunea solitară sau asociată a infecției virale, razelor gama și culturii *in vitro* la regeneranții și descendenții acestora pe parcursul mai multor generații, sugerând despre efectul inter- și transgenerațional. Rezultatele inovaționale privind variabilitatea diferențiată a însușirilor agrobiologice au dovedit posibilitatea modificării plasticității soiurilor recalitrante în vederea extinderii diversității și obținerii de genotipuri cu noi caractere. Formele mutante de orz evidențiate în variantele experimentale constituie surse importante de germoplasmă în elucidarea mecanismelor implicate în dezvoltarea și morfologia spicului.

Valoarea aplicativă: A fost optimizat procedeul de cultură *in vitro* de obținere a regeneranților din embrioni imaturi, în rezultatul ajustării condițiilor de cultivare, componenței mediilor nutritive, care au asigurat intensificarea calusogenezei, morfogenezei și regenerării somaclonelor cu un spectru extins al variabilității genetice prin utilizarea razelor gama solitar și/sau în asociere cu virusul mozaicului dungat al orzului.

Implementarea rezultatelor științifice: Rezultatele obținute au servit drept suport metodologic în cadrul lucrărilor practice la disciplina „Tehnici de cercetare în biologia moleculară”, ciclul II, USM. Formele mutante *calcaroides* (*cal*) și *spic ramificat* (*ram*) au fost transmise pentru depozitare în Banca de gene a IGFP, iar linia mutantă *ram* – cercetătorilor grupului Genetica și ameliorarea cerealelor păioase (IGFP) pentru includere în procesul ameliorativ.

ANNOTATION

Grigorov Tatiana, "Effect of viral infection and gamma radiation on *in vivo* and *in vitro* variations in barley (*Hordeum vulgare* L.)". PhD Thesis in Biological Sciences. Chisinau, 2023

Thesis structure: The thesis consists of an introduction, 5 chapters, general conclusions and recommendations, a bibliography composed of 305 titles, 5 annexes, 150 pages of basic content, 27 tables, 56 figures. The obtained results were published in 22 scientific papers. **Field of study:** Plant Genetics

Key words: genetic variability, viral infection, gamma radiation, *in vivo*, *in vitro*, mutant forms, biomorphological traits, cytogenetic and biochemical indices.

The aim of the research: Evaluation of *in vivo* and *in vitro* variations in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) under the solitary or combined action of viral infection and gamma rays.

Objectives: Evaluation of the impact of viral infection and gamma rays on the processes of callusogenesis, morphogenesis and regeneration of barley somaclones; assessment of the action of viral infection and gamma radiation on cytogenetic and biochemical indices in callus and regenerants of barley; analysis of the influence of the virus and gamma rays on the somaclonal variations in barley regenerants; estimation of the variability of biomorphological traits in barley offspring obtained *in vitro* and *in vivo* from irradiated and virus-infected biological material; assessment of the inter- and transgenerational effect of viral infection and gamma radiation alone or in combination in barley progeny obtained *in vivo* and *in vitro*.

Scientific novelty and originality: consists in arguing the extend of variations induced by *in vitro* culture by the application of gamma rays and/or viral infections by generating changes in callusogenesis, morphogenesis, regeneration and expansion of variability in somaclones compared to *in vivo* progeny, reflecting a transgenerational effect.

Important scientific problem solved: consists in the scientific substantiation of the expansion of variability in autogamous cereal plants by complimenting the culture *in vitro* with the solitary or in association action of viral infection and gamma rays, which led to the highlighting of genotypes with high indices of heritability and genetic progress for valuable agronomic traits. This reflects additive effects in the inheritance of traits, a fact that allowed the efficient selection of forms of interest with the potential for use in solving scientific and ameliorative problems.

The theoretical significance: The variance of quantitative traits in barley under the solitary or associated action of viral infection, gamma rays and *in vitro* culture in regenerants and their descendants over several generations was demonstrated, suggesting an inter- and transgenerational effect. The innovative results regarding the differentiated variability of the agrobiological traits proved the possibility of changing the plasticity of recalcitrant varieties in order to expand the diversity and obtain genotypes with new traits. The mutant forms of barley noted in the experimental variants constitute important sources of germplasm for the elucidation of the mechanisms involved in spike development and morphology.

The applicative value: The *in vitro* culture process for obtaining regenerants from immature embryos was optimized as a result of adjusting the composition of the culture media, which ensured the intensification of callusogenesis, morphogenesis and regeneration of somaclones with an extended spectrum of genetic variability by using gamma rays alone and/or in complex with barley stripe mosaic virus.

Implementation of scientific results: The obtained results served as methodological support in the practical work in the discipline "Research techniques in molecular biology", cycle II, MSU. The lemma *calcaroides* (*cal*) and *branched spike* mutant forms have been submitted for deposit in the IGPPP Gene Bank, and the *branched spike* mutant line to the Genetics and Breeding of Grass Grain researchers (IGPPP) for inclusion in the breeding process.

АННОТАЦИЯ

Григоров Татьяна, "Влияние вирусной инфекции и гамма-излучения на изменчивость ячменя (*Hordeum vulgare* L.) *in vivo* и *in vitro*". Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. Кишинэу, 2023 .

Структура диссертации: введение, 5 глав, общие выводы и рекомендации, список литературы из 305 наименований, 5 приложений, 150 страниц основного текста, 27 таблиц, 56 рисунков. Полученные результаты опубликованы в 22 научных работах.

Ключевые слова: изменчивость, вирус, гамма-лучи, ячмень, *in vivo*, *in vitro*, мутантные формы, биоморфологические признаки, цитогенетические и биохимические показатели.

Цель исследования: Оценка изменчивости *in vivo* и *in vitro* ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при отдельном или сочетанном действии вирусной инфекции и гамма-лучей.

Задачи: Оценка влияния вируса и гамма-лучей на процессы каллусогенеза, морфогенеза и регенерации соматических клонов ячменя; о действия вируса и гамма-лучей на цитогенетические и биохимические показатели каллуса и регенерантов ячменя; анализ влияния вируса и гамма-лучей на соматические вариации регенерантов ячменя; оценка изменчивости биоморфологических признаков потомства ячменя, полученного в условиях *in vitro* и *in vivo* из облученного и инфицированного вирусом биологического материала; оценка меж- и трансгенерационного эффекта вируса и гамма-излучения отдельно или в комбинации у потомств ячменя, полученным *in vivo* и *in vitro*.

Научная новизна и оригинальность работы: состоит в аргументации довода в пользу дополнения вариаций, индуцированных культурой *in vitro*, применением гамма-лучей и/или вируса путем создания изменений в каллусогенезе, морфогенезе, регенерации и расширении изменчивости соматических клонов по сравнению с потомством *in vivo*, что отражает трансгенерационный эффект.

Решенная научная проблема: заключается в научном обосновании расширения изменчивости у злаков путем дополнения культуры *in vitro* действием вируса и гамма-лучей, что привело к выделению генотипов с высокими значениями наследуемости и генетического прогресса по ценным признакам, отбору ценных форм для использования в научных и селекционных задачах.

Теоретическая значимость: Доказана изменчивость количественных признаков ячменя при одиночном или сочетанном действии вируса, гамма-лучей и культуры *in vitro* у регенерантов и их потомков в нескольких поколениях, что свидетельствует о меж- и трансгенерационном эффекте. Инновационные результаты по дифференцированной изменчивости агробиологических свойств доказали возможность изменения пластичности рекальцитрантных сортов для расширения разнообразия и получения генотипов с новыми признаками. Мутантные формы ячменя, представляют собой источники ценных генов для выяснения механизмов, вовлеченных в развитие и морфологию колоса.

Прикладная значимость: Оптимизирован метод культивирования *in vitro* для получения регенерантов из незрелых зародышей в результате улучшения состава питательных сред, что обеспечило интенсификацию каллусогенеза, морфогенеза и регенерации соматических клонов с расширенным спектром генетической изменчивости за счет использования гамма-лучей отдельно и/или в сочетании с вирусом полосатой мозаики ячменя.

Внедрение научных результатов: Полученные результаты послужили методической поддержкой в практической работе по дисциплине «Методы исследований в молекулярной биологии», цикл II, МГУ. Мутантная форма с разветвленным колосом и *calcaroides* (*cal*) были переданы на хранение в банк генов IGFP, а мутантная линия с разветвленным колосом - исследователям отдела Генетики и Селекции злаков (ИГФЗР) для вовлечения в процесс селекции.

LISTA TABELELOR ȘI FIGURILOR

Lista tabelelor

Tabelul 2.1.	Formule pentru estimarea parametrilor genetici	63
Tabelul 3.1.	Frecvența calusogenezei din embrionii imaturi prelevați de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO la orzul de primăvară pe mediile nutritive analizate	67
Tabelul 3.2.	Frecvența calusogenezei din embrionii imaturi de orz prelevați de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO pe medii de cultură optimizate	70
Tabelul 3.3.	Frecvența morfogenezei a explantelor de calus orz obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO	72
Tabelul 3.4.	Frecvența regenerării a explantelor de calus obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO	74
Tabelul 3.5.	Variația frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării explantelor de orz de primăvară obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO	75
Tabelul 3.6.	Influența VMDO și/sau razelor gama asupra intensității regenerării	79
Tabelul 3.7.	Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra numărului de somaclone (SC_0)	81
Tabelul 3.8.	Influența virusului și radiației gama asupra activității mitotice în celulele calusale	83
Tabelul 3.9.	Cota celulelor cu diferite tipuri de mutații în diviziunea mitotică la orz ...	84
Tabelul 4.1.	Valorile masei a 1000 de boabe per somaclonă (SC_2) la plantele de orz obținute din explante supuse acțiunii radiației gama și infecției virale	107
Tabelul 4.2.	Valoarea medie a caracterelor de productivitate la formele de orz selectate	109
Tabelul 4.3.	Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele A) extrase din boabele de orz, s. Galactic	112
Tabelul 4.4.	Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele B) extrase din boabele de orz, s. Galactic	113
Tabelul 4.5.	Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele C) extrase din boabele de orz, s. Galactic	113
Tabelul 4.6.	Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele A) extrase din boabele de orz, s. Unirea	114
Tabelul 4.7.	Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele B) extrase din boabele de orz, s. Unirea.....	115
Tabelul 4.8.	Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele C) extrase din boabele de orz, s. Unirea	115
Tabelul 5.1.	Variația caracterelor biomorfologice la soiurile de orz supuse infecției virale în generațiile M_0 - M_2	119
Tabelul 5.2.	Variația caracterelor biomorfologice la soiurile de orz supuse infecției virale în complex cu radiata gama în generațiile M_0 - M_2	120
Tabelul 5.3.	Variația caracterelor biomorfologice la forma mutantă <i>cal</i> în M_3 - M_7	127
Tabelul 5.4.	Analiza varianței indicilor biomorfologici la forma mutantă <i>cal</i> (ANOVA)	129
Tabelul 5.5.	Frecvența mutației spic ramificat la somaclonele de orz de primăvară Unirea-100 Gy.....	130
Tabelul 5.6.	Analiza varianței indicilor biomorfologici la somaclonele de orz de primăvară (SC_{2-4}) cu <i>spic ramificat</i>	132

Tabelul 5.7.	Analiza varianței indicilor biomorfologici la somaclonele (SC ₂₋₄) de orz de primăvară cu <i>spic neramificat</i>	133
Tabelul 5.8.	Varianța genotipică și fenotipică pentru caracterele agromorfologice la formele de orz cu spic ramificat (SC ₂ -SC ₃) în dependență de ani	136
Tabelul 5.9.	Varianța genotipică și fenotipică pentru caracterele agromorfologice la formele de orz cu spic neramificat (SC ₂ -SC ₃) în dependență de ani	139

Lista figurilor

Figura 1.1.	Tipuri de variație somaclonală prin tehnici <i>in vitro</i> (după [274] cu modificări)	31
Figura 2.1.	<i>Design</i> -ul metodologic de cercetare	54
Figura 3.1.	Aspectul explantelor cu calus pe diferite medii de cultivare: A – MSB ₅ D; B – MSB ₅ P; C – MS; D – B ₅	66
Figura 3.2.	Obținerea regeneranților prin morfogeneză indirectă	68
Figura 3.3.	Inducerea calusului din embrioni imaturi pe mediile de cultură optimizate: A – formarea calusului, ziua a 3-a de la inoculare (aspect sub lupa binocular); B – calus alb-gălbui, moale, apos, transparent (MSB ₅ D); C – inducerea calusului pe mediile de inițiere (aspect general); D – calus de culoare gălbuie, fărâncios, neembriogen cu proliferare intensivă	69
Figura 3.4.	Proliferarea calusurilor și inducerea morfogenezei: A – calus cu centre morfogene; B – regenerare prin embriogeneză; C – formarea primordiilor foliare; D – inițierea rizogenezei; E – proliferarea calusurilor pe medii de menținere; F – inițierea morfogenezei pe medii de regenerare	71
Figura 3.5.	Dezvoltarea plantulelor de orz pe mediul de regenerare optimizat	73
Figura 3.6.	Contribuția procentuală a genotipului, infecției virale și radiației asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare la embrionii imaturi de orz de primăvară: A – calusogeneză, B – morfogeneză, C – regenerare; a – genotip, b – virus, c – radiație, d – mediu	76
Figura 3.7.	Influența interacțiunii factorilor <i>genotip x radiație</i> asupra frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării din embrionii imaturi la orzul de primăvară: A – frecvența calusogenezei, B – frecvența morfogenezei, C – frecvența regenerării	77
Figura 3.8.	Influența interacțiunii factorilor <i>genotip x virus</i> asupra frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării din embrionii imaturi la orzul de primăvară: A – frecvența calusogenezei, B – frecvența morfogenezei, C – frecvența regenerării	78
Figura 3.9.	Aclimatizarea regeneranților: A – regeneranți în prima perioadă de aclimatizare, B – somaclone aclimatizate	80
Figura 3.10.	Impactul infecției virale și radiației asupra ratei somaclonelor (%) cu spice fertile la s. Galactic	82
Figura 3.11.	Mutații mitotice în celule calusale la orzul de primăvară: A – celule cu setul diploid de cromozomi (2n=14); B – celulă gigantică, poliploidă (2n=6x=42); C – eliminarea unui cromozom; D – celula poliploidă (2n=4x=28); E – celulă aneuploidă (2n-2=12); F – celulă cu nuclee poliploide	84
Figura 3.12.	Aspectul celulelor meristematice în diviziunea mitotică și a celulelor calusale mutante la orz: 1 – celule meristematice radiculare în diviziune: A – profaza, B – metafaza, C – anafaza, D – telofaza; 2 – celule calusale cu diferite tipuri de mutații: E – punte solitară, F – fragment par punctiform, G – aranjarea ciclică a cromozomilor, H – celulă polinucleată	85
Figura 3.13.	Aspectul general al explantelor de calus și regeneranților de orz: A – calus nemorfogen; B – calus morfogen; C, D – regeneranți (SC ₀) donor ...	86
Figura 3.14.	Electroforegrama peroxidazei la soiul Galactic: A – calus; B – regeneranți	86
Figura 3.15.	Indicele de mobilitate relativă (Rf) a izoformelor peroxidazei din calus și regeneranții obținuți din embrionii imaturi, s. Galactic: A – peroxidaza	

	din calus morfogen (1, 3, 4, 6, 7, 9) și nemorfogen (2, 5, 6, 8) la variantele – Martor (1, 2), iradiate în doza de 100 Gy (3, 4), 150 Gy (5, 6), 250 Gy (7); cu virus (8) și virus în asociere cu radiația 100 Gy (9); B – peroxidaza din regeneranți, variantele – Martor (1, 2), iradiate în doza de 100 Gy (3, 4), 150 Gy (5), 250 Gy (6); cu virus (7) și virus în asociere cu radiația 100 Gy (8).....	87
Figura 4.1.	Variații morfologice la somaclonele de orz (SC ₀): A – frunze dispuse paralel; B – tulpină modificată și frunze scurte; C – frunze unite la bază; D – frunze paralele și dispuse compact; E – frunze unite ce au aspectul unui tub; F – pai modificat, distanță mică dintre internoduri, frunze foarte scurte; G – două spice ce pornesc de la un nod; H – inflorescență bifurcată	89
Figura 4.2.	Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterului TPL la somaclonele de orz (SC ₀)	90
Figura 4.3.	Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor LSP (A) și LUI (B) la somaclonele de orz (SC ₀)	91
Figura 4.4.	Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor NFF (A) și NI (B) la somaclonele de orz (SC ₀)	92
Figura 4.5.	Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor NSP (A) și NBSP(B) la somaclonele de orz (SC ₀)	93
Figura 4.6.	Variabilitatea caracterelor biomorfologice la somaclonele de orz (SC ₀) sub influența virusului și radiației gama: A – TPL, B – LSP	95
Figura 4.7.	Inluența virusului și a radiației gama asupra variabilității caracterelo cantitative la somaclonele SC ₀ : A – NI; B – LUI	95
Figura 4.8.	Variabilitatea caracterelor cantitative la somaclonele SC ₀ sub influența virusului și a radiației gama: A – NSP; B – NFF (B)	96
Figura 4.9.	Cota descendenților (SC ₂) obținuți de la donatorii supuși acțiunii comune și/sau separate a iradierii gama și infecției virale: M I – plante obținute din semințe; M II – somaclone	98
Figura 4.10.	Impactul infecției virale și a radiației gama asupra cotei de somaclone viabile (SC ₂ -SC ₃): M I – plantule obținute din semințe; M II – somaclone (SC ₂)	98
Figura 4.11.	Variații morfologice la somaclonele de orz (SC ₁): A – spice cu ariste încrețite și îngroșate; B – somaclone cu ligula modificată, aspect de frunze; C – spice cu spiculețul lateral fertil; D – spice cu dispunerea opusă a spiculețelor pe rahis	99
Figura 4.12.	Variații morfologice ale spicului la descendenții somaclonelor de orz (SC ₁ -SC ₂) comparativ cu SC ₀ : 1A – spic ceros cu aristele groase și ondulate (U100 Gy); 2A – pai cu două spice (G100 Gy); 3A – spic bifurcat, cu spiculețul secundar steril (G150 Gy); 1B – spic trifurcat (U100 Gy); 2B – spic cu spiculețul lateral fertil (SV); 3B – spic compact cu dispunerea opusă a spiculețelor (G100 Gy); 4B-spic ramificat (U100 Gy); 5B – spic cu dispunerea rară a spiculețelor fertile (GM <i>in vitro</i>); 6B – spic cu trei spiculețe laterale sterile (GV); 7B – spic modificat (U100 Gy); 8B – spic bifurcat (GM); 9B – spic cu trei spiculețe fertile (GM); 1C – spic trei spiculețe fertile în rând (G100 Gy); 2C – spic compact (G100 Gy); 3C – lipsa spiculețelor sterile în spic (GV)	100
Figura 4.13.	Cota de variații morfologice la somaclonele (SC ₀) și descendenții (SC ₁) de orz de primăvară, s. Sonor	101
Figura 4.14.	Cota caracterelor cu diferențe semnificative față de martor la regeneranții	

	SC ₀ și descendenții SC ₁	102
Figura 4.15.	Influența VMDO și razelor gama asupra caracterului TPL la somaclonele (SC ₀ -SC ₁)	102
Figura 4.16.	Influența VMDO și razelor gama asupra valorii medii a caracterului LUI la somaclonele SC ₀ -SC ₁	103
Figura 4.17	InfluențaVMDO și razelor gama asupra caracterului NFF la somaclonele SC ₀ -SC ₁	104
Figura 4.18.	Influența VMDO și razelor gama asupra caracterului LUI la somaclonele SC ₀ -SC ₁	104
Figura 4.19.	Influența virusului și a radiației gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC ₂) somaclonelor de orz: A – TPL; B – LSP; M I – plante obținute din semințe; M II – plantule obținute <i>in vitro</i> ..	106
Figura 4.20.	Influența virusului și radiației gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC ₂) somaclonelor de orz: A – NSP; B – NBSP; M I – plante obținute din semințe; M II – plantule obținute <i>in vitro</i>	106
Figura 4.21.	Variațiile morfologice ale spicului la descendenții somaclonelor de orz (SC ₂ -SC ₃) selectați din formele cu cele mai expresive variații ale caracterelor studiate: A – s. Sonor (SC ₃ -11/Virus); B – Martor; C – s. Unirea (SC ₂ - 622/100Gy); D – s. Unirea (SC ₂ -623/100 Gy)	108
Figura 4.22.	Coeficientul de variație a unor caractere morfologice ale spicului: UM I – plante obținute din semințe, s. Unirea; M II – plantule obținute <i>in vitro</i> , s. Unirea; SM I – plante obținute din semințe, s. Sonor; SM II – plantule obținute <i>in vitro</i> , s. Sonor	110
Figura 4.23.	Electroforegrama hordeinelor în semințele de orz: A ₁ – s. Galactic (Martor); A ₂ –SC ₂ -165 (<i>in vitro</i>); A ₃ – SC ₂ -124 (<i>In vitro</i>); A ₄ – SC ₂ -148 (100 Gy); A ₅ – SC ₂ -20 (150 Gy); A ₆ – SC ₂ -3 (250 Gy); A ₇ – SC ₂ -42 (VMDO); A ₈ – SC ₂ -67 (VMDO); B ₁ – s. Unirea (Martor); B ₂ – SC ₂ -668 (<i>In vitro</i>); B ₃ – SC ₂ -622, B ₄ – SC ₂ -623, plante cu inflorescență neramificată; B ₅ – SC ₂ -622, B ₆ – SC ₂ -623, plante cu inflorescență ramificată; B ₇ – SC ₂ -672 (250 Gy); B ₈ – SC ₂ -686 (VMDO); M – marcheri moleculari	111
Figura 5.1.	Variații fenotipice ale spicului la descendenții din M ₂ , s. Galactic (250 Gy): A, C – spice bifurcate, B – spic fără ariste	121
Figura 5.2.	Variații fenotipice ale spicului la descendenții din generațiile M ₂ (A)-M ₃ (B), s. Sonor, VMDO + 250 Gy.....	121
Figura 5.3.	Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a TPL în generațiile M ₀ -M ₂ : V – virus, G – genotip, R – radiație	123
Figura 5.4.	Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a NI în generațiile M ₀ -M ₂ : V – virus, G – genotip, R – radiație	123
Figura 5.5.	Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a NBSP în generațiile M ₀ -M ₂ : V – virus, G – genotip, R – radiație	124
Figura 5.6.	Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a LSP în generațiile M ₀ -M ₂ : V – virus, G – genotip, R – radiație	124
Figura 5.7.	Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a NFF în generațiile M ₀ -M ₂ : V – virus, G – genotip, R – radiație	125
Figura 5.8.	Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a LUI	

	în generațiile M_0 - M_2 : V – virus, G – genotip, R – radiație	125
Figura 5.9.	Aspectul morfologic al spicului mutant <i>calcaroides</i> de orz de primăvară, s. Sonor: A – Martor; B – Forma mutantă <i>Calcaroides</i>	126
Figura 5.10.	Aspectul morfologic al somaclonelor cu spic ramificat s. <i>Unirea</i> în diferite generații	130
Figura 5.11.	Temperatura aerului în lunile mai-iunie în fazele de vegetație a orzului Înfrățire Z 29 – Înspicare Z 49	131
Figura 5.12.	Puterea de influență a condițiilor de an asupra variației caracterelor agromorfologice la formele de orz cu spic ramificat: A – SC ₂ ; B – SC ₃ ; C – SC ₄	134
Figura 5.13.	Puterea de influență a condițiilor de an asupra variației caracterelor agromorfologice la formele de orz cu spic neramificat: A – SC ₂ ; B – SC ₃ ; C – SC ₄	135
Figura 5.14.	Heritabilitatea în sens larg (h^2 , %) și avantajul genetic (AG, %) la formele de orz cu spic ramificat: A – SC ₂ ; B – SC ₃ ; C – SC ₄	139
Figura 5.15.	Heritabilitatea în sens larg (h^2 , %) și avantajul genetic (AG, %) la formele de orz cu spic neramificat: A – SC ₂ ; B – SC ₃ ; C – SC ₄	139
Figura 5.16.	Interrelațiile între elementele productivității în aspect transgenerațional: A – ambele forme; N – spic neramificat; R – spic ramificat	144

LISTA ABREVIERILOR

- AG** – avantajul genetic
- B₅** – mediul de cultură Gamborg
- CV** – coeficientul de variație
- CVF** – coeficientul de variație fenotipică
- CVG** – coeficientul de variație genotipică
- EI** – embrioni imaturi
- GBPL** – greutatea boabelor per plantă
- GBSP** – greutatea boabelor per spic principal
- LSP** – lungimea spicului principal
- LUI** – lungimea ultimului internod
- MMB** – masa a 1000 boabe
- MS** – mediul de cultură Murashige-Skoog
- MSB₅D** – mediul de cultură , macro- și microelementele: MS, vitamine: B₅, auxina dicamba (D)
- MSB₅P** – mediul de cultură, macro- și microelementele: MS, vitamine: B₅, auxina dicamba (D)
- NBPL** – numărul de boabe per plantă
- NBSP** – numărul de boabe per spic principal
- NF** – numărul total de frați
- NFF** – numărul fraților fertili
- NI** – numărul internodurilor
- NS** – numărul de spiculețe per spic principal
- SC** – somaclone
- TPL** – talia plantei
- VMDO** – virusul mozaicului dungat al orzului (barley stripe mosaic virus, BSMV)
- VS** – variabilitatea somaclonală

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța temei abordate. Variabilitatea genetică este indispensabilă pentru menținerea și extinderea diversității, reducerea riscului vulnerabilității și eroziunii genetice care ar putea afecta plasticitatea și adaptabilitatea culturilor cerealiere la actualele și viitoarele provocări determinate de schimbarea condițiilor climatice, cerințele agricole și de consum. Printre culturile cerealiere, orzul (*Hordeum vulgare* L.) are caracteristici unice și reprezintă o importanță majoră pentru agricultura modernă și știință, fiind ca plantă experimentală model, contribuind la dezvoltarea cercetărilor și progresului în genetică, fiziologie, patologie, biochimia și biotehnologia plantelor [110]. În calitate de cultură agricolă, orzul este una din cele patru culturi cerealiere importante din lume după grâu, porumb și orez. Fiind o plantă rezistentă, orzul poate fi cultivat în zonele cu climă și sol mai puțin pretabile pentru agricultură și acolo unde alte specii de cereale nu pot prospera [196]. Astfel, orzul deține unele avantaje față de alte cereale și reprezintă sursa alimentară de bază în țările în curs de dezvoltare cu clima aridă și semiaridă, fiind o garanție împotriva riscurilor unor productivități foarte scăzute sau eșecului de recolta a altor culturi [118]. La nivel mondial, în anii 2021-2022 suprafața semănată cu orz a constituit 49,82 mil. ha, preponderent în Uniunea Europeană (UE) (10,30 mil. ha), Rusia (7,69 mil. ha), Australia (5,1 mil. ha), Turcia (3,70 mil. ha), Canada (3,10 mil. ha) etc. Producția globală de orz în această perioadă a fost de 145,93 mil. tone [115,116]. Din producția totală de orz cultivat în țările menționate, rentabilitatea formelor de primăvară a constituit 48% (UE), 89% (Federația Rusă), 100% (Australia și Canada).

În Republica Moldova, au fost semăcate 64,9 - 54,6 mii ha (2021-2022) de orz, iar recolta obținută a constituit 260-131 mii tone [117]. Boabele de orz sunt folosite preponderent ca furaj (70%), malț, pentru fabricarea berii și în alimentație (15%), ca componentă cheie a dietelor sănătoase care pot reduce riscul de obezitate, diabet și boli cardiovasculare [191]. Pe lângă aceasta, orzul poate fi utilizat în producerea bioetanolului și biocombustibilului [142, 223]. În Republica Moldova orzul se utilizează în special ca produs furajer și înlocuiește porumbul și grâul pentru furaj atunci când recoltele acestor culturi sunt compromise, ceea ce îi confirmă importanță. Prin urmare, menținerea și extinderea variabilității și respectiv a diversității genetice la orz (*Hordeum vulgare* L.) constituie obiective majore pentru programele de ameliorare.

Tradițional, în calitate de inductori ai variabilității genetice se utilizează factorii fizici și chimici, eficacitatea cărora a fost confirmată prin crearea unui număr mare de forme mutante și soiuri la orz [115] ce au contribuit la progresul științific și la sporirea semnificativă a producției agricole. Printre factorii fizici, razele gama s-au dovedit a fi mult mai eficiente în comparație cu

alți factori mutageni. Eficiența radiației gama în calitate de inductor al variațiilor genetice la orz, a fost confirmată prin crearea soiurilor mutante cu proprietăți net superioare ce țin de productivitate, calitate, arhitectonica plantei și rezistența la diferite boli, care constituie 60% din numărul total de soiuri obținute prin aplicarea mutagenilor fizici [115]. Variabilitatea plantelor cerealiere regenerate *in vitro*, obținute prin cultura de calus reprezintă o sursă suplimentară de modificări genetice și epigenetice cu potențial semnificativ în ameliorare [7, 40, 45]. Contribuția preconizată a variabilității somaclonale în ameliorarea orzului nu a fost pe deplin justificată din cauza frecvenței scăzute și valorii limitate ale acestora [43, 130]. Mutațiile apărute în cultura *in vitro* pot avea origine diferită sau cuprinde un spectru divers și sunt luate în considerare în egală măsură cu mutațiile induse de factorii fizici, chimici și biotici. Pentru extinderea variabilității caracterelor importante la somaclonele de orz este necesară utilizarea agenților mutageni în complex cu cultura *in vitro*. De asemenea, a fost recunoscută contribuția infecției virale în generarea instabilității genetice la plante [48, 147]. Impactul virusului mozaicului dungat al orzului asupra variabilității materialului ereditar și posibilitatea utilizării în calitate de inductor al diversității genetice la orz a fost relatat și de alți autori [33]. Este demonstrată posibilitatea aplicării virusurilor, comparabil factorilor fizici (razelor gama), în modificarea expresiei genelor, mărirea spectrului de recombinării și extinderea variabilității genetice, restructurări ce pot fi transmise la descendenții plantelor infectate [1]. În același timp este necesar de menționat că în cazul acțiunii combinate a stresului biotic (viral) și abiotic, plantele manifestă reacții fiziologice și moleculare specifice [222]. Prin urmare folosirea virusurilor fitopatogene în complex cu radiația gama și cultura *in vitro*, ar putea induce unele particularități specifice în variația caracterelor, lărgi spectrul de variații agromorfologice, cu potențial de transmitere ulterioară descendenților.

Scopul cercetării: Evaluarea variațiilor *in vivo* și *in vitro* la orzul de primăvară (*Hordeum vulgare* L.) sub acțiunea solitară sau asociată a infecției virale și a razelor gama.

Obiectivele studiului:

- Evaluarea impactului infecției virale și a razelor gama asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare a somaclonelor de orz;
- Aprecierea acțiunii infecției virale și radiației gama asupra indicilor citogenetici și biochimici în calusurile și regeneranții de orz;
- Analiza influenței virusului și razelor gama asupra variațiilor somaclonale la regeneranții de orz; estimarea variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții de orz obținuți în condiții *in vitro* și *in vivo* din material biologic iradiat și virozat;

- **Aprecierea efectului inter- și transgenerațional al infecției virale și radiației gama - solitar sau în asociere la descendenții de orz obținuți *in vivo* și *in vitro*.**

Ipoteza de cercetare. Având drept reper conceptul privitor la aplicarea virusurilor în modificarea expresiei genelor, mărirea spectrului de recombinanți și extinderea variabilității genetice ce pot fi transmise la descendenții plantelor infectate este argumentată ipoteza conform căreia infecția virală, razele gama, și cultura *in vitro*, solitar sau în asociere pot cauza variația diferențiată a caracterelor biomorfologice cu posibil efect transgenerațional în extinderea variabilității la orzul de primăvară.

Metodologia cercetării științifice. Pentru realizarea obiectivelor propuse au fost utilizate **metode de diagnostic virusologic** (metoda de inoculare mecanică a materialului vegetal experimental), **metoda de contrastare negativă** bazată pe microscopia electronică prin transmisie [211]. Pentru **inducerea variabilității genetice** au fost aplicate **metoda culturii *in vitro*** și de **mutagenză experimentală**. Pentru aprecierea impactului infecției virale și a razelor gama asupra indicilor citogenetici la celulele radiculare și cele calusale a fost aplicată **metoda citologică de analiză a diviziunilor mitotice conform** [304]. Aprecierea polimorfismului peroxidazelor și proteinelor de rezervă (hordeinelor) în calus și somaclonele de orz a fost efectuată cu ajutorul **metodelor biochimice de studiu** (polimorfismul peroxidazelor [249] și proteinelor de rezervă [243]). Evaluarea caracterelor agromorfologice a fost realizată cu ajutorul **metodelor biometrice** conform ghidului UPOV [121]. Pentru aprecierea rolului genotipului, virusului, razelor gama, culturii *in vitro* și interacțiunii acestora în variația caracterelor cantitative s-a aplicat analiza bi- și trifactorială a **varianței ANOVA** [67]. În baza testului ANOVA, pentru aprecierea potențialului genetic, naturii variabilității, factorilor majori ce contribuie la manifestarea fenotipică a caracterelor și modalității de moștenire a acestora a fost estimat gradul de variabilitate al caracterelor agromorfologice la formele mutante de orz prin evaluarea **varianței genotipice și fenotipice** [88], **coeficienților de variație genotipice și fenotipice** [244], iar pentru aprecierea gradului de ereditare și avantajului genetic – **coeficientul de heritabilitate în sens larg și deviația standard generală** a eșantionului în studiu. De asemenea, pentru stabilirea gradului de dependență dintre caracterele evaluate, a fost stabilit **coeficientul de corelație Person (r)**, valorile căruia au fost interpretate conform [65]. Prelucrarea statistică a datelor s-a efectuat cu ajutorul pachetelor de programe Statgraphics Plus 5.1. Reprezentarea grafică, tabelară și textuală a fost efectuată cu aplicarea programelor Microsoft Word, Excel în mediul Windows XP.

Noutatea și originalitatea științifică ale rezultatelor obținute constă în argumentarea suplinderii variațiilor induse de cultura *in vitro* prin aplicarea razelor gama și/sau a infecțiilor

virale prin generarea modificărilor calusogenezei, morfogenezei, regenerării și extinderii variabilității la somaclone comparativ cu descendenții *in vivo*, demonstrând astfel efectul transgenerațional al acestora.

Problema științifică importantă soluționată constă în fundamentarea științifică a extinderii variabilității la plantele cerealiere autogame prin complementarea culturii *in vitro* cu acțiunea solitară sau în asociere a infecției virale și razelor gama, ceea ce a condus la evidențierea genotipurilor cu valori ale indicilor heritabilității înalte și progresului genetic ridicat pentru caractere agronomice valoroase, ce reflectă efectele aditive în moștenirea însușirilor, fapt ce a permis selectarea eficientă a formelor de interes cu potențial de utilizare în soluționarea problemelor științifice și ameliorative.

Semnificația teoretică. A fost demonstrată variabilitatea caracterelor cantitative la orz la acțiunea solitară sau asociată a infecției virale, razelor gama și culturii *in vitro* la regeneranții și descendenții acestora pe parcursul mai multor generații, reflectând astfel efectul inter- și transgenerațional al factorilor implicați în sistemul menționat de interacțiuni. Rezultatele inovatoare privind variabilitatea diferențiată a însușirilor agrobiologice au dovedit posibilitatea modificării plasticității soiurilor recalcitrante în vederea extinderii diversității și obținerii de genotipuri cu noi caractere. Formele mutante de orz evidențiate în variantele experimentale constituie surse importante de germoplasmă în elucidarea mecanismelor implicate în dezvoltarea și morfologia spicului.

Valoarea aplicativă a lucrării. A fost optimizat procedeul de cultură *in vitro* de obținere a regeneranților din embrioni imaturi prin morfogeneză indirectă, în rezultatul ajustării condițiilor de cultivare, componenței mediilor nutritive, care au asigurat intensificarea calusogenezei, morfogenezei și regenerării somaclonelor cu un spectru extins al variabilității genetice prin utilizarea razelor gama solitar și/sau în asociere cu VMDO.

Implementarea rezultatelor. Rezultatele obținute au servit drept suport metodologic în cadrul lucrărilor practice la disciplina „*Tehnici de cercetare în biologia moleculară*”, ciclul II la Departamentul Biologie și Ecologie, Facultatea Biologie și Geoștiințe a USM. Formele mutante *calcaroides (cal)* și *spic ramificat (ram)* au fost transmise pentru depozitare în Banca de gene a IGFPP, iar linia mutantă *ram* - cercetătorilor grupului Genetica și ameliorarea cerealelor păioase (IGFPP), fiind constatată de perspectivă.

Sumarul capitolelor tezei

Teza include Adnotare, prezentată în limbile: română, engleză și rusă; lista abrevierilor, introducere, 5 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie, declarația privind asumarea răspunderii și CV-ul autorului.

În **Introducere** sunt prezentate actualitatea și importanța problemei abordate, formulate scopul și obiectivele cercetărilor, ipoteza de cercetare, metodologia cercetării științifice; descrise noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a cercetărilor, implementarea și aprobarea rezultatelor, sumarul compartimentelor tezei.

Capitolul 1. Conține studiul literaturii de specialitate, fiind prezentată o sinteză a informației referitor la analiza genetică și a dezvoltării și morfologiei orzului (*Hordeum vulgare* L.); variațiile genetice la plantele de orz prin tehnici de cultură *in vitro*; variabilitatea genetică indusă la orz prin mutagenza fizică și chimică; radiațiile gama – surse de creare și sporire a variabilității la plantele de orz; utilizarea factorilor biotici în scopul lărgirii spectrului de variații. Este demonstrată importanța formelor mutante în calitate de resurse genetice pentru ameliorare și diversificarea plantelor de orz, precum și pentru elucidarea mecanismelor ce stau la baza relațiilor dintre diferite gene codificatoare a caracterelor ce țin de dezvoltarea și morfologia orzului. De asemenea este argumentată importanța factorilor biotici/abiotici experimentali în generarea și extinderea variabilității la plantele de orz și posibilitatea de obținere a formelor mutante, soiurilor cu caractere agronomice valoroase.

Capitolul 2 „Materiale și metode de cercetare” include locul și condițiile desfășurării cercetărilor, descrierea obiectului de studiu, materialelor biologice și metodelor de cercetare utilizate. Sunt indicate metodele genético-statistice și pachetele de programe pentru estimarea veridicității datelor experimentale.

Capitolul 3 „Obținerea somaclonelor (SC₀) de orz prin morfogeneză indirectă în rezultatul influenței impactului virusului mozaicului dungat al orzului și razelor gama” conține rezultatele privind acțiunea infecției virale și razelor gama solitar sau în asociere la toate etapele de obținere a somaclonelor de orz de primăvară prin morfogeneză indirectă. Sunt expuse rezultatele experimentării și selectării mediilor optime pentru inițierea și intensificarea procesului de calusogeneză și morfogeneză din embrionii imaturi de orz de primăvară, prelevați de la donori netratați, iradiați și infectați. Este demonstrat impactul VMDO și razelor gama solitar sau în complex asupra frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării, precum și a potențialului de regenerare, fertilității somaclonelor de orz, cu evidențierea puterii de influență a surselor de variație (virus, radiație gama, genotip și interacțiunea lor); apreciat efectul infecției virale și razelor gama, solitar și în asociere asupra indicilor citogenetici în celulele calusale de orz de primăvară în baza evaluării indicelui mitotic, cota celulelor cu aberații. Sunt prezentate rezultate privind evaluarea acțiunii virusului și razelor gama asupra indicilor biochimici, și anume polimorfismul peroxidazelor extrasă din explantele calusale și regeneranți.

Capitolul 4 „Evaluarea impactului virusului și radiației asupra variațiilor somaclonale la orzul de primăvară” include rezultatele evaluării rolului acțiunii asociate și separate a iradierii gama și infecției virale în inducerea variațiilor morfologice la somaclonele (SC₀-SC₂) de orz de primăvară, în baza analizei comparative a spectrului de variații morfologice și cotei de variații morfologice la regeneranți și descendenții acestora. Este expusă analiză evaluării influenței VMDO și radiației gama, solitar sau în comun asupra variabilității caracterelor biomorfologice la regeneranții (SC₀) și descendenții (SC₁-SC₃) de orz și stabilirii contribuției surselor de variație a genotipului, virusului, razelor gama și interacțiunii lor. Sunt prezentate rezultatele identificării genotipurilor cu însușiri agrobiologice nespecifice genotipurilor inițiale și evaluarea formelor de orz de primăvară (SC₂-SC₃), evidențiate din formele cu cele mai expresive variații agro-morfologice, aprecierii polimorfismului proteinelor de rezervă la formele de orz de primăvară (SC₂-SC₃), selectate din somaclonele cu însușiri agrobiologice valoroase obținute de la forme supuse acțiunii infecției virale și iradierii gama.

Capitolul 5 „Evaluarea acțiunii comune și separate a infecției virale (VMDO) și a razelor gama în inducerea variabilității *in vivo* și *in vitro* la orzul de primăvară” conține rezultatele privitor la analiza impactului virusului și radiației gama asupra caracterelor biomorfologice la orzul de primăvară pe parcursul a trei generații (M₀-M₂); evaluarea caracterelor biomorfologice la formele mutante de orz obținute de la donatori iradiați (250 Gy) și infectați cu virus (M₃-M₇); aprecierea gradului de ereditare și corelația caracterelor agro-morfologice la forma mutantă de orz cu spic ramificat obținută din somaclonele SC₁ iradiată cu raze gama (100 Gy).

Concluziile generale și Recomandările practice include rezultatele propriilor cercetări ce argumentează semnificația teoretică și valoarea practică a acestora.

Bibliografia include 305 surse din literatura de referință la tematica abordată, inclusiv cele mai importante lucrări științifice ale autorului.

Aprobarea rezultatelor științifice:

Rezultatele investigațiilor au fost prezentate și discutate la foruri științifice naționale și internaționale de specialitate: Simpozionul științific internațional „*Conservarea diversității plantelor*” (Chișinău, 7-9 octombrie, 2010); Congresul al IX-lea național cu participare internațional al Societății Științifice a Geneticienilor și Amelioratorilor din Republica Moldova (Chișinău, 21-22 octombrie, 2010); Conferința a VIII-a internațională a tinerilor cercetători din Moldova (Chișinău, 11-12 noiembrie, 2010); Conferința științifică în memoria academicianului A. Jacota „*Genetica și fiziologia rezistenței plantelor*” (Chișinău, 21 iunie, 2011); Simpozionul științific internațional „*Protecția plantelor – probleme și perspective*” (Chișinău, 30-31

octombrie, 2012); Conferința științifică internațională «125 лет со дня рождения Н.И. Вавилова», (Moscova, 10-13 iulie, 2012); Simpozionul al III-lea științific național cu participare internațională „*Biotehnologii avansate – realizări și perspective*” (Chișinău, 24-25 octombrie, 2013); Conferința a V-a științifică internațională „*Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor*” (Chișinău, 23-24 octombrie, 2014); Simpozionul științific internațional „*100 ani de la nașterea a distinsului savant și om de stat Mihail Sidorov*” (Chișinău, 30-31 octombrie, 2014); Congresul Geneticienilor și Amelioratorilor (Chișinău, 28 iunie - 1 iulie, 2015); Simpozionul al V-lea științific internațional „*Biotehnologii avansate – realizări și perspective*” (Chișinău, 21-22 octombrie, 2019); Conferința științifică națională cu participare internațională „*Realizări științifice în ameliorare și tehnologii inovative la culturile cerealiere în contextul schimbărilor climaterice*” (Pașcani, 4-5 septembrie, 2020); Congresul al XI-lea internațional al geneticienilor și amelioratorilor (Chișinău, 15-16 iunie, 2021); Conferința a VII-a științifică internațională „*Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor*” (Chișinău, 4-5 Octombrie, 2021); Simpozionul științific internațional al 38-lea „*Nicolae Simionescu*” (Timișoara, România, 4-6 noiembrie, 2021); Simpozionul al VI-lea științific internațional „*Advanced Biotehnologies - Achievements and Prospects*” (Chișinău, 3-4 octombrie, 2022).

Cercetările științifice expuse în teză au fost realizate în cadrul proiectelor de cercetare: ”Studiul variabilității genetice indusă de factori fizici, chimici și biologici *in vivo* și *in vitro*, evaluarea genetică și moleculară a caracterelor de productivitate, calitate și rezistență la condițiile nefavorabile ale mediului” (2006-2010); ”Biotehnologii avansate și mecanisme genetice și fiziologice de inducere a variabilității genotipice și formarea unui potențial genetic sporit de productivitate și rezistență al C3 și C4 plantelor” (2011-2014); „Principii biotehnologice de studiu al interacțiunii dintre plantele de cultură și agenții virali” (2015-2019); „Biotehnologii și procedee genetice de evaluare, conservare și valorificare a agrobiodiversității” (2020-2023).

Publicații la tema tezei. Rezultatele obținute sunt relatate în 22 lucrări științifice (inclusiv 10 fără coautori), 1 articol în revistă din bazele de date Web of Science și SCOPUS, 1 articol în revistă științifică din străinătate recunoscută, 2 articole în revistă din Registrul Național al revistelor de profil, 6 articole în culegeri științifice, 12 teze în culegeri științifice, 1 brevet de invenție.

1. CONCEPTE TEORETICE ȘI PRACTICE PRIVIND BAZELE GENETICE ALE AMELIORĂRII ȘI EXTINDERII VARIABILITĂȚII LA ORZ

1.1. Genetica și analiza dezvoltării și morfologiei la orz (*Hordeum vulgare* L.)

Studiile genetice ale dezvoltării și morfologiei la orz au la bază cercetarea mutațiilor morfologice și fiziologice naturali sau induși prin mutagenază, caracterizați printr-o morfologie, fiziologie și dezvoltare modificată. Formele mutante de orz sunt o sursă valoroasă pentru înțelegerea proceselor biologice complexe și fundamentale ale dezvoltării plantelor cu scopul exploatarea potențialului ameliorării mutaționale pentru îmbunătățirea culturilor [80, 258]. Astfel, la nivel mondial, au fost adunate multiple linii mutante de orz în colecția Stocurile Genetice ale Orzului (*Barley Genetic Stocks – BGS*) și concepută Baza Internațională pentru Genele și Stocurile Genetice ale Orzului (*Barley Genetic Stocks Database*), unde poate fi găsită informația despre formele mutante respective [119]. Cu scopul de a spori utilitatea și accesibilitatea mutațiilor morfologice și de dezvoltare, au fost create linii mutante de introgresiune *Bowman*, linii tetraploide sau cu substituție cromozomială, linii izogene apropiate (*NILs*) [91, 80, 258, 232]. Formele mutante sunt conservate în diferite bănci de gene și reprezintă resurse genetice pentru identificarea genelor și determinarea funcțiilor lor, înțelegerea interacțiunii și reglarea acestora, izolarea și validarea genelor implicate în dezvoltarea și morfologia orzului. Astfel, au fost izolate și descrise 754 gene responsabile de formarea caracterelor ce țin de arhitectura plantei de orz [89], printre care și cele implicate în dezvoltarea și morfologia spicului (*vrs, int, com etc.*), paiului, lăstarilor secundari, frunzelor (*uzu, ari, sdw etc.*) și rădăcinii (*fer, rhl, rhp etc.*) (Tabelul A 1.1). Cu toate acestea, analiza genetică detaliată și caracterizarea la nivel molecular au atins noi performanțe odată cu secvențierea completă a genomului de orz (5,1 Gbp) [176] și perfecționarea tehnologiilor omice. De asemenea este necesar de menționat despre importanța variației genetice naturale a caracterelor care a fost utilizată pentru cartarea locilor caracterelor cantitative (*Quantitative Trait Loci – QTL*) responsabili de variația continuă a trăsăturilor de importanță agronomică [265].

Unul dintre cele mai importante caractere supuse ameliorării în procesul de domesticire a orzului, ține de evoluția spicului și anume a *rahisului nefragil*, la care spiculețele fertile mature se desprind mai greu de la noduri. Analiza genetică a stabilit că 2 deleții în una din genele complementare strâns linkate, gena *Rahis fragil 1* (*Brittlerachis 1, Btr1*) sau gena *Rahis fragil 2* (*Brittlerachis2, Btr2*), sunt responsabile de transformarea spicului fragil în nefragil, prin controlul grosimii peretelui celular în zona de dezarticulare a nodului rahisului, prin mecanisme

moleculare care nu sunt pe deplin elucidate. Înlăturarea acestui dezavantaj ale spicului la soiurile de orz contribuie la mărirea cantității și calității boabelor recoltate [214, 258]. Este important de menționat un alt fenotip *rahis nefragil* este cauzat de o mutație punctiformă în gena *Btr1* [66]. De asemenea, a fost identificat un locus nou, *Treabilitatea 1* (*Treshability-1*, *thresh-1*) implicat în reglarea gradului de desprindere a boabelor de rahis [235].

Selecția formelor de orz cu rahisul nefragil, în procesul de domesticire, a susținut cultivarea orzului cu spiculețele laterale fertile și a contribuit la dezvoltarea soiurilor cu 6 rânduri de boabe per spic [297], care produc mai multe boabe comparativ cu cele cu 2 rânduri. Interesul pentru dezvoltarea soiurilor cu un număr mai mare de boabe a dus la *screening*-ul mutațional extins al orzului cu 2 rânduri de boabe per spic și a demonstrat că fertilitatea spiculețelor laterale (SL) este reglată de cel mult 11 gene [165,166].

Alelele recesive, cu pierderea funcției a 5 dintre aceste gene (*spic cu 6 rânduri*, *six-rowed spike 1-5*, *vrs1-5*) au fost identificate, caracterizate și descris rolul în convertirea în mod independent a spicului cu 2 rânduri în spic cu 6 rânduri, determinând fie fertilitatea parțială, fie completă a SL [94, 144, 297].

Toate genele *Vrs*, cu excepția *Vrs1* au gene omoloage sau ortoloage în alte plante de cultură precum porumbul, grâul, orezul etc. Toate genele *Vrs* reprimă fertilitatea SL în stadiul de inițiere a carpelei și aristelor. Astfel, expresia înaltă a genelor *Vrs1*, *Vrs4* a fost detectată predominant în primordiile SL în stadiul timpuriu de dezvoltare, iar exprimarea genei *Vrs2* în regiunea centrală și bazală a spicului, în primordiile florilor și în mugurii lăstarului [94, 288, 297]. Manifestarea genei *Vrs3* a fost evidențiată în toate țesuturile spicului în stadiul timpuriu de dezvoltare, în glumele SL, în partea centrală și distală a rahisului în stadiile ulterioare [56]. Recent, a fost determinat că expresia genei *Vrs5* este înaltă în stadiile primordiilor staminelor și a lemei, și cea mai puternică în stadiul primordiilor aristelor [73].

De asemenea, în rezultatul secvențierii genelor *Vrs1-5* au fost stabilite funcțiile genelor respective în stadiile târzii de dezvoltare ale spicului. Aceste gene nu doar determină tipul spicului după numărul de rânduri de boabe per spic, dar reglează numărul componentelor spicului și pot fi utilizate pentru a mări și mai mult productivitatea de boabe la orz [240]. Pe lângă genele menționate anterior, dezvoltarea și fertilitatea SL este reglată și de alte gene, care determină reducerea puternică a organelor SL până la nivel rudimentar [144, 289] (Tabelul A 1.1).

Dovezile recente sugerează că genele implicate în dezvoltarea SL pot influența dezvoltarea boabelor, trăsăturile de pre-recoltare, dispersia și germinarea boabelor. Astfel, reducerea extremă a SL la mutații *deficiens* a mărit dimensiunea boabelor pentru spiculețul central (SC),

iar introgresiunea alelei *vrs3* în fondul genetic *vrs4* a cauzat pierderea identității spiculețului, și a determinat uniformitatea mărimii boabelor din SL, în raport cu SC. Introducerea acestei alele în fondul genetic *vrs5* a dus la micșorarea numărului de lăstari secundari și mărirea greutateii boabelor [55, 94, 229]. Evaluarea detaliată a genelor ce reglează dezvoltarea SL și rezultatele obținute au contribuit la analiza arhitecturii ramificate a spicului controlată de genele *spic ramificat cu multe rânduri* (*poly-row-and-branched spike, prbs*), *spic compus* (*Compositum, Com2, Com1*). Această genă determină formarea meristemelor în partea de mijloc a spicului cu șase rânduri de spiculețe fertile [238]. În rezultatul cercetării rețelei moleculare de interacțiune la nivel de proteină-proteină în care este implicată gena *Vrs5*, s-a stabilit că această genă interacționează cu genele *Com1* și *Int-h* [75]. În plus, s-a determinat că cele mai proeminente schimbări ale expresiei genelor ce codifică identitatea meristemului, precum gena *Com1*, au avut loc în spicele ramificate *Hvmads1* în stadiul Z 30-31 (spic la 1 cm), la temperatura de 25°C, ceea ce sugerează implicarea acestor gene în termoreglarea morfogenezei spicului de orz și că gradul de expresie al caracterului spic ramificat este dependent de temperatura mediului [156]. Este necesar de menționat că, recent a fost descoperită o nouă genă recesivă *spic ramificat Yunnan* (*Yunnan branched-spike, Ynbs-1*) responsabilă pentru ramificarea spicului golaș cu 6 rânduri de boabe. În aceeași regiune, au fost identificate mai multe gene candidate pentru generarea spicului cu spiculețe supranumerate, sporirea numărului de spiculețe, rata de legare a boabelor [270].

Datele cu privire la evaluarea genelor ce reglează identitatea meristemei spiculețelor în spicul de orz sunt importante pentru elucidarea mecanismelor genetice ce stau la baza arhitecturii spicului, identificarea genelor candidate implicate în reglarea identității spiculețelor și pot fi utilizate pentru dezvoltarea fenotipurilor de orz cu spice ramificate [94, 270].

De asemenea, prezența aristelor, extensii apicale ale lemei spiculețelor, contribuie direct la sporirea mărimii și greutateii boabelor datorită activității lor fotosintetice. Unul din principalele obiective ale ameliorării genotipurilor de orz furajer este crearea de soiuri nearistate sau cu un anumit tip de ariste, fără a reduce productivitatea boabelor. Până în prezent, dezvoltarea aristelor a fost bine analizată genetic și a fost creată o colecție mare de forme mutante care sunt grupate în dependență de lungimea și morfologia aristelor. Deși au fost cartografiate și descrise multe gene mutante implicate în dezvoltarea aristelor doar trei gene au fost analizate aprofundat, identificate molecular: *Kap1*, *vrs1* și *Lks2* (Tabelul A 1.1). Gena mutantă *Kap1* determină caracterul aristă în formă de glugă atașată de lemă și poate conține o inflorescență suplimentară cu polaritate inversă. Se consideră că formele cu ariste scurte prezintă un avantaj adaptiv în condiții umede. Analiza interacțiunii dintre gena *Kap1* și *lks2* a stabilit că gena *lks2* este recesivă

și epistatică față de *Kap1*. Efectele genetice ale acestor gene asupra diversității aristelor sunt multiplexate și includ efectul complementar, cumulativ, duplicat, epistatic recesiv, epistatic dominant și inhibitor și modifică raportul de segregare mendelian. Interacțiunile genice excesive creează o sarcină provocatoare pentru cartografierea genetică și impune dezvoltarea strategiilor specifice pentru cartografierea genelor cu efecte interactive. Înțelegerea mai aprofundată a interacțiunilor genelor va facilita descifrarea mecanismelor genetice care stau la baza diversității și dezvoltării aristelor la orz și va permite crearea de soiuri noi de orz cu productivitate și adaptabilitate îmbunătățite în diferite condiții ale mediului [124, 125].

Odată cu asocierea reducerii densității spicului, caracter selectat în timpul domesticirii orzului, cu productivitatea înaltă a boabelor a fost inițiată analiza genetică aprofundată a genelor respective și s-a demonstrat că genele majore care reglează lungimea internodurilor rahisului, *spic dens* (*dense spike*, *dsp*), *Zeocriton1* (*Zeo1-3*) determină expresia caracterului *spic compact*. Mutații non-sinonime și sinonime au fost depistate la liniile *Erectoides*, *dense spike.av*, *Zeo1-3*, *Pyramidatum* (*Pyr1-3*). S-a determinat că aceste gene cauzează efecte pleiotrope, inclusiv cleistogamie și schimbări dependente de haplotip, precum reducerea înălțimii plantelor de orz (Tabelul A 1.1) [114]. Recent, a fost demonstrată conexiunea între două gene separate *Ert-c* și *Ert-d*, cu efect aditiv asupra arhitecturii spicului, ceea ce sugerează că sunt implicate în diferite căi moleculare de acțiune sau sunt active în diferite perioade ale dezvoltării spicului. Genele respective determină expresia caracterelor spic compact, pai rigid și scurt. Aceste date ar putea fi utilizate pentru suplinirea cunoștințelor despre interacțiunea dintre gene și funcția genelor, combinate cu seturi mari de marker pentru proiectarea detaliată a arhitecturii spicului [162, 220].

Este necesar de relatat că, selecția caracterului boabe golașe determinat de deleția în locusul *nud* a contribuit la utilizarea pe larg a orzului în alimentație. De asemenea, datorită nivelului ridicat de proteine și β -glucani (reduce colesterolul în sânge, obezitatea viscerală) este considerat un aliment dietetic și înalt nutritiv [35]. Gena funcțională *Nud* controlează formarea unui strat de cimentare între pericarp și lemă, precum și între pericarp și palee. Expresia acestei gene are loc în perioada de dezvoltare a bobului în tegument. Mecanismul de formare a stratului de cimentare nu este pe deplin înțeles [96, 291].

Prin combinarea mutațiilor semi-pitici cu arhitectura plantelor modificată în mod specific și cu ajutorul agrotehnologiei îmbunătățite a fost majorată spectaculos productivitatea orzului și grâului, determinând succesul revoluției verzi în secolul XX [112]. Până în prezent, utilizarea mutațiilor respectivi în procesul de ameliorare este crucială pentru dezvoltarea soiurilor moderne. Caracterele plantelor de orz, talia redusă și pai rezistent la cădere sunt controlate de peste 30 de tipuri de gene mutante identificate, dintre care cele mai importante

sunt: *semiwarf 1* (*sdw 1*), *uzu dwarf* (*uzu1*, pai scurt), *breviaristatum-e* (*ari-e*), *Slender* (*Sln1*, arhitectura de plantă semipitică) care modifică căile de biosinteză și transducție a semnalului giberelinei și brasinosteroidilor [57, 278]. La nivel de ADN au fost identificate doar genele *uzu1* și *sdw1* [132]. Gena *Sdw1* este asociată cu mai multe caractere agronomice critice precum perioada de înflorire, productivitatea și calitatea boabelor, numărul de frați fertili, care variază în dependență de condițiile mediului și fondul genetic [149, 155, 257]. Pe când, mutantul semipitic *uzu1* este cauzat de mutația missense a unei singure substituții nucleotidice în gena care reduce sensibilitatea la brasinosteroidi [63]. Recent, s-a demonstrat că mutații semipitice ce posedă alela *uzu1.a* (sensibilă la temperatură) prezintă toleranță sporită la secetă, independentă de fondul genetic în care este introgresată gena respectivă și poate fi considerată o alternativă în viitoarele programe de ameliorare [76, 105]. Mutații pitice dominante *Sln1* de obicei sunt nesensibile la aplicarea giberelinei și sunt utilizați pentru elucidarea mecanismelor de semnalizare a giberelinei în care este implicată proteina SLN [57]. Similar, mutantul *ari-e* prezintă nereceptivitate față de giberelină și are efect pleiotropic pozitiv asupra mărimii și productivității boabelor, perioada de înflorire, prezentând toleranță la salinitate [149, 272]. În plus, studiile genetice recente ale interacțiunii genelor *sdw1* și *ari-e* și impactul combinațiilor asupra unor caractere agronomice valoroase, au stabilit efectul aditiv al acestor gene pentru talia plantei, care s-a redus cu până la 27 cm și stimularea productivității boabelor cu 20% (*sdw1*) și 28% (*sdw1* x *ari-e*) [71]. În rezultatul unei revizuirii ample a genelor semi-piticismului ce reduc semnalul giberelinei, Cheng J. et al. (2022) sugerează analiza funcțională, editarea și identificarea de noi alele funcționale implicate în semnalizarea giberelinei cu ajutorul noilor tehnologii de editare a genomului într-un mod eficient și rapid [59].

Succesul utilizării genelor semipitice în culturile cerealiere este determinată în mare parte de mărirea numărului de frați fertili per plantă. Înfrățirea este o trăsătură foarte complexă și dinamică ce determină arhitectura plantei, strâns asociată cu potențialul productivității boabelor și adaptarea la condițiile mediului, reglată prin sinergia factorilor endogeni (genetici, fiziologici, moleculari) și exogeni (de mediu) [126, 224]. Dezvoltarea fraților la orz a fost caracterizată la mai mulți mutați grupați în 4 clase: I) fără frați (*cul2*); II) cu puțini frați (*lnt1*, *als1*, *cul4*, *eli-a*); III) cu un număr moderat de frați (*int-b*, *uzu1*) și IV) cu un număr mai mare de frați (*hnt1*, *gra-a*, *sdw1*, *mnd1/6*, *vrs 5/int-c*, *Grassy*, *HvD14*) (Tabelul A 1.1) [224]. Genele implicate în determinarea numărului de frați au efecte pleiotrope, epistatice asupra mai multor caractere vegetative. Astfel, până în prezent au fost izolate și identificate doar 10 gene (inclusiv genele *Uzu1*, *Sdw1*, *Vrs1/5* relatate anterior). Gena *Lnt1* are un rol crucial în dezvoltarea și creșterea slabă a mugurilor axilari și formarea fraților secundari [67]. Gena *Cul4* afectează mai multe

aspecte ale dezvoltării lăstarilor secundari, numărul de meristeme axilare și formarea mugurilor secundari pe lăstarii primari, precum și controlul dezvoltării ligulei [256]. *Eli-a* reglează numărul fraților, dezvoltarea ligulei, tecii frunzei [201]. *Mnd4/6* reglează numărul de lăstari secundari, internoduri, dezvoltarea și numărul frunzelor, înălțimea plantei [174]. *Hnt1* controlează dezvoltarea fraților, lățimea frunzelor. Deleția de 2 pb al acestei gene este responsabilă de fenotipul mutant care se caracterizează prin numărul mare de frați, frunze înguste și înălțimea redusă a plantei [285]. *HvDI4* reprezintă ramificarea lăstarilor, de asemenea reduce talia plantei. Iar gena *Ops1* reglează numărul lăstarilor și arhitectura spiculețelor [80]. Pentru genele *Ops1*, *HvDI4*, *Lnt1*, *Uzu1*, *Sdw1*, *Vrs5* au fost determinate genele ortoloage în plantele de cultură precum orezul și porumbul.

Odată cu necesitatea creării fenotipurilor de orz cu un număr echilibrat de frați, prezintă interes major evaluarea minuțioasă a genelor mutante implicate atât în mărirea, cât și în micșorarea numărului de frați, precum și interacțiunea dintre genele respective și alte gene ce determină caractere morfologice și agronomice importante. Astfel, în rezultatul interacțiunii mutațiilor de orz cu înfrățire joasă sau fără înfrățire (*als* sau *cul2*) cu mutații cu înfrățire înaltă (*gra-a* sau *mnd1*), toate plantele hibride au produs fenotipul cu număr scăzut de frați sau fără frați, ceea ce sugerează despre comportamentul epistatic al genelor respective asupra celor ce determină numărul mare de frați [200, 285]. De asemenea, combinarea mutantului *eli-a* (înfrățire joasă) cu mutantul *cul2* (fără frați) a dus la formarea hibridilor ce aveau cel puțin un frate, indicând despre rolul de supresor al genei *eli-a* [201].

Recent, a fost confirmat faptul că genele ce controlează tipul spicului după numărul de rând (*Vrs*) și sensibilitatea la fotoperioadă (*Ppd-H1*, *Vrn-H1/H3*) domină controlul genetic al numărului de frați și influențează în mod constant acest caracter în diferite medii [106]. Astfel, plantele cu 2 rânduri de boabe și nesensibile la fotoperioadă (*ppd-H1*) au dezvoltat mai mulți frați fertili decât plantele sensibile și cele cu 6 rânduri de boabe.

Analiza datelor despre genele înfrățirii, relatate anterior, indică asupra necesității investigării ulterioare în scopul identificării genelor candidate pentru mutații valoroși și validarea funcțională a acestor gene, pentru explorarea mai multor alele ce pot fi implicate în crearea unui număr optim de frați în condițiile variabile ale mediului pentru diferite utilizări finale [236, 224].

Dezvoltarea frunzelor stă la baza creșterii și productivității plantelor cerealiere și a fost o țintă majoră în procesul domesticirii și îmbunătățirii culturilor. Înțelegerea bazei genetice ce determină arhitectura și caracteristicile frunzelor precum: dimensiunea, lungimea, lățimea, grosimea și disponerea lor, poate contribui la mărirea eficienței fotosintetice, adaptării la

condițiile nefavorabile ale mediului, performanței, biomasei plantei și a productivității boabelor. Totuși, au fost identificate foarte puține gene ce reglează dezvoltarea și arhitectura frunzelor la orz [34, 236]. Printre, locii mutații bine caracterizați și implicați direct în determinarea mărimii frunzei la orz sunt: *angustifolium* și *narrow leafed dwarf1* (*fol* și *nld1*, frunze înguste), *broad leaf1* (*blf1*, frunze late), *bucate3* (*cur3*, frunze lungi) și *dwarf1 cret1* (*cud1*, frunze scurte) [80]. Izolarea și identificarea genelor ce codifică mărimea frunzei se complică din cauza efectelor pleiotropice ale altor gene, precum cele ce determină arhitectura lăstarului și spicului. În același timp și genele ce reglează mărimea frunzei acționează pleiotropic asupra organelor inflorescenței asemănătoare cu frunza (paleea, lema, aristele). Dintre aceste gene doar două, *Nld1* și *Blf1*, au fost caracterizate din punct de vedere funcțional, oferind informații despre reglarea moleculară a dimensiunii frunzei la orz (Tabelul A 1.1) [236]. Fenotipul ce conține gena mutantă *nld1* se caracterizează prin limb foliar îngust și înălțime redusă a plantei, lungimea nefiind afectată [286]. Totodată a fost confirmat efectul genei *Ppd-H1* asupra dimensiunii limbului foliar la soiurile orzului de primăvară și s-au identificat locii trăsăturilor cantitative suplimentare (QTL) asociate cu potențialele gene candidate [30]. Gena *VRS1* are impact asupra dimensiunii frunzelor, în diferite stadii de dezvoltare, orzul cu șase rânduri de boabe are o suprafață a frunzelor mai mare comparativ cu cea a frunzelor plantelor care au spic cu două rânduri de spiculețe [260].

Deoarece genele ce determină numărul de spiculețe în spic sunt, de asemenea, cunoscute că afectează înfrățirea [158], înțelegerea efectelor pleiotropice ale acestor gene asupra numărului și dimensiunii frunzei este o premisă pentru a îmbunătăți productivitatea plantelor. Pe lângă dimensiunea limbului foliar, un factor important pentru eficiența fotosintetică este orientarea și unghiul frunzei, determinate de genele ce reglează biosinteza brasinosteroidilor, precum genele semipiticismului (*uzu*, *ari*, *brh*, *ert*) [76, 236].

Un alt caracter intens studiat este grosimea frunzei (GF), care are relații pozitive puternice cu capacitatea fotosintetică [253], conținutul relativ de apă [23], adaptarea la condiții aride ale mediului [212] și potențialul de productivitate [161]. Cu toate acestea, studii genetice bazate pe măsurarea directă a GF nu au fost relatate nici la un genotip de cereale până în prezent. De curând, au fost descoperiți 4 loci QTLcu expresie diferențiată care controlează GF prin măsurarea directă a acestei trăsături la orz. De asemenea a fost stabilit că GF corelează puternic cu mărimea și suprafața frunzei, cu numărul de frați fertili, tipul spicului după numărul de rânduri, numărul de boabe per spic și perioada înspicării. Aceste rezultate demonstrează importanța acestui caracter în ameliorarea productivității boabelor la cereale și creează bazele analizei funcționale ale genelor ce reglează GF la orz [296]. În plus, este importantă evaluarea

bazei genetice ale organului de la limita limbului foliar precum ligula, care ține teaca frunzei strâns închisă, opus auriculelor și astfel previne pătrunderea apei, agenților patogeni și contribuie la formarea unghiului și orientării frunzei [236]. La orz au fost relatate doar trei mutații ce afectează dezvoltarea ligulei: *liguleless*, (*li*, frunze fără ligulă), *cul4* și *eli-a* (genele ce reglează numărul de frați, menționate anterior) [228, 229, 254, 201]. Recent a fost identificată o nouă genă candidat care determină fenotipul mutant pitic cu frunzele lipsite de ligule *dwarf liguleless (dl)* care reprezintă o nouă resursă genetică în studiul arhitecturii lăstarului la orz [39].

Crearea soiurilor de orz cu un sistem radicular dezvoltat este un obiectiv important în asigurarea eficienței potențialului genotipului la condițiile instabile ale mediului, în special seceta edafică. Arhitectura sistemului radicular a primit o atenție deosebită, deoarece determină forma tridimensională a rădăcinii și, astfel a volumului solului care poate fi explorat pentru apă și nutrienți [100, 266]. Dezvoltarea alterată a sistemului radicular a fost detectată la 72 linii mutante de orz, care au fost grupate în diferite clase: rădăcini scurte, foarte scurte, scurte și subțiri, scurte și ondulate, rădăcini ondulate, cu perișori scurți, cu perișori neregulați, fără perișori, gravitropism intensificat (Tabelul A 1.1). Ulterior, au fost identificați 7 QTL ce stau la baza trăsăturilor rădăcinii la orz, 2 QTL ce controlează unghiul (*RAQ1-2*) și 5 QTL pentru numărul (*RNQ1-5*) rădăcinilor seminale cartografiate pe cromozomii 1H, 3H, 4H, 5H și 6H. Trei din acești QTL (*RAQ2*, *RNQ3*, *RNQ4*) sunt colocalizați cu regiunile responsabile de adaptarea la secetă a radiclei. Locusul *RNQ3* poziționat pe 4H este colocalizat cu locusul responsabil de carbohidrații solubili în apă depozitați în tulpini și tecile frunzei, iar locii *RAQ2/RNQ4* lincați pe 5H se află în apropierea regiunii ce influențează conținutul de apă în frunze. Astfel, a fost evidențiată colocalizarea trăsăturilor supratere și subterane (unghiul și numărul rădăcinii seminale) legate de adaptarea la secetă a plantelor de orz [226]. Mai mulți loci ce determină caracterile agronomice precum înălțimea plantei, conținutul de proteine brute, amidon, perioada de înflorire, numărul fraților, suprafața frunzei precum și masa a 1000 boabe au fost colocalizate cu trăsăturile rădăcinii. Aceste descoperiri oferă dovezi puternice pentru asocierea genetică a caracterelor rădăcinilor seminale și celor agronomice. În plus, însușirile ce controlează adâncimea sistemului radicular au prezentat cele mai înalte valori de heritabilitate și s-au suprapus cu QTL-uri precum masa a 1000 boabe (MMB) [134]. De asemenea, recent au fost identificate două gene de reglare a unghiului rădăcinii la orz numite *ENHANCED GRAVITROPISM1-2 (EGT1-2)* a căror pierdere de funcție intensifică gravitropismul radicular. Mutații *egt1-2* prezintă un unghi mai abrupt al rădăcinilor seminale și laterale. Aceste gene pot fi ținte promițătoare pentru a optimiza arhitectura sistemului radicular și a crea soiuri de cereale potrivite pentru diferite condiții de stres abiotic [92, 143].

Generalizând cele expuse constatăm că mutații morfologice și de dezvoltare a culturilor cerealiere, reprezintă o bază genetică esențială pentru studiul mecanismelor genetice și moleculare de reglare a formării caracterelor de interes. Elucidarea mecanismelor ce controlează dezvoltarea, morfologia, variația caracterelor în diferite condiții, precum și a conexiunilor genetice dintre aceste caractere și alte trăsături agronomice relevante oferă posibilitatea de a modifica arhitectura plantelor de orz în scopul măririi productivității, adaptabilității și rezistenței.

1.2. Variații genetice la plantele de orz prin tehnici de cultură *in vitro*

Variabilitatea generată prin cultura celulară și tisulară (VICT), poate constitui o sursă nouă, suplimentară de germoplasme dorite, disponibile pentru programele de ameliorare a culturilor cerealiere, atâta timp cât este stabilă și se transmite la descendenți [7, 48, 100]. În prezent, este cunoscut faptul că variabilitatea plantelor regenerante *in vitro*, poate fi indusă atât *de novo* ca rezultat al condițiilor de mediu al culturii tisulare, cât și din variația preexistentă în explant, predominante fiind totuși condițiile culturii *in vitro*. De asemenea, regenerarea plantelor prin cultura *in vitro* este un proces complicat care ține de reprogramarea celulelor diferențiate ale explantului în condiții stresogene, care modifică și afectează funcționarea celulei la mai multe niveluri – morfologic, fiziologic, biochimic și în final, generează schimbări genetice și epigenetice la nivel molecular, care sunt/sau nu exprimate fenotipic și pot duce la îmbunătățirea sau degradarea valorii regeneranților și descendenților [44, 205]. Este necesar de evidențiat că *variațiile genetice* la regeneranți se manifestă prin modificări ale secvenței ADN-ului (schimbarea 1pb, tranziția C-T, erori în timpul replicării sau reparării ADN, deteriorări ADN produse de specii reactive de oxigen, (SRO), raze ultraviolete (UV) etc), amplificarea genelor, transpoziții și schimbări cromozomiale (perturbarea ploidiei, arhitecturii cromozomiale, precum duplicări, translocații, deleții și inversii ale segmentelor cromozomiale). În plus, unii autori [137] au remarcat că la regeneranții derivați din cultura tisulară *in vitro* frecvența modificărilor în arhitectura cromozomilor este mai mare comparativ cu aberațiile numerice cromozomiale [44]. Privitor la *variațiile epigenetice*, acestea au fost raportate în timpul diferențierii și dediferențierii celulare în sistemele de regenerare a plantelor, fiind însoțite de schimbarea organizării cromatinei, modificarea gradului de metilare a ADN-ului, activarea și migrarea elementelor transpozabile (ET). Astfel, s-a determinat că formarea calusului în condițiile culturii de țesuturi este supusă controlului epigenetic [155] și în timpul formării acestuia a fost constatată activarea hipometilării secvențelor nucleotidice ale ADN-ului, în pozițiile simetrice (CG, CHG) și asimetrice (CHH; unde H este A, C sau T) [290]. De asemenea este important de

indicat că în unele cazuri modificările în metilarea ADN-ului au fost transmise regeneranților și descendenților acestora în dependență de genotipul plantei [108, 293]. În plus, la regeneranții plantelor cerealiere (secară, orz, triticales, grâu, orez, porumb) s-a atestat coexistența schimbărilor genetice și epigenetice generate prin cultura *in vitro* [40, 43, 44, 159, 169, 271, 289]. Prin urmare, în prezent, VICT este un fenomen bine stabilit al oricărei schimbări care afectează genotipul sau fenotipul plantei în timpul regenerării *in vitro* și dacă modificările sunt moștenite stabil prin ciclul generativ, acestea, sunt definite ca *variație somaclonală* (VS) deși termenii de VITC și VS, deseori sunt utilizați drept sinonime [43, 169, 205]. În același timp, este esențial de remarcat că noțiunea de VS a fost introdusă de Larkin și Scowcroft (1981), și identificată ca sursă potențială de generare a variabilității în scopul ameliorării culturilor. Ulterior, în dependență de tipul țesutului și celulelor din care provine variația printre regeneranți, VS a fost clasificată în *gametoclonală* (din celule gametice – ovule, microspori), *androclonală* (stamine, antere, filament, polen), *ginoclonală* (carpelă, stigmă, stil, ovar, ovule), *protoclonală* (protoplaști) și *caliclonală* (calus) (Figura 1.1) [51, 130, 154, 276]. În sens larg, VS cuprinde schimbările la nivel de cultură celulară care a fost utilizată pentru selectarea liniilor celulare vegetale tolerante sau rezistente la salinitate, metale grele, boli, erbicide, etc. [45].

Luând în considerare obiectivele tezei de doctorat, o atenție specială a fost acordată studiului privind variația caliclonală la regeneranții de culturi cereale, în particular, de orz. Printre primele date despre expresarea VS și caliclonală la regeneranții de orz se referă comunicările expuse de Orton (1980). În rezultatul cercetărilor sale au fost evidențiate schimbări genetice (rearanjamente cromozomiale, poliploidii, aneuploidii) în cultura celulară a regeneranților de *Hordeum vulgare* L., *H. jubatum* L. și hibrizii lor interspecifici [206].

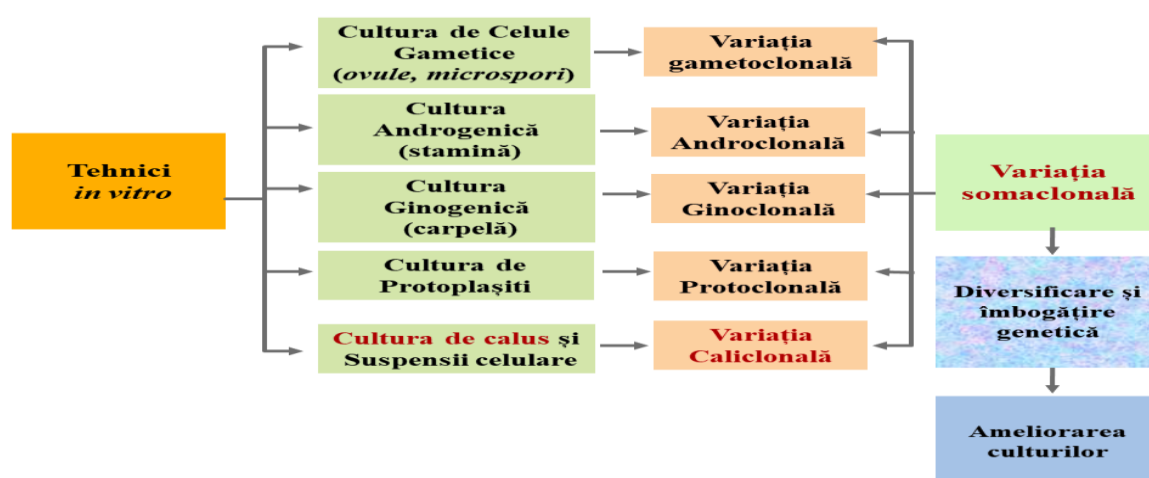


Fig.1.1. Tipuri de variație somaclonală prin tehnici *in vitro*
(după [274] cu modificări).

Ulterior, a fost demonstrată prezența variației genetice la somaclonele (SC₂-233-4) de *H. spontaneum* L., la nivel molecular, și anume – deleția a două fragmente *spacer* intergenice ale moleculei ADN_r și variații ale spectrului polipeptidic al hordeinelor B și C, deși nu au fost observate diferențe fenotipice evidente. Aceste variații pot fi rezultatul pierderii unui fragment cromozomial și, respectiv, modificării organizării genelor ce codifică hordeinele. Este necesar de menționat că variații ale ADN_{mt} nu au fost atestate la regeneranții și descendenții acestora [54]. Mai târziu, alți autori au relatat despre schimbări în ADN_{mt} la regeneranții R₃ de *H. vulgare* L., s. Ruen și s. Jubiley, precum și polimorfismul moleculei ADN-ului și al hordeinelor B, C. De asemenea, s-au evidențiat variația caracterelor agromorfologice și au fost selectate linii de orz timpurii, cu talie înaltă sau joasă, cu productivitate sporită a boabelor [37]. Rezultate similare, au fost obținute la regeneranții R₀₋₇ ai diferitelor genotipuri și soiuri de orz. În plus, la unele dintre aceste soiuri s-au evidențiat mutații ale ADN-ului cloroplastidic, schimbări epigenetice și variații genetice ale unor caractere agromorfologice valoroase. Totodată, este important de remarcat că prin variația caliclonală au fost obținute diferite linii de orz tolerante și rezistente la diferiți funghi și erbicide. Cu toate acestea, unicul soi de orz de primăvară înregistrat în Canada, generat prin VS (caliclonală) este s. *AC Malone* (orz alimentar, spic cu 6 rânduri), care a fost selectat din 3 linii (s. Leger) înalt productive și rezistente la făinare [157]. Această realizare demonstrează posibilitatea de a obține prin variația caliclonală la orz soiuri înalt productive, rezistente la boli. Totalizând cele expuse în ceea ce privește VICT la orz, putem afirma că deși în prezent sunt puține linii și soiuri noi cu caractere agronomice importante produse prin exploatarea VS, totuși VS reprezintă o sursă majoră de variabilitate genetică și epigenetică la plantele cerealiere, fapt demonstrat prin realizarea unui număr mare de forme și soiuri la grâu și orez în baza acestei tehnici [88]. În plus, cercetarea minuțioasă la nivel molecular a mecanismelor genetice și epigenetice desfășurate la regeneranții de orz [43, 187, 203, 204, 205], precum și interacțiunea dintre procesele moleculare și biochimice implicate în generarea VS, vor facilita înțelegerea acestui fenomen complex și funcționării celulei în condiții de cultură *in vitro*. Aceasta va permite identificarea genelor asociate cu caractere unice ale somaclonelor, va spori manipularea mai eficientă a acestei surse de variabilitate și va eficientiza utilizarea ei în procesul de ameliorare a culturilor agricole. De asemenea a fost demonstrat că VS combinată cu alte surse de variație genetică precum factorii mutageni chimici sau fizici [190] contribuie la creșterea frecvenței mutațiilor la plantele cerealiere, prin urmare și la orz.

1.3. Variabilitatea genetică indusă la orz prin mutagenză fizică și chimică

Utilizarea mutagenzei artificiale pentru lărgirea variabilității genetice existente și inducerea unor variații ereditare noi la orz a fost inițiată de către geneticienii suedezi Hermann Nilsson-Ehle și Eke Gustafsson (1928), prin iradierea soiului *Gull* cu raze X și UV.

Surse importante ale variațiilor genetice în orice organism, inclusiv la plante sunt recombinările și mutațiile. În rezultatul tratamentului cu razele X și UV a semințelor de orz au fost evidențiate primele aberații cromozomiale (fragmente, fuziuni și translocații), mutații clorofilene și ulterior mutații viabili *Erectoides*.

Mutațiile clorofilene sunt cele mai obișnuite modificări induse de diferite tipuri de radiații la orz și primii indicatori ai eficienței rearajamentelor genetice. Astfel, a fost obținută o gamă largă de mutații clorofilene care conform Lundqvist U. (1992), au fost clasificate în 7 categorii (Tabelul A 1.2) [167].

Primii mutații viabili *Erectoides* se caracterizau prin spice dense, compacte și erecte, cu paiul mai scurt și gros, morfologic se asemănau cu plantele de orz variația *Erectum*, care se distingeau ușor de spicele normale ale soiului inițial *Gull*, ce aparține variației *Nutans*. Pe lângă acești mutații a fost posibilă izolarea altor mutații morfologice și fiziologice considerați foarte valoroși: înalt productivi, cu paiul rigid, paiul lung, maturitate precoce, capacitate de înfrățire, schimbări în spic, boabe și ariste, schimbări în pigmentare etc.

Ulterior, experimentele cu utilizarea razelor X și UV au fost extinse prin aplicarea altor tipuri de mutageni fizici, cum sunt: razele gama (acute și cronice, produse de izotopii ^{60}Co și ^{137}Cs), neutronii (rapizi și termici), electronii, protonii, razele- α din radon, razele- β din P^{32} și S^{35} , fasciculi de ioni și în final – folosirea mutagenilor chimici: iperita, agenții oxidanți și alchil, epoxide și epimine, purine, sulfații organici și sulfonații, compușii nitrați, derivații purinelor și acridinelor, azida de sodiu și mulți alți agenți mutageni. În rezultatul utilizării mutagenilor fizici și chimici menționați anterior, a fost adunată o colecție mare de mutații morfologice și fiziologice (aproximativ 12 000 de diferite alele mutante doar din programul de cercetare a mutațiilor din Suedia), cu o gamă foarte largă de variații. Toate formele mutante ale orzului au fost incorporate în *Nordic Genetic Resource Center (NordGen) Sweden*, majoritatea fiind analizate genetic și agronomic [168].

Mutații orzului sunt clasificați utilizând un sistem de clase ierarhice. Lundqvist U. (2014) a enumerat 5 clase principale și 12 subclase conform diferitelor caractere: 1) morfologia spicului și spiculețelor; 2) lungimea și formarea aristelor; 3) perioada de maturitate; 4) compoziția ceroasă epiculară; 5) limbul foliar; 6) lungimea și compoziția paiului; 7) formarea și dezvoltarea bobului; 8) arealul de creștere; 9) pigmentare; 10) intensitatea clorofilei; 11)

mutanți dubli *intermedium*; 12) rezistență la făinare cu 95 tipuri de diferiți mutanți (Tabelul A 1.3) [168]. Din grupele mutante obținute au fost selectate formele cu caractere ce prezintă interes agronomic (precocitate, rigiditatea paiului, productivitate înaltă, semipiticism, conținutul de proteine și rezistența la stresul biotic și abiotic etc.) și incluse în programele de ameliorare a soiurilor de orz.

În cadrul programelor de ameliorare din întreaga lume (31 țări), prin mutageneza directă și indirectă au fost realizate oficial 307 soiuri mutante de orz (Baza de date a soiurilor mutante AIEA/FAO) [<http://mvd.iaea.org>], care au favorizat dezvoltarea agriculturii, securității alimentare și nutritive la nivel mondial.

Prin mutageneză directă, ca rezultat al utilizării diferiților agenți mutageni fizici și chimici, au fost obținute 60 varietăți de orz. Tratatamentul semințelor de orz cu mutagenii chimici: azidul de sodiu (NaN_3), etilnitrosoureea (NEU, ENU), metilnitrosoureea (NMU, MNU), etilmetansulfonatul (EMS), dietilsulfatul (dES) etilenoxidul (EO), etilenimina (EI), dimetilsulfoxidul (DMSO), oxidul de berilium (BEO), bromodeoxiuridin (BdrU), în diferite concentrații (0,038-1,5%) și timpi de expunere (3,5; 12; 18 ore) a condus la obținerea a 21 soiuri mutante de orz. Prin aplicarea mutagenilor fizici, diferite tipuri de radiație ionizantă [razele-X (7,35-200 Gy), razele- γ (10-400 Gy), neutronii rapizi și termici], au fost realizate 32 soiuri de orz. Prin urmare, peste 60% de varietăți de orz înregistrate în stocul genetic al bazei de date a soiurilor mutante AIEA/FAO, au fost obținute prin folosire directă a mutagenilor fizici respectivi.

În timp ce mutagenii chimici sunt utilizați cu precădere pentru inducerea mutațiilor punctiforme, mutagenii fizici induc leziuni severe, așa ca rupturi sau rearanjamente cromozomiale. După cum a subliniat Mba (2013), este de remarcă că frecvența și tipul mutațiilor sunt rezultatele directe ale dozei și duratei de expoziție sau administrării mutagenului decât a tipului lor [178]. În final, alegerea mutagenului este bazată mai des pe circumstanțele particulare ale cercetătorului, așa cum sunt siguranța și facilitatea utilizării, disponibilitatea mutagenilor și țesutului potrivit, eficacitatea în inducerea anumitor alterări genetice, costul și infrastructura disponibilă [202].

Mutagenii chimici, fiind în general cancerigeni, solicită măsuri suplimentare de îngrijire pentru protecția sănătății în timpul tratamentelor. Relativ, riscurile pentru sănătate generate de mutageni fizici sunt mult mai mici. Avantajul major al utilizării mutagenilor fizici în comparație cu cei chimici este gradul de precizie și reproductibilitatea suficientă. Printre mutagenii fizici, neutronii au o capacitate mai joasă de penetrare comparativ cu razele X și gama, dar cauzează leziuni serioase materialului genetic. Deși eficacitatea neutronilor în calitate de mutageni a fost

demonstrată, în special pentru inducerea pe larg a delețiilor în molecula de ADN, aplicarea lor este limitată [202]. Astfel, rata soiurilor mutante de orz realizate prin radierea cu raze gama constituie 59%, raze X și neutroni câte 20,6% din numărul total de varietăți obținute prin expunerea la radiațiile ionizante respective [115].

Evaluarea spectrului de însușiri valoroase ameliorate la soiurile mutante de orz obținute prin mutagenază fizică directă, incluse în baza de date AIEA/FAO a dus la evidențierea faptului că majoritatea trăsăturilor (lungimea și rigiditatea paiului, maturitatea, productivitatea, rezistența la polignire, la variația temperaturii mediului) au fost modificate prin aplicarea celor trei tipuri de radiații. Astfel, în rezultatul aplicării razelor X (94 Gy, 100 Gy) au fost obținute soiurile mutante înalt productive: *Vienna*, rezistent la fâinare și *Diamant*, cu calitatea îmbunătățită a boabelor și malțului – ambele rezistente la polignire. Prin iradiere cu razele X (200 Gy; 7,5 Gy) au fost create două soiuri de orz: *Mari (mat-a8)* – un mutant extrem de precoce, termo- și foto-insensibil; *Pallas* – mutant *Erectoides 32 (ert-k)* cu paiul rigid, rezistent la polignire și înalt productiv. Soiul mutant *Jutta*, ce se caracterizează prin rezistență ridicată la temperaturi joase și polignire, cu boabe de calitate înaltă, a fost obținut prin tratarea semințelor de orz cu raze X (100 Gy). Pe calea iradierii semințelor uscate de orz a fost creat soiul mutant timpuriu *Amagi Nijo 1* (raze X, 200 Gy), cu pai scurt (10-15 cm). În urma tratamentului cu raze X a materialului semincer umed au fost realizate soiurile înalt productive *Balder J* (60 Gy), cu spicul rezistent la germinare, condiții nepretențioase pentru creștere, tolerant la secetă și *Hankikjas Aopo* (semințe hibride), cu pai scurt, rigid și capacitate mare de înfrățire. Ca urmare a iradierii cu neutroni a semințelor de orz, au fost produse soiuri mutante cu caractere ce nu au fost înregistrate la varietățile rezultate în urma aplicării altor surse ionizante și anume: boabe golașe, ariste moi sau fragile, conținut înalt de proteine, ușor de treierat, rezistente la tăciune. Astfel, prin tratarea semințelor de orz cu neutroni rapizi (3 Gy, 6 Gy) au fost izolate soiurile cu pai tare: *Alf*, talie joasă și *Shua*, înalt productiv, cu conținut înalt de proteină, rezistent la polignire. Expunerea boabelor de orz la acțiunea neutronilor termici a dus la izolarea soiurilor precoce, rezistente la pătulire: *RDB-1*, mutant pitic, cu productivitate mărită și necesități minime de apă; *Radiation*, plante cu boabe golașe, pai scurt, productivitate stabilă. Soiul de primăvară *Bonneville 70*, cu boabe albe dispuse în șase rânduri per spic, ușor de treierat (ariste fragile), rezistente la tăciune a fost dezvoltat în rezultatul folosirii neutronilor termici. De asemenea, prin tratamentul semințelor de orz cu acești neutroni a fost obținut soiul *Pennrad*, mutant aristat, cu gene recisive, rezistent la temperaturi joase.

Peste 80% din soiurile noi de plante mutante de orz realizate prin mutagenază chimică directă au fost induse de către agenții de alchilare (NEU, EI, EMS, NMU, DES, EO), care

reacționează cu ADN-ul prin alchilarea grupărilor fosfat precum și a bazelor azotate purinice și pirimidinice. Acești agenți sunt compușii chimici aplicați cel mai frecvent în mutageneza plantelor. Ei provoacă orice tip de mutații punctiforme – tranziții, transversii, deleții și modificarea cadrului de citire și o frecvență relativ majoră de aberații cromozomiale care cauzează diferite rearanjamente cromozomiale [252]. Acești mutageni duc la deteriorarea ADN-ului prin transferarea unei grupe de metil sau etil (-CH₃, -C₂H₅) la atomii de oxigen și azot ai bazelor nucleotidice. Cu ajutorul acestor agenți se poate obține un spectru larg de leziuni, efectul biologic al acestora variind de la ușor dăunătoare până la cele care duc la moartea celulelor. La orz, 42,8% din soiurile mutante obținute în rezultatul tratării semințelor cu agenți alchilanți au fost produse de către ENU. Prin urmare, în rezultatul tratării semințelor de orz cu soluții de ENU au fost create soiurile rezistente la polignire: *Gerelo*, *Badjory*, *Exotic*, *Secret*, rezistent și la temperaturi joase; *Debut* cu productivitate ridicată. Cu ajutorul acestui compus chimic au fost realizate soiurile: *Temp*, orz furager, cu pai scurt, maturitate timpurie și rezistent la fâinare; *Dobrynia-3*, tolerant la temperaturi scăzute și soiul precoce *Stimul*.

Soiul de orz de iarnă pentru silos *Shirokolystnii*, plante cu talia înaltă, frunze late, maturitate târzie, productivitate ridicată, rezistente la temperaturi mici a fost obținut prin tratarea semințelor cu soluție de NEU în complex cu soluția de NMU. De asemenea, prin tratarea semințelor de orz cu soluție de NMU, a fost obținut soiul precoce *Mamluk*, cu boabe mari și productivitate mărită.

Conform relatărilor menționate de Udda Lundqvist (1992), EI s-a dovedit a fi o epimină cu efect genetic distrugător, producând o “explozie” în genomul orzului. Cu ajutorul acestui mutagen a fost indus un spectru deosebit de mutații și izolați mutanți rar întâlniți. Astfel, în urma tratamentului cu soluție de EI au fost obținute soiurile: *Kormovy*, *Gama*, înalt productiv; *Araraty 7*, soi precoce de orz de iarnă, cu șase rânduri și soiul *Fakel* cu pai scurt, conținut ridicat de proteine; ambele soiuri fiind rezistente la polignire. Soiul mutant *Luther* cu pai scurt, înalt productiv, rezistent la pătulire și fertilizare abundentă a fost un rezultat al utilizării compusului chimic dES. Sulfatul de dietil s-a dovedit a fi foarte mutagen pentru orz. Rata mutațiilor produse de acest agent de alchilare este de 10% – de două ori mai mare decât cea indusă de radiația ionizată dispersată [Udda Lundqvist, 1992, p.20].

Prin tratarea semințelor de orz cu soluție apoasă de EMS (1,5%) a fost realizat soiul înalt productiv *Betina*, cu pai scurt și gros, toleranță excelentă la fâinare și rezistent la cădere. Tratamentul semințelor de orz cu EO a indus mai multe mutații punctiforme și mai puține aberații cromozomiale și este considerat un compus chimic eficient în producerea mutațiilor la

orz [167]. Cu ajutorul acestui mutagen a fost obținută varietatea *Kharkovskii 84*, cu calități îmbunătățite destinate pentru fabricarea berii, rezistent la polignire și secetă.

Odată cu descoperirea efectelor mutagene ale radiațiilor și mutagenilor chimici, tratamentele combinate ale acestora au fost folosite de către amelioratori pentru a mări frecvența mutațiilor. Mehandjiev (2005) a raportat că tratarea în complex a mutagenilor fizici și chimici a indus un spectru mai larg de mutații și a sugerat în continuare că tratamentele combinate sporesc schimbările cantitative și calitative în spectrul de mutații, măbind sau micșorând astfel frecvența anumitor tipuri de mutații, care nu apar în spectrele tratamentelor individuale [121].

Numărul mare de forme mutante și diversitatea soiurilor obținute prin mutageneza directă, cu ajutorul mutagenilor fizici și chimici, demonstrează eficiența și importanța majoră a acestor factori în inducerea variabilității la orz. Valoarea variabilității genetice induse crește odată cu utilizarea în mod direct a soiurilor mutante de orz pentru cultivare în scop comercial, care au influență semnificativă asupra mijloacelor de existență a populației și economiei țării respective.

Printre culturile mutante de orz care au fost induse direct de către mutagenii fizici și au contribuit considerabil la securitatea alimentară și generarea veniturilor în țările de origine, se evidențiază soiurile *Pennard* (USA) și *Balder J* (Finlanda).

Soiul *Pennrad* obținut în rezultatul tratării materialului semincer cu neutroni termali este un mutant de orz de toamnă înalt productiv, rezistent la ger, cu coacere timpurie și rezistent la polignire. A fost cultivat pe o suprafață de 100,000 ha (USA).

Soiul înalt productiv *Balder J*, realizat în urma iradierii semințelor cu razele X, cu rezistență înaltă la secetă, germinare bună și greutatea mărită a 1000 boabe, a majorat semnificativ veniturile agricultorilor obținute din vânzarea aproape a 1 mln kg de semințe de orz [140].

Printre muntanții de orz obținuți în rezultatul aplicării mutagenilor fizici sunt descrise genotipuri cu caractere îmbunătățite, prezentând un avantaj economic față de soiurile inițiale. Exemplele includ dezvoltarea varietăților mutante înalt productive cu talie joasă: *Diamant* (fosta Cehoslovacie), *Golden Promise* (Marea Britanie), *Pallas* și soiul precoce *Mari* (Suedia), care au contribuit la extinderea variabilității genetice dorite și au influențat ameliorarea orzului la diferite nivele.

Soiurile *Pallas* și *Mari* au fost primele varietăți selectate din muntanții obținuți în rezultatul iradierii cu razele X a s. Bonus, aprobate oficial și cultivate în diferite țări ale Europei de Nord, Marea Britanie, Irlanda și Spania. Soiul mutant *Pallas* avea paiul rigid cu 2,4 cm mai scurt decât forma parentală, rezistent la cădere. Mărimea paiului este asociată cu numărul și

lungimea internodurilor. Astfel, plantele de orz, s. *Pallas* aveau paiul alcătuit din 5-6 internoduri, iar cele ce aparțineau s. Bonus – 6,7 internoduri. Aceste proprietăți sunt determinate de mutația la locusul *erectoides 32 (ert-k³²)*. Mutantul *erectoides 32* a fost implicat într-o serie de hibridări și a contribuit la realizarea a peste 12 varietăți valoroase. Soiul *Mari*, mutant *prematuum 8 (mat-a⁸)*, ce se caracterizează prin maturitate precoce (termo- și foto-insensibilitate, înspicarea are loc cu 8-10 zile mai devreme decât forma maternă s. Bonus) și semipiticism, de asemenea a fost utilizat pentru crearea a peste 16 soiuri adaptate la sezonul de scurtă durată [115, 167]. Astfel, soiul mutant timpuriu *Mona* obținut prin hibridarea cu varietatea *Mari* (trei retroîncrucișări), cu productivitatea mai înaltă (7%), pai rigid, rezistență la mușcăi a permis orzului să fie cultivat în țările ecuatoriale cu durata scurtă a zilei și a extins variabilitatea genetică și suprafețele de cultivare a orzului. Maturitatea timpurie la culturile cerealiere este una din cele mai utile însușiri pentru cultivare în regiunile temperate reci, oferind posibilitatea de a înflori în condiții de temperaturi joase și abilitatea de a produce culturi viabile în regiunile secetoase. Prin urmare, soiurile mutante *Pallas* și *Mari* au îmbogățit semnificativ fondul genetic al plantelor de orz, iar derivații acestora au extins frontierele terenurilor arabile, fiind potrivite pentru diferite părți ale lumii și având un impact economic deosebit asupra producției de orz din întreaga lume.

Cultivarea soiurilor mutante de orz semipitice *Golden Promise* și *Diamant* au avut influență majoră asupra agriculturii din Europa, America de Nord, Asia și Australia. Fiind mai bine adaptate la recoltarea mecanizată și stabilind valori noi de referință pentru productivitate și calitate, aceste soiuri au determinat utilizarea lor pe scară largă și în crearea ulterioară a noilor genotipuri [202, 230, 243]. Aceste varietăți au adăugat venituri de miliarde de dolari în industria malțului și berii.

Cu toate că soiurile mutante menționate au fost reușite, crearea s. *Diamant* a avut cu siguranță cel mai mare impact asupra extinderii variabilității orzului și ameliorării acestuia în unele zone majore producătoare a orzului din lume. Soiul *Diamant* avea o talie mai joasă cu 15 cm decât forma paternă și productivitatea cu 12% mai mare, fiind semănat pe mai mult de 43% din suprafața cultivată de orz din Cehoslovacia în perioada respectivă, iar creșterea totală a producției de boabe a fost de aproximativ 1486000 de tone [25, 202, 230]. Fenotipul semipitic al acestui soi este determinat de mutația locusului *semi-dwarf 1 (sdw1, sin.denso)*. Efectul fenotipic principal al mutației *sdw1/denso* este micșorarea înălțimii plantei cu 10–20 cm, în dependență de condițiile mediului. Productivitatea ridicată a soiurilor de orz ce dețin gena semipiticismului, de asemenea este asociată cu mutația *sdw1/denso*, de exemplu, s. *Maresi*, obținut

prin încrucișare cu s. *Diamant*, este descris ca soi cu productivitate stabilă fiind cultivat pe solurile nisipoase caracteristice Europei Centrale [149].

Soiul *Diamant* a fost implicat în diferite procese de hibridizare pentru a transmite gena mutantă a semi-piticismului și caracterele de interes agronomic și ameliorativ varietăților de orz din diferite regiuni ale lumii. Astfel, a fost obținut soiul de orz de primăvară Trumpf (reselectat și realizat ca Triumph în Marea Britanie), cel mai remarcabil descendent al s. *Diamant*, care se caracterizează prin semi-piticism, rezistență la polignire, productivitate superioară comparativ cu forma parentală, calitatea foarte bună a malțului, rezistență la mucegai și rugina frunzelor [115]. Trăsăturile acestui soi se regăsesc în 18 soiuri din cele 20, cultivate în prezent în Marea Britanie. Pe lângă aceasta, varietatea Triumph a contribuit la asigurarea unei surse noi de rezistență la patogeni prin transmiterea mutației *mlo 9* (4HL) pentru rezistență la mucegai, prin crearea soiului *Alexis*, care a avut un impact major asupra agriculturii din Europa de Vest [115, 180, 230].

Soiurile de orz de primăvară care au avut gena mutantă *denso* preluată de la s. *Diamant* în pedigreeul lor au fost cultivate în Europa pe o suprafață de 2,86 milioane ha [25].

Conform datelor din literatură și bazei de date MVD, varietățile *Diamant* și *Trumph* au fost donatori pentru aproximativ 150 de soiuri cultivate în Europa în secolul al XX-lea. În prezent, soiurile care posedă gena mutantă *sdw1/denso* sunt în genealogia majorității soiurilor moderne de orz cultivate în întreaga lume [149].

Impactul economic mondial al soiurilor de orz menționate este determinat cu certitudine de implicarea cu succes a acestor varietăți în procesele de încrucișare și transmitere ulterioară a genelor mutante de interes, generând noi fonduri genetice importante.

De remarcat că, în rezultatul utilizării soiurilor mutante cu caractere de interes au fost introduse reușit mutațiile genice care au sporit în mod semnificativ valoarea varietăților de orz comercializate. Astfel, gena mutantă *lys 3a* de la mutantul recisiv de orz *Riso1508*, a fost transmisă prin încrucișare soiurilor Piggy, Lysimax și Lysiba cu conținut înalt de lizină, productivitate și greutate a 1000 boabe mărită. Forma mutantă *Riso1508* (*lys 3a*) a fost realizată prin tratarea s. Bomi cu soluție de etilenimină și se caracterizează prin conținutul înalt de lizină, care a fost mărit cu 45%, comparativ cu forma parentală [273].

Soiurile mutante de orz cu conținut înalt de lizină sunt necesare pentru bolnavii cu maladia ereditară *celiachie* (intoleranță la gluten) și fac parte din dieta lor alimentară. Boala celiacă este cauzată de reacția autoimună la peptidele bogate în prolamine. La nivel mondial, numărul de persoane bolnave de această maladie constituie 24,2 mil. Fiind neglijată, cauzează

morbiditate și mortalitate. Unicul tratament este excluderea din alimentație a produselor bogate în prolamine.

Varietățile de orz ce dețin gena mutantă *lys* prezintă importanță deosebită nu doar pentru persoanele cu celiachie dar și pentru ameliorarea calității nutritive, care este benefică pentru toți consumatorii, deoarece cerealele sunt foarte deficitare în aminoacidul esențial lizina. Pe lângă aceasta, soiurile respective au contribuit la inițierea cercetărilor cu scopul de a crea forme mutante cu conținut înalt de lizină și la alte culturi cerealiere, de exemplu la grâu [273].

Mutageneza indirectă a fost utilizată pentru creșterea biodisponibilității nutrienților importanți la orz prin reducerea efectului antinutrițional al acidului fitic. De exemplu, soiurile de orz cu conținut scăzut de acid fitic sunt preferate deoarece fosforul și elementele minerale cum ar fi fierul și zincul se depozitează în semințele cerealelor sub formă de fitat și nu pot fi digerate de către oameni și animale monogastrice, iar reducerea de acid fitic va crește semnificativ accesibilitatea fosforului și microelementelor. În acest sens, au fost lansate două soiuri mutante de orz pentru producția comercială – varietățile *Herald* și *Clearwate*. Aceste soiuri cu productivitate excelentă în diferite condiții de cultivare și cu cantitatea redusă de acid fitic (cu 40-50%) au fost realizate în rezultatul încrucișărilor complexe, unde în calitate de forme parentale au fost utilizați mutanții *lpa-M422*, ce posedă gena mutantă recisivă *lpa1-1*, localizată pe brațul lung al cromozomului 2H (s. *Herald*, orz furajer de primăvară cu șase rânduri) și *lpa-M640*, mutația alelică cu *lpa2-1*, pe cromozomul 7H (s. *Clearwate*, orz de primăvară, cu două rânduri de boabe golașe). Ambele forme mutante de orz au fost obținute prin tratarea cu NaN_3 a soiului cu două rânduri Harrington, destinat pentru fabricarea malțului. Genele mutante respective au contribuit la mărirea cantității de fosfor inorganic cu mai mult de 400%. Aceste schimbări sunt asociate cu creșterea calității alimentare și reducerea impactului asupra mediului ambiant, prin creșterea digestibilității fosforului și substanțelor minerale nutritive la oameni și animale [53, 221].

Creșterea productivității culturilor, bazată pe eficiențe mai bune în utilizarea inputurilor agricole (îngrășăminte, pesticide, erbicide, rotația culturilor și utilizarea mașinilor agricole) nu ar fi posibilă fără soiuri destinate să reziste la condițiile agroclimatice specifice. Culturile de orz rezistente la erbicide au fost aprobate pe larg deoarece au mai multe avantaje în sistemele de management al diferitelor buruieni. În asemenea condiții agricole, este evidentă importanța varietăților de orz tolerante la erbicide care sunt implicate în transmiterea genelor ce determină această proprietate, extinzând variabilitatea genetică și contribuind la sporirea adaptabilității culturii respective. Astfel, soiul de orz *Scope* tolerant la erbicidul imidazolinona (IMI) a fost realizat cu ajutorul agenților mutageni chimici și aplicarea consangvinizării la s. Buloke (soi

destinat obținerii malțului). Toleranța la erbicidul respectiv a fost indusă în rezultatul mutației în enzima acetohidroxiacid sintaza (ALS). Această substituție în ALS conferă un nivel înalt de toleranță doar la IMI [186, 210].

Realizarea soiurilor mutante folosite cu succes în programele de ameliorare combinativă și posibilitatea de a folosi diferite metode în complex, duc la creșterea importanței, utilității mutagenezei; la crearea, extinderea variabilității genetice la orz și îmbunătățirea varietăților cultivate. Astfel, prin mutagenză au fost create 247 soiuri mutante, ceea ce constituie 80,4% din numărul total de plante de orz realizate oficial și incluse în baza de date a soiurilor mutante AIEA/FAO. Dintre acestea, 207 de varietăți mutante de orz au fost obținute prin hibridarea cu un mutant, 38 de soiuri – prin hibridizare complexă (doi mutanți), 2 soiuri – iradierea materialului hibrid și 1 soi – consangvinizare combinată cu mutageneza chimică.

Varietățile mutante obținute prin mutageneza directă și indirectă, cu ajutorul factorilor mutageni chimici și fizici, menționate în acest paragraf, reprezintă doar o parte din totalul soiurilor de orz realizate și înregistrate oficial în Baza de date a soiurilor mutante AIEA/FAO. Organizațiile FAO/AIEA menționează despre numărul brut al soiurilor mutante incluse în această bază de date, creată prin colectarea informației doar din surse disponibile public sau oferite în mod voluntar de amelioratorii care au conexiune cu programele respective [89].

Exemplele menționate în această lucrare demonstrează că mutațiile induse în rezultatul aplicării factorilor mutageni fizici și chimici, sunt mijloace sigure și eficiente în crearea unei bogate variabilități genetice dorite la plantele de orz. Mutageneza directă și indirectă a contribuit la extinderea diversității genetice prezente și la utilizarea variației genetice disponibile pentru producerea de noi forme și soiuri mutante de orz. Deși, este o tehnică veche de aproape un secol, mutageneza indusă reprezintă o strategie de ameliorare a plantelor ieftină, robustă, verificată și eficace care suplimentează metodele convenționale în scopul ameliorării, și oferă modificări specifice fără a altera semnificativ genotipul în întregime. Tehnicile de fenotipare, progresele în genetica moleculară de mare capacitate și a biologiei celulare îmbunătățesc eficiența acestui procedeu. Eficacitatea crește odată cu accesibilitatea la metodele moderne de selecție. Mutageneza indusă facilitează foarte mult identificarea genelor și elucidarea funcțiilor lor, atunci când genele sunt folosite în calitate de markeri genetici moleculari și sporesc ameliorarea plantelor [178].

Aplicarea cu succes a ameliorării mutaționale la orz, cu implicarea mutagenilor menționați anterior ilustrează valoarea practică și științifică a variabilității genetice induse prin mutagenză. Prin urmare, soiurile de orz cu caractere îmbunătățite, utilizate direct sau cultivate pentru comercializare, și stocurile noi de gene cu însușiri ameliorate sau cu capacitatea

combinativă mai bună a caracterelor de interes, generate prin valorificarea variabilității genetice respective, au contribuit la securitatea alimentară și nutrițională globală. Pe lângă aceasta, varietățile mutante continuă să joace un rol-cheie în agricultura de astăzi pe fundalul dezbaterilor ce țin de siguranța plantelor modificate genetic [202].

În rezultatul valorificării variației genetice prin intermediul folosirii mutațiilor induse la orz a fost obținut un număr impunător de date fenotipice și genotipice, expuse în baze de date, accesibile cercetătorilor și amelioratorilor care solicită și se bazează pe astfel de informație pentru investigații științifice și implementarea acestora în programele de ameliorare.

1.3.1. Radiațiile gama – sursă de creare și sporire a variabilității la plantele de orz

Printre mutagenii fizici, radiația gama este cel mai frecvent utilizată pentru inducerea mutațiilor și a variațiilor genetice la plantele de cultură. Formele mutante realizate direct în calitate de soiuri noi, obținute în rezultatul iradierii gamma, predomină în baza de date a soiurilor mutante, iar varietățile mutante de orz constituie aproximativ 60% din numărul total de soiuri obținute prin aplicarea mutagenilor fizici [115]. Acest lucru se poate datora în principal promovării active a utilizării iradierii gamma de către Organizația Națiunilor Unite pentru Alimentație și Agricultură (FAO) și Agenția Internațională pentru Energie Atomică (AIEA), dar poate fi semnificativă și din punct de vedere biologic, deoarece mutagenii fizici tind să inducă mutații genomice mai mari decât unii mutageni chimici și astfel pot fi create trăsături dominante sau mai ușor observabile cu o frecvență mai mare [131]. De asemenea, popularitatea acestui agent mutagen poate fi atribuită confortului de utilizare, gradului de precizie, reproductibilității suficiente, capacității de a penetra mai adânc și uniform materialul vegetal, care ulterior nu acumulează radioactivitate și, prin urmare, poate fi utilizat după tratament fără precauții [252, 282].

Razele gama (γ) pot fi utilizate prin două modalități, cu scopul de a induce mutații – iradierea acută sau cronică a materialului vegetal. În cazul iradierii acute, materialul vegetal este plasat într-o celulă/cameră gama și tratat cu o singură doză de radiație, utilizând o rată a dozei relativ înaltă într-o perioadă scurtă de timp. În cazul iradierii cronice, materialului experimental este supus iradierii de lungă durată, la o rată a dozei mai joase, în camere gama speciale, sere sau câmp, în condiții controlate de mediu, astfel încât plantele să poată fi iradiate în diferite faze de dezvoltare [250].

Razele γ aparțin radiațiilor ionizante, afectează materialul genetic *direct* (ionizarea ADN-ului) fiind modificat ori distrus, sau *indirect* (radioliza moleculelor organice și apei), prin formarea de radicali liberi și peroxid de hidrogen, care apoi acționează asupra materialului

ereditar [75, 151, 177]. Radicalii liberi reacționează cu moleculele ADN-ului, cauzând deteriorări în structura moleculară. Numărul radicalilor liberi formați depinde de doza totală a radiației. Majoritatea leziunilor ale ADN-ului s-au format în rezultatul acțiunii indirecte a razelor ionizante, deoarece apa constituie aproape 70% din compoziția celulei [75].

La plantele de orz razele gama produc rupturi mono- și bicatenare ale moleculei ADN. De asemenea, printre efectele mutagene caracteristice radiației gama la această specie, este inducerea rupturilor cromozomiale și formarea cromozomilor dicentrici. De asemenea, razele gama duc la încetinirea tranziției G₂-M a ciclului celular, formarea micronucleelor și delețiilor terminale, care provin din fragmente acentrice după ruperea cromozomilor sau din cromozomi întârziți ca rezultat al disfuncției aparatului mitotic [152]. S-a confirmat că regiunile cromozomiale mici în pozițiile mediană și distală a brațului au fost identificate ca saitari preferate pentru punctele de ruptură (*breakpoints*) a translocației induse de radiația gamma la orz. Pe lângă aceasta, s-a demonstrat că la orz, cromozomii 1, 2, 3 sau 4 au fost implicați mai des în formarea aberațiilor cromozomiale induse de radiația gama [152]. Evaluarea variabilității genetice induse de radiația gama (150 - 180 Gy) la nivelul moleculei ADN cu ajutorul markerilor SSR și AFLP a evidențiat un polimorfism de 0,49% în mutații structurale de orz obținuți din soiul Freya. În rezultatul analizării stabilității alelelor SSR la descendenții acestor mutații s-a remarcat o variație moștenită stabil în lungimea repetitivă (inclusiv includerea și pierderea secvențelor repetitive) la ambii loci SSR în trei liniile mutante. Polimorfismele observate la liniile mutante structurale au fost găsite numai în loci cu repetări (AT)_n perfecte, situate în intronii genelor *rubisco activase* și *waxy*. Probabil, iradierea γ afectează structura unor loci SSR cu repetări perfecte (AT)_n localizate în secvențele necodificatoare ale ADN prin includerea sau excluderea unităților repetate. Mostrele din locusurile SSR (AT)_n la orz pot fi instabile, ceea ce duce la o frecvență crescută a mutației [263]. La fel, se presupune că radiația induce evenimente care pot declanșa secvențele repetate mai puțin stabile din punct de vedere genetic. Prin urmare, instabilitatea genomului eucariotic indus de radiație se manifestă în mai multe moduri, variind de la rata înaltă de alterări genetice asemeni rearanjamentelor cromozomiale până la mutațiile genice și amplificări, transformarea și moartea celulei în descendența celulelor iradiate la multe generații după expoziție. Numărul semnificativ a celulelor care dezvoltă instabilitate genetică după stresul generat de radiație și menținerea sa îndelungată indică că acest fenomen nu este doar un răspuns direct la deteriorarea ADN-ului primar. Investigațiile asupra radiosensibilității în cazul iradierii orzului, au demonstrat că concentrația oxigenului și cantitatea umidității sunt parametri importanți ai efectelor genetice [75, 250]. Astfel, rezultatul final al efectelor directe și indirecte după iradiere este dezvoltarea

alterărilor biologice și fiziologice care se pot manifesta imediat sau mai târziu. În evoluția acestor alterări pot fi implicate schimbările genetice și epigenetice [75]. Prin urmare, radiația gama reprezintă un factor mutagen efectiv pentru producerea mutațiilor, care sunt principalele mijloace de procreare a variabilității și devine un instrument puternic pentru lărgirea diversității genetice și crearea varietăților de orz cu însușiri îmbunătățite, și noi combinații de caractere ce prezintă interes economic. Desigur că eficiența acestui mutagen este dependentă de doza, modul iradierii și tipul țesutului tratat. În acest fel, prin aplicarea directă a radiației γ au fost obținute și înregistrate oficial în baza de date MVD diferite soiuri mutante de orz cu proprietăți net superioare ce țin de productivitate, calitate, arhitectura plantei, rezistența la diferite boli și adaptabilitate (Tabelul A 1.3).

Unele din soiurile mutante de orz reprezentate în acest tabel, sunt recunoscute pentru impactul socio-economic deosebit și contribuția lor la îmbunătățirea productivității, calității nutritive, comodității de utilizare, securității alimentare, generarea de venituri suplimentare, obținerea de resurse genetice noi și extinderea variabilității genetice a acestei culturi la nivel global.

Prin urmare este necesar de menționat despre soiurile cultivate în zonele muntoase peruviene (altitudini înalte peste 3500 m, deasupra nivelului mării, în Peru) unde condițiile climatice nefavorabile nu permit cultivarea altor specii cerealiere, iar orzul este principalul component al siguranței alimentare (70% din boabe sunt utilizate în alimentația umană) [116]. Astfel, este evidentă importanța varietăților adaptate la altitudini înalte cu productivitate ridicată, înflorire timpurie, conținut înalt de proteine a boabelor, rezistente la rugină, dar și a soiurilor *UNA-La Molina 95* și *Centenario*, obținute în rezultatul iradierii gama (300 Gy) a varietății Buenavista. Realizarea varietății cu boabe golașe *UNA-La Molina 95* a adus venituri de 28 ml dolari americani în beneficiul direct al populației autohtone, unde aproximativ 49,6% din numărul total de populație trăiește în condiții de sărăcie [227]. De asemenea, soiul mutant *Centenario* având o productivitate cu 37%, iar conținutul de proteine cu 10,3% mai mare comparativ cu forma parentală și maturitatea cu 18 zile mai precoce, a reînlocuit soiurile tradiționale din zonele muntoase centrale din Peru [140]. Ameliorarea calității implică îmbunătățirea nivelului nutrițional și mărirea prețului produsului. Datorită calității înalte a boabelor, prețurile produsului soiului *Centenario* s-au dublat comparativ cu varietățile tradiționale.

Spre deosebire de varietățile cu influență majoră, remarcate anterior, soiul semipitic *Golden Promise* a avut un impact enorm asupra agriculturii din Europa, America de Nord, Asia și Australia, contribuind la lărgirea variabilității genetice prin implicarea sa în ameliorarea a cel

puțin 30 soiuri de orz importante. Varietatea *Golden Promise* era utilizat pe larg în industria berii, pentru fabricarea berii și whisky în Marea Britanie și Irlanda de Nord. Acest soi cu productivitate ridicată și calitate îmbunătățită a malțului, a fost produs prin iradierea semințelor cu raze gama (240 Gy) a soiului Maythorpe destinat fabricării malțului. Fenotipul semipitic a *s. Golden Promise* este determinat de mutația locusului genei *breviaristatum-e (ari-e.GP)* localizat pe cromozomul 7 al orzului (5HS). Un efect fenotipic comun pentru locusul *ari* este expresia instabilă a caracterului lungimea aristelor, în cazul locusului *ari-e* aristele spicului sunt cu 3/4 mai scurte decât lungimea normală. Soiul *Golden Promise* este un mutant semipitic de tip *elongation (elo)* cu mărimea redusă a celulelor în limbul foliar [149]. Au fost remarcate efecte pleiotropice ale acestei gene asupra productivității și dimensiunii boabelor. Această varietate se deosebește de alte soiuri semipitice prin faptul că are trăsături agronomice valoroase, așa ca precocitatea, pai scurt și rigid, lungimea redusă a aristelor, toleranță la salinitate [149]. Gena mutantă *ari-e.GP* a fost utilizată pentru dezvoltarea a cel puțin 19 varietăți semipitice importante [172]. Astfel, prin hibridizare, gena semi-piticismului a fost transmisă soiului remarcabil Midas, ce se caracterizează prin aspect erictoides și rezistență la tăciune, spre deosebire de forma parentală *Golden Promise* susceptibilă la această boală. Varietatea Midas a fost implicată în ameliorarea a peste 11 soiuri din Austria, Danemarca, Franța și Marea Britanie, fiind foarte apreciat în țările respective [115, 180]. Chiar și după 30 ani de la crearea soiului *Golden Promise*, acesta este încă popular datorită calităților sale înalte și este folosit la producerea diferitelor tipuri de bere blondă și whisky de calitate superioară la fabricile de bere din Scoția, Marea Britanie și Irlanda [25, 202]

De asemenea prin combinarea razelor gama cu agenții mutageni chimici au fost obținute și înregistrate oficial două soiuri mutante DL-253 (raze gama, 200 Gy + EMS) și Fuji 2-jyo (raze gama, 10 Gy + BdrU). Soiul DL-253 se deosebește de formele inițiale prin gradul de înfrățire îmbunătățit, rezistentă la rugina galbenă și tăciune, iar s. Fuji2-jyo prezintă rezistență la polignire.

Obținerea a 27 soiuri înregistrate oficial în Baza de date a soiurilor mutante AIEA/FAO (MVD), prin mutageneză indirectă, cu implicarea razelor gama, demonstrează utilitatea acestui factor mutagen în crearea și sporirea variabilității genetice la orz. Desigur, este necesar de a indica despre numărul brut al soiurilor introduse în baza de date respectivă. Astfel, în Republica Moldova, la Institutul de Cercetări pentru Culturile de Câmp "Selecția", de asemenea, au fost create două soiuri mutante de orz de toamnă, dar care nu au fost înregistrate oficial în această bază de date. Așadar, prin mutageneză radioactivă, din soiul Iarna a fost creat *s. Moldavski 18*, ce aparține varietății *pallidum*, omologat în zonele de nord și centru ale Moldovei. Această

varietate se caracterizează prin: i) spic mare, de formă rombică cu boabe mari, eliptice; ii) tulpină groasă cu înălțimea de 77-116 cm; iii) rezistență bună la iernare, secetă, fâinare și helmintosporioză. Perioada de vegetație – 243-261 zile. Crește bine în perioada de primăvară. Conținutul de proteină – până la 12,5%, amidon – 58,7% [6].

Soiul de orz *Tighina*, varietatea *pallidum*, obținut prin iradierea cu razele gama a hibridilor F₁ rezultați din încrucișarea soiurilor Iarna și Lorina, este omologat în zonele de nord ale țării. Are talia plantei de 81-116 cm și se caracterizează prin rezistență bună la polignire, înaltă la ger, medie la secetă, rezistență bună la fâinare și helmintosporioză. Perioada de vegetație – 251 zile. Conținutul de proteină – 11,5%. Soiul respectiv poate fi folosit la fabricarea berii. Se recomandă cultivarea s. *Tighina* pe terenuri irigate [6]. Toate exemplele expuse în acest compartiment confirmă faptul că radiația gama este un mijloc eficient, comod și sigur de creare a variațiilor noi și de lărgire a variabilității genetice existente dorite la plantele de orz.

1.3.2. Utilizarea factorilor biotici în scopul lărgirii spectrului de variații

Genomul plantelor de cultură a fost, cu succes, modificat și ameliorat cu ajutorul factorilor mutageni fizici și chimici. Acești factori reprezintă stimuli externi stresogeni cu capacitatea de a induce reorganizări în genomul plantelor. Similar acestor agenți, factorii mutageni biologici (virusurile, bacteriile, micoplasmele, fungii etc.) afectează puternic stabilitatea genomului vegetal. Cu toate acestea, factorii mutageni biologici nu au fost utilizați pe larg pentru inducerea sau mărirea variabilității genetice la plantele de cultură, posibil din cauză că plantele manifestă un răspuns diferențiat și condiționat față de acești agenți stresogeni.

Pe lângă aceasta, agenții biologici mutageni au fost percepuți adesea ca patogeni ce cauzează boli la plantele de cultură. Conform datelor de specialitate, stresul patogen este considerat unul dintre cele mai complexe și dăunătoare stresuri pentru plante [48].

Efectele factorilor patogeni asupra instabilității genomului plantelor au fost documentate de mai multe lucrări de cercetare și experiențe minuțioase. Astfel, în rezultatul analizei acțiunii oomicetelor (*Penospora parasitica*) [163] și elicitorului bacterian – flagelina [185] asupra genomului liniei transgene de plante *Arabidopsis thaliana*, a fost stabilită creșterea frecvenței recombinării somatice omoloage în locusul genei reporter. De asemenea, s-a evidențiat că frecvența înaltă a recombinării omoloage (*FRO*, *HRF-homologous recombination frequency*) se menține și la următoarea generație de plante netratate cu agentul bacterian respectiv. Creșterea evenimentelor de recombinare meiotică și somatică, combinate cu metilarea moleculei de ADN la locusul specific al genei de rezistență (R) și cel asemănător acestei gene, a fost depistată la plantele transgenice de tutun infectate cu virusul mozaicului tutunului (TMV) compatibil. Pe

lângă aceasta, a fost demonstrat că mărirea FRO are loc în țesuturile neinfectate ale plantelor virusate și în descendenții neinfecțați obținuți de la plantele respective, pe parcursul a cel puțin două generații [49, 138, 147]. Aceste rezultate sugerează prezența unui semnal sistemic de recombinare (SRS) care este provocat de infecția patogenă, se răspândește sistematic de la locul de infecție la țesuturile neinfectate, inclusiv cele care formează gameții, declanșând schimbări genomice. SRS duce la inhibarea sau intensificarea metilării ADN-lui la locusul genei R, care, respectiv, duce la creșterea frecvenței de mutații C-T (hipermetilarea) și recombinării omoloage (hipometilarea). În acest mod, modelul nou de metilare poate fi transmis descendenței ulterioare [49, 207]. Schimbările ereditare în metilarea moleculei de ADN reprezintă epimutații. Mecanismele genetice (mutațiile punctiforme și recombinarea genelor) pot conduce la formarea de noi alele funcționale la mai multe generații de plante. Aceste epialele și alele conferă noi particularități de recunoaștere a genei la locusul implicat în obținerea rezistenței la patogenul respectiv și pe viitor pot contribui la interacțiunea incompatibilă cu acest agent. Expunerea îndelungată la presiunea factorului patogen, pe parcursul mai multor generații, poate duce la transformarea modificării epigenetice într-un caracter nou, stabil, de toleranță sau rezistență la patogenul respectiv [48, 61, 225].

Mai mult ca atât, plantele infectate cu un anumit patogen compatibil și descendenții obținuți (neinfecțați) manifestă toleranță și rezistență și la alte tipuri de infecții patogene și stresuri abiotice [28, 31, 138, 279, 153]. În plus, s-a demonstrat că expunerea constantă la diferiți agenți patogeni contribuie la evoluția și diversificarea genelor vegetale R, prin mecanisme de rearanjări extinse (duplicații, inserții/inversii cromozomiale, *crossing-over* neregulat etc.) [48, 49]. De asemenea, în rezultatul cercetării interacțiunii plantelor de in cu rugina inului s-a evidențiat polimorfismul înalt al ambelor gene – R și Avr [77].

Analizând cele relatate în literatura de specialitate despre acțiunea factorilor biologici mutageni asupra instabilității genomului la plante și dovezile relatate anterior, putem afirma despre posibilitatea utilizării agenților respectivi în scopul extinderii variabilității și obținerii formelor noi de plante de cultură.

Impactul infecției virale asupra variabilității la plantele de cultură. În prezent, este recunoscută contribuția înaltă a infecției virale în generarea instabilității genetice la plante și acțiunea sa în calitate de agent patogen, stresogen, mutagen.

Primele date despre influența virusului asupra materialului genetic vegetal au fost relatate de către Kostoff (1933), care a evidențiat iregularități la toate etapele diviziunii meiotice la plantele de tutun (*Nicotiana tabacum*) infectate cu VMT [146]. În cercetările ulterioare a fost stabilit că stresul viral poate induce niveluri neobișnuite de modificări genetice și activarea

elementelor transpozabile. Astfel, VMDO – virusul mozaicului dungat al grâului (VMDG, WSMV – *Wheat Streak Mosaic Virus*) și virusul pestriț al crinului (CLFV – *Corn Lily Fleck Virus*) au cauzat majorarea ratei deficiențelor cromozomiale (0,12-4%) în celulele endospermului și au indus efectul genetic „*abberant ratio*”(AR) pentru câteva generații la descendenții sănătoși obținuți de la plantele infectate de porumb. Fenomenul AR asociat cu infecția virală, reprezintă abateri semnificative de la raportul mendelian al segregării fenotipice în F₂ (de la 95:5 până la 60:4) și este cauzat de segregarea alelelor recesive la locii complementari, sugerând apariția mutațiilor în genele respective [50, 195, 246, 247, 248]. Inducerea unui efect ereditar de către VMDO poate însemna că virusul are o influență autonomă non-celulară asupra stabilității genomului [147].

Descoperirea mutațiilor în genele porumbului: *Adh1* (alcool dehidrogenaza) la plantele infectate cu VMDO și *Sh1* (sucrozintetaza) în descendenții neinfecțai ai plantelor infectate cu VMDO și VMDG cauzate de inserția fragmentelor ADN (3,3 kb; Tz86-3,6 kb), demonstrează implicarea infecției virale în activarea transpozozonilor. Variabilitatea a fost observată ca fiind ereditară și persistentă la mai multe generații, deși nu au fost depistate particule virale sau acid nucleic viral în descendenții afectați [74, 188, 189]. Ulterior, a fost stabilit că agenții virali activează semnalul sistemic de recombinare (SRS), generat local, la poziția infecției și se răspândește prin plantă mai rapid decât virusul, declanșând schimbări genomice. Acest semnal a promovat creșterea triplă a frecvenței recombinării omoloage (FRO) în țesuturile infectate și neinfectate ale plantelor transgenice de tutun tratate cu VMT și virusul mozaicului semințelor de rapiță (VMSR, ORMV – *Oil Seed Rape Mosaic Virus*). Prin urmare, stresul viral, indirect, duce la mărirea frecvenței recombinării meiotice și celei somatice moștenite ulterior [147]. Creșterea FRO, precum și majorarea frecvenței mutațiilor punctiforme, instabilității microsatelitului au fost depistate și la plantele de *Arabidopsis* infectate local cu VMSR [284]. De asemenea, contribuția infecției virale la creșterea recombinării meiotice a fost confirmată în rezultatul evaluării acțiunii virusului X al cartofului (VXC, PVX – *Potatoes Virus X*), virusul aspermiei tomatelor (VAT, TAV – *Tomato Aspermy Virus*) și VMT asupra *crossing-over*-ului (schimbări în numărul, poziția chiasmelor etc.) la plantele de tomate [60, 33]. În plus, a fost determinată creșterea frecvenței recombinării (2,22-8,24 ori) la populațiile de descendenți sănătoși obținuți de la hibridii de *Solanum lycopersicum* infectați cu VMT și VXC. Deși particulele virale nu au fost depistate la descendenții respectivi, devierile observate s-au manifestat timp de trei generații [173].

În rezultatul evaluării plantelor de tutun transgenice descendente SR1, compatibile cu virusul VMT, s-a depistat frecvența înaltă a rearanjamentelor în locii omologi cu regiunea *LRR* a

genei de rezistență la VMT (gena *N*), hipometilarea în mai mulți loci *LRR* și hipermetilarea esențială în locii actinei [49]. Ulterior, a fost relatată creșterea semnificativă ($P < 0,05$) a FRO somatice, mărirea ratei de rearanjamente în locii genelor de rezistență și modificări în metilarea genomului (hiper- sau hipometilarea) descendenților plantelor transgenice de *Nicotiana tabacum* (SR1), timp de două generații consecutive [138].

Hipometilarea specifică de locus este asociată cu frecvența înaltă a rearanjamentelor, descreșterea stabilității genomului și activarea elementelor mobile [184, 49]. Pe lângă aceasta s-a demonstrat că creșterea instabilității genomului în țesuturile sistemice a plantelor infectate local cu patogenul viral este dependentă de vârsta plantei, concentrația inoculumului inițial și timpul de replicare a virusului [283]. În același timp, instabilitatea genomului se referă la susceptibilitatea genomului vegetal la rearanjamente și activarea elementelor transpozabile [48, 49]. Generalizând rezultatele cercetărilor relatate mai sus, constatăm că variabilitatea genetică determinată de infecția virală s-a dovedit a fi ereditară și persistentă la mai multe generații de plante neinfectate. Este important să menționăm că virusurile induc instabilitate genetică în orice locus al genelor implicate în procesul de obținere a rezistenței la patogenul respectiv.

Informații despre impactul infecției virale asupra variabilității substratului ereditar la orz au fost relatate pentru prima dată de către Sandfaer J. (1973), care a evidențiat apariția aneuploizilor și triploizilor la 11 soiuri infectate cu VMDO, dar cu o variație considerabilă a frecvenței acestora între soiuri (la unele varietăți triploizii au constituit 3%). De asemenea au fost observate fragmente și deteriorări cromozomiale, indicând că acțiunea virusului respectiv nu se limitează doar la inducerea aneuploizilor și triploizilor [231]. Mai târziu, în rezultatul cercetării efectului VMDO asupra diviziunii mitotice în celulele meristemate de orz s-a demonstrat acțiunea mutagenă a infecției virale. S-a constatat că acest virus mărește frecvența micronucleelor (de 2,7 ori comparativ cu varianta martor), rata schimbului între cromatidele surori (SCS) și induce formarea de C-metafaze (C-mitoză) [5, 34]. Prezența micronucleelor, care reprezintă niște corpi cromatici extra-nucleari rezultați în urma rupturilor cromozomiale sau aneuploidiei, localizați în apropierea nucleului, se consideră a fi un indice a instabilității genomului [301, 171].

Apariția anomaliilor de tipul C-mitozelor este asociată cu restructurările fusului de diviziune [85] și dublarea numărului de cromozomi. În absența citochinezei, se pot forma celule poliploide sau bi- polinucleate. În cazul formării fragmoplastului și peretelui celular, pot apărea celule cu un număr variat de cromozomi [5].

Conform unor autori, SCS sunt asociate cu replicarea anormală a moleculei de ADN care inițiază mecanismul de reparare a deteriorărilor ADN-ului și apar în celulă din cauza

funcționării incorecte sau ineficiente a acestui mecanism [213, 275]. Frecvența mărită a SCS reflectă prezența înaltă a instabilității cromozomiale indusă de agentul viral. În plus, a fost demonstrat că VMDO la orz, similar cu VMT și VXC la tomate, cauzează devieri semnificative în numărul și poziția chiasmelor, inițiind redistribuirea chiasmelor; rata aberațiilor cromozomiale în diviziunea meiotică, contribuind la declanșarea anomaliilor esențiale ale microsporogenezei [33]. Redistribuirea chiasmelor este foarte importantă, deoarece duce la creșterea recombinării între genele localizate în aceleași gupe de *linkage*, sporirea variabilității și crearea de noi combinații de alele. De asemenea a fost observată creșterea coeziunii sinaptice, confirmată de mărirea tipurilor de bivalenți cu una sau două chiasme (TT_I; T_II) [33]. Bivalenților cu trei asocieri de cromatină, cum sunt cei de tipul - TT_I, le este atribuit rolul principal în diversitatea genetică [276]. În rezultatul analizei comparative, au fost găsite asemănări în consecința evenimentelor meiotice la tomatele infectate cu VMT sau VXC și orz atacate de VMDO. Aceste rezultate confirmă faptul că agentul viral respectiv declanșează un semnal sistemic transmis țesuturilor neinfectate [33].

Acțiunea agentului viral asupra materialului genetic prin inducerea restructurărilor sau modificărilor epigenetice a fost confirmată și în baza variației cantitative și calitative a spectrului de polipeptide ale hordeinelor la plantele virozate de orz [4].

Datele privitor la impactul VMDO asupra diviziunii mitotice și meiotice, comparativ cu razele gama (100, 150, 250 Gy), aplicat pe larg în programele de ameliorare ca factor recombinogen, reprezintă argumente suplimentare, ceea ce demonstrează că acest virus provoacă efecte analoage razelor gama [3, 32]. Pe lângă aceasta, a fost confirmată implicarea VMDO în procesele de transcripție la plantele de orz, inițiind reducerea sau suprimarea activității genelor respective [113, 235].

În baza evaluării citogenetice au fost determinate însușirile mitogene, aneugene și clastogene ale VMCo ce includ modificări ale procesului de recombinare somatică; perturbarea diviziunilor mitotice, modificări ale expresiei genelor implicate în metabolismul antioxidant (APX și SOD) și proteinelor asociate patogenezei (PR-3, PR-5 și PR-10) la plantele infectate și descendenții obținuți în condiții de patogeneză virală. De asemenea au fost elaborate procedee de obținere a variabilității la plantele de cultură (tomate, orz varză) cu aplicarea infecției virale ca factor recombinogen [1].

Dovezile expuse sugerează că virusurile pot fi utilizate pentru generarea, sporirea și menținerea variabilității genetice, epigenetice la plantele gazdă susceptibile, iar variabilitatea indusă în acest mod poate fi utilizată în programele de cercetare și ameliorare a plantelor de cultură.

De asemenea proprietatea unor virusuri de a induce schimbări în expresia genelor implicate în reglarea procesului de înflorire, activarea genelor FT (*Flowering locus T*) sau blocarea genelor TFL (*Terminal flower1*) poate fi aplicată pentru accelerarea trecerii la perioada reproductivă a plantelor de cultură, ușurând cercetarea și ameliorarea plantelor de cultură. Eficiența folosirii virusurilor în calitate de vectori pentru promovarea înfloririi (VIF – *virus-induced flowering*) a fost demonstrată la plantele de pepene galben, bumbac, soia, măr infectate cu agenții virali respectivi, prin activarea genei FT, care determină activarea semnalului de înflorire și la plantele de măr, bumbac prin inducerea silențierii expresiei genei TFL1, antagonistul genei FT. Pe lângă aceasta, virusul încrețirii frunzelor bumbacului (dCLCrV – *Cotton leaf crumple virus*), Virusul sferic latent al marului (ALSV – *Apple latent spherical virus*), virusul rattle al tutunului (TRV – *Tobacco rattle virus*) au indus creșterea determinată a plantelor virozate [179].

În plus, capacitatea infecției virale de a produce mutații în genele de rezistență a fost utilizată, cu succes, în procesul de obținere a liniilor, soiurilor de plante tolerante sau rezistente la virus. Prin metode clasice (încrucișări, retroîncrucișări, obținerea liniilor dubluhaploide (DH) și metode moderne transgenice (obținerea transgenelor originare din genomul viral) au fost obținute soiuri de orz, grâu, ovăz rezistente la virusul mozaicului piticirii a orzului (VMPO, *Barley Yellow Dwarf Virus* – BYDV). Prin urmare, la orz au fost create soiurile: *Rojo* (*ryd1(yd1)*), *Atlas 68* (*Ryd2*, de primăvară), *Vixen* (*Ryd2*, de iarnă), soiul *Doria* (genele de rezistență *Ryd2*, *rym4*, *Rdg1*), soiul *Imen* (*Yd2*), rezistent la BYDV-PAV, adaptat la condiții semiaride) [193], linii rezistente (*Ryd3* (*Yd3*)), linii DH tolerante (efect sumar al interacțiunii genelor minore). Nivelul de toleranță indusă de gena *Ryd2* este influențată de genotip, inoculum viral și condițiile de creștere. La grâu a fost obținut soiul *Anza* (genele *Bdv1*, *Bdv2*), linii purtătoare a translocației pe cromozomul EL (*Bdv2*), iar la ovăz – soiurile tolerante la virusul respectiv, cu productivitate înaltă: *Rodeo*, *Blaze*, *Chaps*, *Spurs* și în special, liniile *IL 85-6467*, *IL 86-4189* înalt rezistente la VMPO în condiții de câmp [145].

Este important să relatăm că, în rezultatul cercetărilor efectuate de van Mølken T. și Stuefer J. (2011) s-a demonstrat că virusurile pot juca un rol crucial în diversitatea genetică, formarea proceselor micro-evolutive, ecologice la plante și sunt identificați ca factori - cheie posibili pentru schimbarea structurii și dinamicii populației vegetale [264]. Infecțiile virale pot conferi plantelor-gazdă beneficii ecologice, extinde supraviețuirea gazdelor în condiții de stres abiotic. Astfel, virusurile: mozaicului castravetelui (CMV – *Cucumber Mosaic Virus*), VMT, *rattle* al tutunului (TRV – *Tobacco Rattle Virus*) și mozaicului obsigei (BMV – *Brome Mosaic Virus*) modificat, au îmbunătățit toleranța plantelor infectate la stresul hidric. Plantele de sfeclă

infectate cu CMV au prezentat, de asemenea, toleranță la ger. S-a evidențiat că toleranța la stresul abiotic corelează cu creșterea nivelului de osmoliți protectori și antioxidanți la plantele inoculate cu virușii respectivi [279]. Inducerea toleranței la secetă este asociată cu reprogramarea globală a expresiei genelor, schimbări în semnalizarea hormonală și acumularea de metaboliți și antioxidanți [24, 72, 209, 279]. Cercetătorii Aguilar E. et al. (2017) confirmă cele relatate anterior, prin rezultatele investigațiilor asupra plantelor de *Nicotiana benthamiana* și *Arabidopsis thaliana* infectate cu virusul cartofului X (PVX) și virusul vărsatului prunului (PPV – Plum-pox) în complex sau aparte, demonstrând că infectarea cu virus crește toleranța la secetă la ambele specii prin mărirea acumulării acidului salicilic, fitohormon asociat cu stresul și toleranța la secetă [24]. În același timp este necesar de menționat că în cazul acțiunii combinate a stresului viral și abiotic plantele manifestă reacții fiziologice și moleculare individuale, iar răspunsul plantelor la acești factori depinde puternic de specia plantei implicate, tipul virusului, stadiul de dezvoltare, intensitatea fiecărui stres [24, 222]. De asemenea, s-a constatat că plantele infectate cu patogeni virali compatibili, manifestă toleranță și la alte tipuri de patogeni și stresuri abiotice. Astfel, Kathiria P. et al. (2010) a evidențiat că descendenții plantelor de tutun obținute de la plante infectate cu VMT au prezentat rezistență la infecțiile bacteriene – *Pseudomonas syringae* sau *Phytophthora nicotianae* și toleranță la sulfonat de metilmetan (MMS), precum și un nivel mai înalt al expresiei genei asociată cu patogeneză – GEN1 (PR1) [138]. Prin urmare, în rezultatul evaluării datelor cercetărilor expuse anterior despre influența virusurilor asupra variabilității genetice la plante putem concluziona că, stresul viral are o putere enormă de a modela genomul plantei. Datorită memoriei despre stresul viral acumulat în timpul interacțiunii continue cu infecția virală, modificările genetice se transmit la mai multe generații. Virusurile reprezintă nu doar agenți patogeni, dar și factori stresogeni ce induc schimbări ereditare adaptive, ecologice și evolutive benefice plantelor. Infecția virală este propusă în calitate de factor candidat ce contribuie la generarea variabilității și menținerea diversității genotipice la plantele gazdă compatibile.

Concluzii la Capitolul 1

Analiza datelor din literatura de specialitate relevă:

- Eficiența factorilor fizici și biotici, în special a razelelor gama și virusurilor, precum și culturii *in vitro* în generarea și mărirea variabilității ereditare prin inducerea schimbărilor genetice și epigenetice la plante, inclusiv orz.
- Importanța cunoașterii și evaluării bazelor genetice ale caracterelor formelor mutante ce țin de dezvoltarea și morfologia orzului, care contribuie la valorificarea variațiilor

morfologice și utilizării lor în cercetarea și modificarea arhitecturii plantei în scopul unei ameliorări direcționate.

➤ Necesitatea de a cerceta variabilitatea caracterelor biomorfologice la descendenții plantelor de orz obținuți în condiții *in vitro* și *in vivo* din material biologic iradiat și virozat, la nivel de fenotip, pe parcursul mai multor generații în diferite condiții ale mediului.

➤ Oportunitățile capacității infecției virale, razelor gama și culturii *in vitro*, solitar sau fiind asociați de a extinde variabilitatea genetică la plantele de orz și inducerii unui efect intergenerațional exprimat la nivel de fenotip, în diferite condiții ale mediului.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Investigațiile au fost efectuate în laboratorul *Biotehnologiei Vegetale* al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecția Plantelor, USM. În scopul evaluării efectului VMDO solitar și în asociere cu razele gama asupra inducerii variabilității genetice *in vivo* și *in vitro* la orz, au fost utilizate: metoda de infectare mecanică cu germeni virali, metode virusologice de diagnostic (procedeul contrastării negative), metode de iradiere a materialului biologic, cultura *in vitro*, metode biometrice, biochimice, metode matematice de prelucrare statistică a datelor și elaborat *design*-ul cercetării (Figura 2.1)

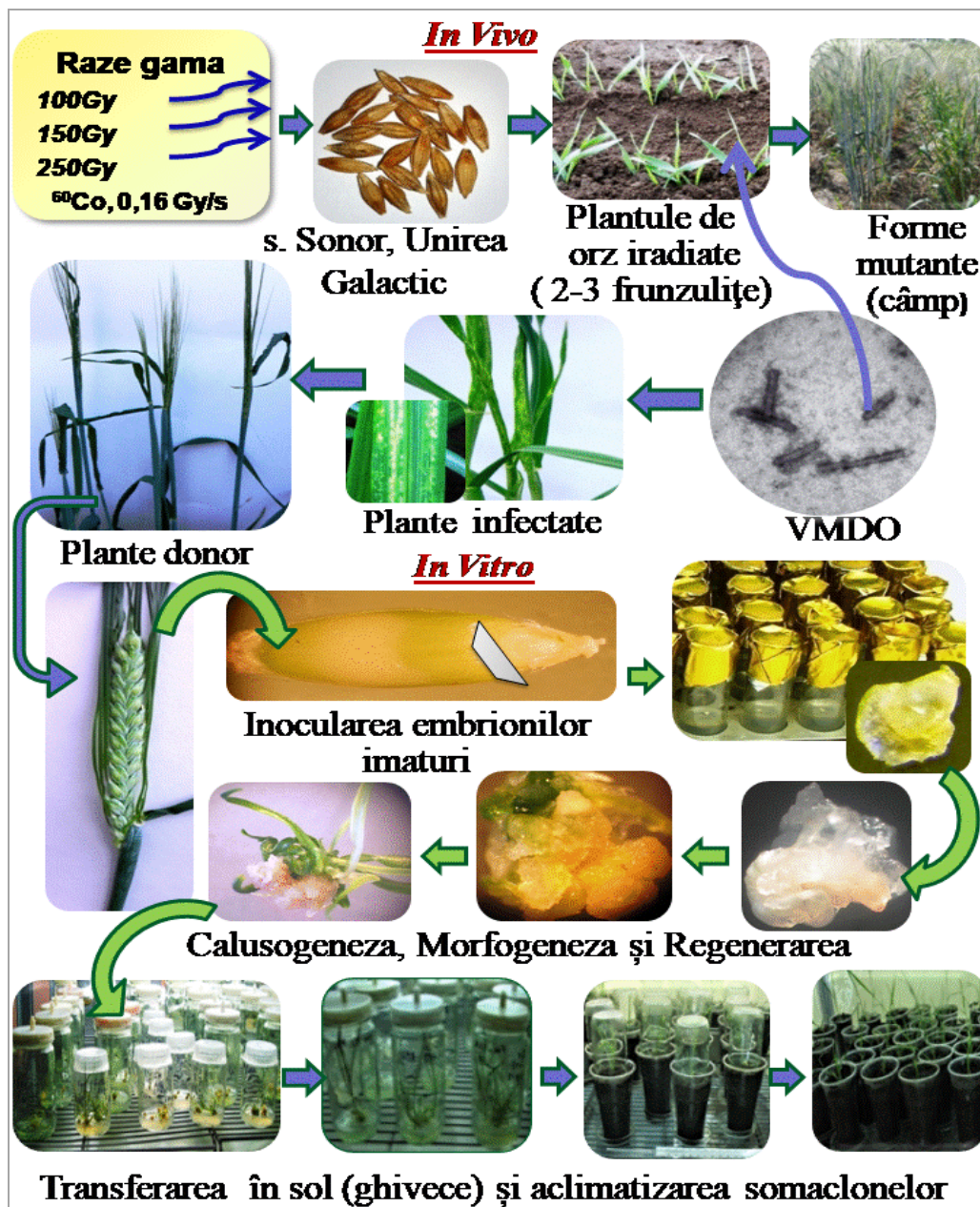


Fig. 2.1. Design-ul metodologic de cercetare

2.1. Obiectul de studiu

În calitate de material biologic s-au folosit trei soiuri de orz de primăvară (*Hordeum vulgare* L., 2n = 14): Sonor, Galactic, Unirea, omologate în Republica Moldova.

2.1.1. Descrierea materialului biologic de studiu

Soiul Sonor – creat în Republica Moldova (Institutul de Cercetări pentru Culturile de Câmp, or. Bălți), prin metodă de selecție individuală din populația hibridă (Nutans 76-2349 x Donețkii 9). Face parte din varietatea *nutans*. Este destinat pentru furaj și industria berii. Spic de densitate și mărime medie (9,0 cm) cu 2 rânduri de boabe, în faza coacerii în lapte – cu nuanță antocianică. Portul spicului – semiaplecat; ariste lungi, de culoare galbenă, subțiri, zimțate, bine dezvoltate, puțin răsfirate; boabe mari (masa a 1000 boabe variază între 48,0 - 58,0 g), de culoare galbenă. Conținutul de proteină (10,1 - 12,9%) și amidon (40,4 - 52,2%) variază în dependență de condițiile meteo. Soi semitimpuriu, rezistent la polignire, la scuturare și secetă. Se evidențiază prin plasticitate ecologică. Dispune de o rezistență bună la helmintosporoză și făinare. Producția medie a boabelor în testările de stat (anul 2011) a constituit 3,19 t/ha. Soiul a fost omologat în anul 1999 pentru cultivare în Zonele de Nord și de Centru ale Republicii Moldova.

Soiul Unirea – creat în Republica Moldova (Institutul de Cercetări pentru Culturile de Câmp, or. Bălți) prin metoda selecției individuale din populația hibridă (Pirodette x Cernomoreț). Este destinat pentru furaj. Face parte din varietatea *nutans*. Talia plantelor este medie. Spicul are 2 rânduri de boabe, lungimea – 7-9 cm, de culoare galbenă. Conținutul albuminei variază de la 12,7 până la 17,7%. Portul spicului – semiaplecat. Soi semitimpuriu, rezistent la boli și secetă. Producția potențială este de 50 q/ha. Soiul a fost omologat în anul 1993 pentru cultivare în Zona de Nord a republicii.

Soiul Galactic - creat în Ucraina (Institutul de Selecție și Genetică al AȘA, Odesa) prin metodă de hibridare (Odeskii115 x Itili). Este destinat pentru industria de producere a berii. Face parte din varietatea *nutans*. Talia plantelor este medie (75-80 cm). Spicul are 2 rânduri de boabe, lungimea – 7-9 cm, spic lax (10-11 spiculețe la 4 cm din lungimea rahisului), de culoare galbenă. Portul spicului – semiaplecat. Aristele lungi, aranjate paralel. Boabele mari (masa a 1000 boabe – 45-55 g). Soi semitimpuriu, rezistent la polignire și la secetă. Posedă toleranță la tăciunele prăfos, rugina brună, puțin se atacă de făinare, tăciunele comun și helmintosporoză. Producția medie a boabelor în anii încercărilor de stat a constituit 27,0 - 29,8 q/ha. Soiul a fost omologat în Republica Moldova în anul 2002, pentru cultivare pe întreg teritoriul republicii.

2.1.2. Caracteristica virusului mozaicului dungat al orzului

În calitate de agent patogen a fost utilizat virusul mozaicului dungat al orzului (VMDO) – (*Barley Stripe Mosaic Virus*, BSMV). Virusul aparține genului *Hordeivirus*. Are formă de particule rigide, tubulare cu diametrul de 18-24 nm și lungimea de 100-150 nm, în dependență de tulpină. Este un virus tripartit (α , β și γ) cu genomul multipartit, diferite tulpini ale virusului conțin două – patru molecule de ARN monocatenar linear de sens pozitiv. Toate particulele conțin un singur tip de polipeptidă cu greutatea moleculară de 21000 Da. Fiecare moleculă ARN este încapsulată individual într-o capsidă compusă din proteină (90%) și ARN (4%). Capsida este reprezentată de o glicoproteină [128].

În condiții naturale, VMDO infectează orzul și grâul la care provoacă simptome sub forma unui mozaic dungat ușor până la necroza totală a limbului foliar. Plantele din familia *Gramineae* (240 specii) infectate artificial manifestă în faza acută a infecției pete și striuri clorotice urmate de apariția unor pete necrotice de culoare gri sau maronie care pot duce la distrugerea limbului foliar, în faza cronică virusul produce pete sau zone mari, clorotice, cuprinzând suprafața limbului foliar, teaca și spicul. Tulpinile latente nu produc simptome în faza cronică, cele virulente distrug clorofila și xantofila, rezultând zone total galbene sau albe. De asemenea VMDO a dus la reducerea lungimii paiului, înspicarea întârziată cu 1-4 zile, micșorarea numărului de inflorescențe, iar o parte din acestea au rămas sterile, datorită cantității reduse și viabilității joase a polenului, boabele infectate cu virus sunt mici și șiștave [21, 198]. Experimental, virusul poate fi transmis prin inoculare de suc, iar în natură – prin polen și semințe, în dependență de soi și tulpina virusului. La orz, virusul se transmite preponderent prin semințe [128]. Sunt relatate date despre însușirile mutagene ale VMDO, care a majorat rata mutațiilor genelor expresate în endospermul semințelor de porumb [248]. De asemenea, este demonstrată capacitatea VMDO de a majora frecvența schimburilor între cromatidele surori, inducerea polimorfismului proteinelor de rezervă, mărirea numărului de micronuclee și apariția de C-metafaze, devieri în conjugarea cromozomilor omologi și segregarea materialului genetic, precum și evidențierea rearanjamentelor genetice în meioză la orz, prin care este dovedit impactul genotoxic al acestui agent patogen la plantele gazdă [2, 4, 5, 33].

2.1.3. Proprietățile fizice și mutagene ale radiației gama

Radiațiile γ (gama) reprezintă unde electromagnetice, care au frecvența înaltă și cea mai mică lungime de undă, până la 1Å. Deși au lungime de undă similară cu a razelor X, se deosebesc de acestea prin sursa de emanație (razele X sunt emise de electroni, iar razele γ – de către nucleu) nu au limite minime de energie a fotonilor.

Radiațiile provoacă schimbări genetice direct proporționale cu sporirea cantității de energie transferată de sursă asupra țesuturilor vii.

Proprietatea principală a radiațiilor gama este de ionizare, acest proces având ca unitate de măsură expoziția, care în Sistemul Internațional (SI) se măsoară în Coulomb/kilogram sau în Röntgeni: $1 R = 2,58 \times 10^{-4} C/kg$. Doza de radiație absorbită de către țesuturile vii se măsoară în Gray (Gy), care reprezintă cantitatea de energie absorbită per kg.

În natură razele gama se produc în rezultatul descompunerii nucleelor atomice cu nivele energetice înalte, la interacțiunea particulelor subatomice cu nivel energetic ridicat, de exemplu la descărcări electrice, în fulgere sau în rezultatul interacțiunii cu radiațiile cosmice. Reacțiile nucleare cu degajare mare de energie sunt de obicei surse de radiații γ .

Artificial au fost create mecanisme de producere a radiațiilor γ , precum anihilarea electron-pozitron, fuziunea indusă, fuziunea și descompunerea primară.

Radiațiile gama se produc în procesul de dezintegrare a substanelor radioactive (de ex. cobalt-60 (^{60}Co), cesiu-137 (^{137}Cs), fiind purtătoare de energie ridicată. Comparativ cu izotopul ^{137}Cs , ^{60}Co emite radiații cu energia de 1,33 și 1,17 MeV, iar ^{137}Cs – 0,66 MeV, deci produce radioactivitate mai mare decât aceeași cantitate de ^{137}Cs [243].

În experiențele noastre, drept sursă de radiații γ s-a folosit izotopul radioactiv cobalt 60 (^{60}Co), care este un izotop sintetic, radioactiv, folosit frecvent grație perioadei sale scurte de înjumătățire. Razele γ , constituie radiații ionizante, astfel la trecerea printr-un țesut, au loc procese de excitare și ionizare (expulzarea electronilor de pe orbita atomilor și transformarea lor în ioni) în rezultatul cărora materialul genetic este afectat direct (ionizarea ADN-ului), fiind modificat ori distrus, sau indirect (radioliza moleculelor organice și apei), prin formarea de radicali liberi și peroxid de hidrogen, care apoi acționează asupra materialului ereditar [75, 151, 187, 243]. Radicalii liberi posedă în structura sa un electron neîmperecheat, foarte reactiv, care reacționează cu moleculele ADN-ului, cauzând deteriorări în structura moleculară. Numărul radicalilor liberi produși depinde de doza totală a radiației. S-a constatat că majoritatea leziunilor ale ADN-ului s-au format în urma mecanismului indirect de acțiune a razelor ionizante, deoarece apa constituie aproape 70% din compoziția celulei [75].

Radiațiile ionizante produc diferite tipuri de leziuni: rupturi monocatenare (*single-strand break* – SSB) sau bicatenare (*double-strandbreaks* – DSB) ale moleculei ADN-ului, o varietate de modificări ale bazelor azotate, situsuri AP (apurimidinice sau apurinice), legături încrucișate între ADN-ADN și ADN-proteină. De asemenea, ele pot cauza leziuni complexe cunoscute ca situsuri ADN deteriorate grupate cu non-DSB. Pe lângă aceste mutații, razele ionizante cauzează deteriorări oxidative ale bazelor azotate ale ADN-ului. Purinele și pirimidinele oxidate au

proprietatea de a se împerechea greșit sau sunt blocate de către ADN, ARN-polimeraze în timpul replicării și transcripției. Din bazele azotate modificate fac parte produsele fragmentării inelului imidazolic (formamidopirimidinele, FAPY) și 8-oxopurinele. Din acestea predomină formarea de 8-oxoG. S-a demonstrat că pe lângă împerecherea corectă cu citozina (C), 8-oxoG poate forma legături greșite cu adenina, rezultând transversii G-C → T-A. Toate aceste leziuni, dacă nu sunt reparate, pot conduce la aberații cromozomiale (deleții, translocații, inversii) și mutații punctiforme [151]. Prin urmare, toate radiatiile ionizante produc:

- efecte biologice primare în țesuturile prin care trec în urma expulzării electronilor, modificând sau distrugând o parte din materialul ereditar;
- efecte secundare, indirecte (radiochimice) prin transformarea apei în peroxid de hidrogen, care la rândul lor acționează asupra materialului genetic.

Radiațiile ionizante afectează celulele sub diferite forme: inhibă diviziunea celulară, produc ruperi la nivelul cromatidelor, cauzează modificări structurale la nivelul cromozomilor și moleculelor de acizi nucleici, provocând astfel diferite mutații.

2.2. Metode de cercetare

Plantulele obținute din semințele de orz sănătoase și iradiate cu doze de 100, 150 sau 250 Gy la faza de 2-3 frunzulițe, au fost infectate mecanic cu inoculum de VMDO. Ca sursă de infecție au servit frunzele ce prezentau simptome tipice acestui patogen, macerate ulterior într-un amestec de apă distilată cu particule mărunte de nisip.

2.2.1. Metode de iradiere și diagnostic virusologic materialului biologic

Semințele de orz au fost supuse iradierii gama cu dozele de 100, 150, 250 Gy la instalația gama RXM-V-20, sursa radiațiilor – ^{60}Co , 0,16 gr/sec.

Diagnosticul plantelor virus infectate și sănătoase a fost realizat prin procedeul de contrastare negativă [211]. În acest scop au fost utilizate diferite tipuri de țesuturi de la plantele analizate (fragmente de limb foliar, antere, semințe) din care a fost obținută prin macerare în apă distilată o masă omogenă. Maceratul se aplică pe o grilă microscopică cu peliculă de formvar sau colodiu. După contrastare cu soluție apoasă de acetat de uraniu 1%, preparatele au fost examinate în microscopul electronic prin transmisie EM 125 K.

2.2.3. Cultura in vitro

Principalele etape în inițierea culturii din embrioni imaturi și obținerea regeneranților

Inițierea culturilor de calus din embrioni imaturi reprezintă un procedeu etapizat cu asigurarea primordială a condițiilor aseptice în momentul inoculării explantelor, precum și în timpul cultivării până la faza regenerării plantulelor.

Prima etapă include colectarea și aseptizarea explantelor de embrioni imaturi. Spicele prelevate de la plantele donor au fost colectate la a 10-14-ea zi după polenizare și păstrate în frigider la 4⁰C timp de 5-7 zile. Semințele imature au fost spălate în apă de robinet cu adaos de 2-3 picături TWEEN 20, timp de 10-15 min cu clătire ulterioară în apă de robinet, apoi, imersate în alcool 70% în hotă cu flux laminar timp de 1 min și aseptizate în soluție diluată de hipoclorit de Na de 5,2% (1:1) pentru 15 minute cu clătire ulterioară în trei bai de apă distilată sterilă timp de 1 min fiecare. Embrionii imaturi au fost decupați de la endosperm la lupa binocular și sterilizați în soluție diluată de hipoclorit de Na 5,2% (1:1) – 5 min.

Pentru fiecare genotip au fost inoculați în trei repetiții câte 20 embrioni de 1-3 mm și plasați cu suprafața ce contactează cu scutelumul pe mediile de inițiere. Pentru inducerea calusului, eprubetele cu explante au fost menținute în camera de creștere la întuneric, temperatura 25-27⁰C, timp de 4 săptămâni. Au fost experimentate patru variante de medii de inițiere a calusului:

- (i) Murashige-Skoog, 1962 (MS) [192], suplimentat cu acid diclorfenoxiacetic (2,4 D – 3 mg/l);
- (ii) MSB₅D [218], cantitatea macro- și microelementelor – corespunzător mediului MS, concentrația vitaminelor – Gamborg et al., 1968 [93] (B₅), suplimentat cu auxina dicamba (3mg/l);
- (iii) MSB₅P – cantitatea macro- și microelementelor conform mediului de bază MS, concentrația vitaminelor – B₅, suplimentat cu auxina picloram (3mg/l);
- (iiii) B₅ [93], suplimentat cu acid diclorfenoxiacetic (2,4 D – 5 mg/l) și kinetină (5mg/l).

Ulterior, au fost selectate și utilizate două variante de medii optime pentru inducerea calusogenezei: (i) MS suplimentat cu acid diclorfenoxiacetic (2,4 D – 3 mg/l); (ii) MSB₅D suplimentat cu auxina dicamba (3 mg/l).

Proliferarea calusului s-a realizat pe medii de menținere MS și MSB₅D, suplimentate respectiv, cu 2,4 D (2 mg/l), dicamba (2 mg/l), 6-benzil-aminopurină (BAP) – 0,1 mg/l, AgNO₃ (3 mg/l). Înregistrarea proceselor de formare a calusului și urmărirea creșterii acestuia s-a înfăptuit după 2-4 zile de la inoculare (când s-au observat primele inițieri de calus) până la apariția regeneranților. Pentru menținerea viabilității culturii sunt obligatorii transplantarea periodică și pasarea fragmentelor de calus pe medii proaspete, lucrări care au fost efectuate la 3-4 săptămâni. Pentru fiecare explant s-a dus evidența numărului de replicașe suportate. În perioada desfășurării experiențelor s-au înfăptuit 5-6 pasaje.

După două luni de menținere a calusului pe mediul de inițiere și proliferare la întuneric, explantele cu calus au fost transferate pe mediul de regenerare pe care majoritatea au format somaclone fie prin organogeneză, fie prin embriogeneză.

Inducerea morfogenezei s-a realizat pe mediul de regenerare MS cu adaos de BAP (0,2 mg/l) și AgNO₃ (5 mg/l), iar creșterea și dezvoltarea ulterioară a regeneranților, pe mediul MS lipsit de hormoni, în condiții controlate de temperatură (25-27⁰C) și lumină (16/8 ore, lumină/întuneric). Plantele ce s-au format prin embriogeneză și au atins lungimea de 5-7 cm au fost adaptate la condiții *ex vitro*.

Regeneranții cu sistemul radicular bine dezvoltat au fost transferați pe substrat sol în calitate de răsad. Înainte de transfer s-a determinat înălțimea plantelor, numărul frunzulițelor, lungimea rădăcinilor. Clonele obținute (SC₀) au fost transferate în vase vegetative în sol dezinfectat, pregătit special, cu anumite proporții de sol, nisip și turbă, ulterior menținute în camera de aclimatizare în condiții controlate de temperatură. În scopul determinării procentului de aclimatizare a plantulelor s-a dus evidența plantelor ce au supraviețuit și au început să crească. Clonele fără rădăcini sau cu sistemul radicular slab dezvoltat au fost transferate pe mediu de înrădăcinare MS, 1/2 macro-elemente, suplimentat cu acid naftil acetic (ANA). Mediile de cultură de inițiere a calusogenezei, morfogenezei și regenerării au fost modificate prin adăugarea: CuSO₄ – 1,25 mg/l, m-Inositol – 250 mg/l, hidrolizat de cazeină – 1g/l, B₁ – 1mg/l, zaharoza – 20 mg/l.

Clonele înrădăcinate după adaptare la condiții *ex vitro* au fost transferate în seră pentru a obține semințe. La plantele ce au supraviețuit s-a apreciat capacitatea de formare a spicelor fertile. Pentru fiecare clonă au fost examinate aspectele morfologice, în scopul evidențierii variațiilor apărute, la care a fost determinată frecvența de apariție în dependență de originea regeneranților.

Frecvența calusogenezei a fost estimată în baza numărului explantelor cu răspuns calusogenetic raportat la numărul total de explante inoculate, iar frecvența morfogenezei și regenerării – a numărului de explante cu calus morfogen și, respectiv, regenerativ la numărul total de explante cu calus. Intensitatea regenerării s-a calculat conform numărului de plante per calus regenerativ.

2.2.4. Studiul citologic al diviziunilor mitotice în radicule și calusului morfogen

Pentru analiza citogenetică a mitozelor în radiculele de la plantele donor au fost utilizate boabe de orz ale soiurilor Galactic și Sonor, sterilizate superficial (cu permanganat de potasiu), după germinare în vase Petri, în termostat la 25⁰C timp de 2-3 zile. Din radiculele, care au atins lungimea de 1-1,5 cm, au fost colectate zonele terminale (meristemice) cu mărimea de aproximativ 0,5 cm și plasate în soluția de fixare. Probele de calus prelevate de la explantele de embrioni imaturi a s. Galactic și Sonor au fost fixate la diferite termene de cultivare (2, 4, și 8

zile). Pentru fiecare variantă au fost fixate câte 10-15 radicule și 108 probe de calus în soluție de alcool etilic: acid acetic (3:1).

Probele citologice au fost pregătite conform metodei Паушева З.П. (1988), cu unele modificări. Astfel, după fixarea mostrelor de calus ele au fost spălate în alcool etilic de 70%, tăiate mărunt și menținute în alaun de fier 7% timp de 30 minute, la temperatura de 28⁰ C, cu clătire ulterioară în apă curgătoare timp de 1 oră 30 min. Apoi, materialul a fost hidrolizat și macerat preventiv cu pectinază timp de 1 oră 30 min la temperatura de 28⁰ C, după care spălat cu apă distilată 20 min. Colorarea a fost efectuată în soluție de carmină acetică pe durata a 24 ore, iar decolorarea – în soluție de acid acetic 45% [304].

Preparatele temporare au fost pregătite prin metoda *squash*, plasând și strivind vârful radiculelor și bucățelelor de calus pe lame de sticlă. Celulele meristemice și calusale au fost studiate la microscopul EUROMEX FE 2025.

Estimarea impactului VMDO și razelor gama asupra indicilor citogenetici la explantele de calus a fost realizată în baza determinării cotei celulelor cu aberații care reprezintă rata celulelor cu aberații din totalul celulelor studiate în metafaza, anafaza și telofaza diviziunii mitotice la varianta dată și spectrul de aberații – numărul unui anumit tip de restructurare evidențiat la fiecare 100 celule studiate în metafaza, anafaza sau telofaza mitotică.

2.2.5. Evaluarea biochimică a explantelor de calus și somaclonele de orz

Aprecierea polimorfismului peroxidazelor din explantele de calus și regeneranți (SC₀)

Pentru extragerea peroxidazelor au fost luate probe din explante de calus morfogen sau nemorfogen și frunzulițe tinere ale regeneranților (SC₀) obținuți din embrioni imaturi iradiați și/sau infectați cu VMDO.

Aprecierea polimorfismului peroxidazelor a fost realizată conform [251]. Pentru extracție a fost utilizată soluția tampon Tris-HCl, clorură de magneziu și zaharoză, pH 8,3. Frunzulițele juvenile ale regeneranților sau fragmentele de calus au fost macerate în soluție tampon (0,1 M) în raportul 2:1, apoi extractul a fost centrifugat timp de 15 min la 8000 rot/min. Electroforeza a fost desfășurată în plăci verticale în gel de poliacrilamidă la curent continuu de 20 mA timp de 4-6 ore.

Gelurile au fost colorate în soluție tampon de acetat (pH 4,6) suplimentată cu benzidină R (0,2%) și peroxid de hidrogen (10%). Mobilitatea relativă a izoformelor (R_f) a fost calculată după linia în gel, conform formulei $R_f = r_i \cdot R^{-1}$, unde r_i este distanța de la start până la poziția izoformei, iar R – distanța de la start până la linia de ieșire creată de bromfenol.

Analiza polimorfismului proteinelor de rezervă (hordeinelor) la somaclonele de orz

Pentru extracția proteinelor de rezervă boabele au fost prelevate randomizat de la formele de orz

obținute de la s. Galactic: SC₂-165, SC₂-124 (*In vitro*), SC₂-148 (100 Gy), SC₂-20 (150 Gy); SC₂-3 (250 Gy), SC₂-42, SC₂-67 (VMDO); s. Unirea: formele SC₂-668 (*In vitro*), SC₂-622, SC₂-623 (100 Gy), plante cu inflorescență ramificată și neramificată, SC₂-672 (250 Gy), SC₂-686 (VMDO); s. Sonor: SC₃-11,5; SC₃-11,8; SC₃-11,11 (VMDO).

Cariopsele mature de orz au fost cântărite, câte 1 g pentru fiecare formă selectată, decorticate cu ajutorul bisturiului și măcinate în mojar până la făină. Frația de proteină solubilă în care a fost obținută prin extracția cu bufer fosfat 0,1 M, pH 6,8 ce conține 5 ml NaCl. Extracția hordeinelor a fost executată în soluție alcoolică de 80% timp de 3,5 ore conform [78]. Electroforeza a fost desfășurată în geluri verticale poliacrilamidice de dodecilsulfat de sodiu (SDS-PAGE) după Shewry și coautorii [241] la curent continuu de 20 mA. După fixare în acid acetic de izopropanol - acid acetic - apă distilată (1:1:8) gelurile au fost colorate în Coomassie blue R-250. Apoi, a fost efectuată spălarea gelurilor pentru decolorarea fonului. Drept marcheri moleculari au servit proteinele standard ale setului Fermentas SMO061 170; 130; 95; 72 (roșu); 55; 43; 34; 26; 17; 10 (verde).

2.2.6. Evaluarea biometrică a plantelor de orz de primăvară

Plantele de orz – somaclonele (SC₁-SC₃), descendenții (M₁-M₃), somaclonele mutante (SC₁-SC₄) și formele mutante (M₃-M₇) au fost analizate după următorii parametri biomorfologici: aspectul morfologic și caracterele ce determină direct sau indirect productivitatea: talia plantei (TPL), lungimea spicului principal (LSP) și a ultimului internod (LUI), numărul de spiculețe (NSP) și boabe per spic principal/plantă (NBSP, NBPL), numărul fraților fertili și internodurilor (NFF, NI), greutatea boabelor per spic principal/plantă (GBSP, GBPL) și masa la 1000 boabe (MMB).

2.3. Prelucrarea statistică a datelor

2.3.1. Metode genetico-statistice

În baza testului ANOVA, conform formulelor indicate în tabelul 2.1, au fost calculate varianța genotipică și fenotipică [86], coeficientul variației genotipice și fenotipice [244], avantajul genetic, coeficientul de eritabilitate în sens larg.

Valorile coeficientului de variație genotipică (CVG) și a coeficientului de variație fenotipică (CVF) au fost clasificate ca valori joase (< 10%), medii (10-20 %) și înalte (> 20%) [245]. Indicii eritabilității au fost clasificați în indici mici (< 30%), medii (30-60%) și mari (> 60%) [28]. Valorile avantajului genetic (AG, %) au fost clasificate în trei categorii: mic (< 10%), moderat (10 -20%) mare (> 20%) [87]. De asemenea pentru stabilirea gradului de asociere dintre caracterele evaluate a fost determinat coeficientul de corelație Person (r), valorile

căruia au fost interpretate conform [65], unde $r < 0,3$ indică o corelație slabă, $r = 0,3-0,7$ – un grad de dependență mediu și $r > 0,7$ – dependență puternică.

Datele au fost prelucrate statistic, utilizându-se pachetul STATGRAPHICS Plus (versiunea 5.1). Au fost analizați următorii parametri statistici: valoarea medie și eroarea standard, coeficientul de variație (CV, %).

Tabelul 2.1. Formule pentru estimarea parametrilor genetici

Formule	Semnificația abrevierilor parametrilor din formule	
$V_g = \frac{MPG - EMP}{r}$	Vg – varianța genotipică MPG – media pătratică genotipică a parametrului EMP – eroarea reziduală sau varianța mediului (V_e)	(2.1)
$V_{ph} = V_g + \frac{\sqrt{V_e}}{r}$	Vph – varianța fenotipică Vg – varianța genotipică Ve – eroarea reziduală sau varianța mediului (EMP)	(2.2)
$CVG(\%) = \frac{\sqrt{V_g}}{\bar{x}} * 100$	CVG – coeficientul de variație genotipică Vg – varianța genotipică	(2.3)
$CVF(\%) = \frac{\sqrt{V_{ph}}}{\bar{x}} * 100$	CVF – coeficientul de variație fenotipică Vph – varianța fenotipică	(2.4)
$h^2 = \frac{V_g}{V_{ph}}$	h^2 – heritabilitatea în sens larg $h^2\%$ – heritabilitatea în sens larg în %	(2.5)
$h^2\% = (V_g / V_{ph}) * 100$	Vph – varianța fenotipică Vg – varianța genotipică	(2.6)
$AG = k\sqrt{V_{ph}} * h^2$	AG – avantaj genetic k – coeficientul de selecție ($k=2,06\%$), semnificația 5% Vph – varianța fenotipică h^2 – heritabilitatea în sens larg	(2.7)
$AG\% = \frac{AG}{\bar{x}} * 100$	AG – avantaj genetic în % r – numărul de observații per variantă \bar{x} – media generală a caracterului	(2.8)

Contribuția procentuală a sursei de variație (PI, %) a fost calculată în baza rezultatelor testului ANOVA după formula: $PI = SP / Total * 100\%$.

Pentru aprecierea diferențelor semnificative dintre variante s-a aplicat testul Student. Reprezentarea grafică, tabelară și textuală a fost efectuată cu aplicarea programelor Microsoft Word, Excel în mediul Windows XP.

Concluzii la Capitolul 2

- Inducerea variabilității genetice la orzul de primăvară, cunoscut ca o cultură recalcitrantă, a fost realizată la 3 soiuri Galactic, Sonor și Unirea, iar pentru suplimentarea variațiilor au fost aplicate cultura *in vitro*, mutageneza fizică (3 doze a razelor gama) și infecția virală.
- În calitate de factor biotic în scopul lărgirii spectrului de variații a fost aplicată infecția virală, cauzată de virusul mozaicului dungat al orzului, pentru identificarea căruia a fost aplicat procedeul de contrastare negativă a microscopiei electronice.
- Variațiile la plantele de orz induse de cultura *in vitro*, razele gama separat sau în asocieră cu infecția virală au fost apreciate la nivel citologic, fenotipic și biochimic, fiind confirmate prin indicii varianțelor genotipică și fenotipică.
- Veridicitatea datelor obținute, precum și contribuția virusului, razelor gama și culturii *in vitro* în generarea variațiilor au fost confirmată cu ajutorul metodelor genetico-statistice și pachetului de programe STATGRAPHICS Plus 5.1.

3. OBȚINEREA SOMACLONELOR (SC₀) DE ORZ PRIN MORFOGENEZĂ INDIRECTĂ ÎN REZULTATUL INFLUENȚEI VIRUSULUI MOZAICULUI DUNGAT AL ORZULUI ȘI A RAZELOR GAMA

3.1. Optimizarea și selectarea mediilor nutritive pentru inițierea calusogenezei, morfogenezei și regenerării somaclonelor de orz din embrioni imaturi

Procedeul de obținere a regeneranților prin morfogeneză indirectă este un proces complex care depinde în mare măsură de mai mulți factori, printre care genotipul plantei [218], tipul explantului [259] și compoziția mediului de cultură [70]. Este cunoscut faptul că chiar în cadrul aceleiași specii, diferite soiuri reacționează specific la cultivarea *in vitro* [7]. Apare necesitatea de optimizare a mediilor de cultură deja existente – MS, B5 etc. [69], de a elabora un protocol pentru obținerea unui număr mai mare de somaclone la orzul de primăvară (*Hordeum vulgare* L.) și anume la soiurile Sonor, Galactic, Unirea.

Dediferențierea celulelor, care încep apoi să se dividă transformându-se într-o masă de celule de tip parenchimatic, depinde de condițiile cultivării, componența hormonală a mediului, genotip, natura explantului, vârsta și starea fiziologică a plantei donor [52].

În majoritatea cercetărilor, în calitate de inductor al procesului de calusogeneză și embriogeneză este relatată auxina 2,4 D, dar sunt puține date despre utilizarea altor tipuri de auxine și citokinine. Spre exemplu au fost studiate efectele diferitelor combinații și concentrații de hormoni: 2,4 D, dicamba, 2,4,5 T, picloram [58, 136], 2,4 D, dicamba, picloram [56], 2,4 D și picloram [41].

Aceasta ne-a determinat de a utiliza medii de cultivare modificate și suplimentate cu auxinele care au un potențial de intensificare a procesului de inducere a calusogenezei. Astfel, în rezultatul experimentării a patru variante de medii de inițiere a calusului: I) MS [192], suplimentat cu acid diclorfenoxiacetic (2,4 D) – 5 mg/l, kinetină – 5 mg/l; II) MSB₅D [218], suplimentat cu auxina dicamba – 3 mg/l; III) MSB₅P [218], suplimentat cu auxina picloram – 3 mg/l; IV) B₅ [93], suplimentat cu acid diclorfenoxiacetic (2,4 D) – 5 mg/l, kinetină – 5 mg/l, s-a observat formarea a trei tipuri de calusuri în dependență de mediu: I) calus moale, apos, transparent, de culoare albă (MSB₅D, MSB₅P); II) calus uscat, tare, fărâmicios, de culoare gălbuie (MS); III) calus moale, apos, de culoare brună (B₅).

La transferarea ulterioară pe mediul de menținere calusurile de pe mediile: MSB₅D, MSB₅P și MS au format zone rigide, morfogene și embriogene. Majoritatea calusurilor de pe

mediul B₅ s-au brunificat și necrotizat, iar cele rămase s-au dovedit a fi nemorfogene (Figura 3.1).

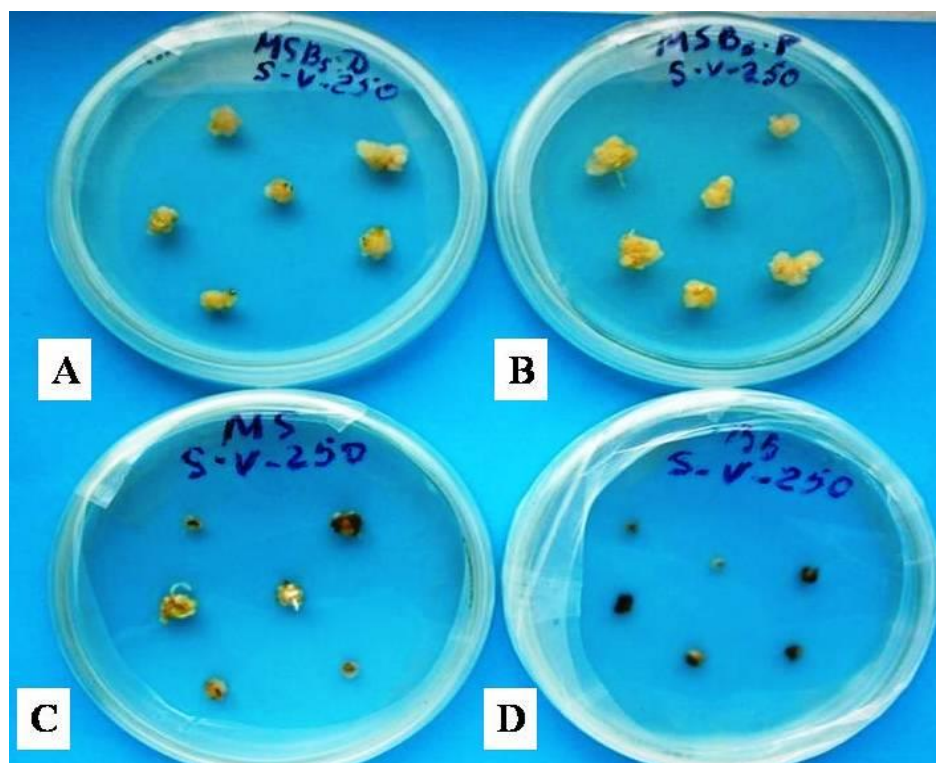


Fig. 3.1. Aspectul explantelor cu calus pe diferite medii de cultivare:

A – MSB₅D; B – MSB₅P; C – MS; D – B₅

Rolul mediului de cultivare a fost confirmat prin analiza statistică a frecvenței calusogenezei a explantelor pe cele patru medii de inițiere a calusului. Indicii valorii medii a frecvenței calusogenezei a embrionilor imaturi la cele trei genotipuri au variat preponderent, în dependență de genotip. Aceste valori au oscilat la probele martor de la 3,31% (B₅) la 33,33% (MS) pentru s. Galactic; 44,45% (MSB₅D) – 77,80% (B₅) la s. Unirea și de la 66,67% (B₅) – 100% (MSB₅D) la s. Sonor. Valori maxime s-au atestat la s. Sonor - 100% (MS, MSB₅D, B₅); s. Unirea – 75,00-100% (MS, MSB₅D, B₅) și s. Galactic – 40% (MS). Astfel, se relevă influența genotipului asupra numărului explantelor cu răspuns pozitiv (Tabelul 3.1).

Luând în considerare atât valorile frecvenței calusogenezei, cât și cele ale capacității de morfogeneză au fost selectate două variante de medii – MS, suplimentat cu 2,4 D (3 mg/l) și MSB₅D, completat cu dicamba (3 mg/l).

Analiza datelor din literatură relatează necesitatea de a modifica conținutul unor substanțe din mediile de bază (MS). Mărirea concentrației de CuSO₄, tiaminei (B₁), m-Inositol și suplimentarea cu hidrolizat de cazeină (1g/l) la toate etapele de cultivare intensifică procesul de calusogeneză și regenerare a plantelor de orz [69, 70, 56, 291]

Tabelul 3.1. Frecvența calusogenezei din embrionii imaturi prelevați de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO la orzul de primăvară pe mediile nutritive analizate ($\bar{x} \pm Es$)

Genotip /varianta		MS	MSB ₅ D	MSB ₅ P	B ₅
Sonor	Martor	85,0±7,63	100,0±3,30	75,0±2,50	66,67±17,64
	100 Gy	21,67±1,67**	63,89±7,34*	52,78±12,10**	33,33±8,33
	250 Gy	18,33±4,40**	100,0±3,33	11,11±0,00	77,78±11,11
	Virus (V)	33,33±3,33**	51,66±13,01	83,33±16,67	83,33±16,67
	V+100 Gy	11,11±0,00*	27,77±4,00	3,23±0,03	3,23±0,33
	V+250 Gy	53,33±6,66*	100,0±3,33	91,67±8,33	88,89±11,11
Galactic	Martor	33,33±6,67	20,0±5,00	17,8±1,10	3,31±0,05
	100 Gy	3,23±0,33*	17,73±7,26	8,24±2,34*	5,97±2,57*
	250 Gy	3,30±0,05*	28,33±6,00	3,23±0,03***	3,18±0,07
	Virus (V)	33,33±3,33	73,33±6,67**	40,00±11,54	55,00±10,41
	V+100Gy	71,66±6,01*	30,00±10,00	45,00±16,07	33,33±8,33
	V+250Gy	6,70±1,93*	6,73±1,93	23,33±3,33	50,00±5,77
Unirea	Martor	75,00±3,33	44,45±11,12	47,23±12,11	77,80±11,10
	100 Gy	66,67±17,63	65,00±5,00	94,60±5,50*	46,67±3,33
	250 Gy	30,55±2,77**	46,67±3,33	50,00±5,77	33,33±8,33*
	Virus (V)	26,66±6,67*	20,00±5,77	33,33±6,67	20,0±3,33**
	V+100Gy	33,33±3,33***	40,00±10,00	35,00±5,00	6,85±1,91**
	V+250 Gy	3,30±0,05***	53,33±3,33	31,11±5,88	17,77±7,77*

*; **; *** – diferențe semnificative pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$, respectiv.

Notă: \bar{x} – media aritmetică.

Mediile tatonate au fost suplimentate cu m-Inositol (250 mg/l), hidrolizat de cazeină (1g/l), diferite concentrații pentru CuSO₄ (1,25 mg/l), B₁(1 mg/l), zaharoză (20 mg/l). Inducerea morfogenezei și obținerea somaclonelor s-a efectuat pe mediul de regenerare MS la care s-au adăugat BAP (0,2 mg/l) și AgNO₃ (5 mg/l), iar creșterea, dezvoltarea și micropropagarea regeneranților, s-a executat pe mediul MS lipsit de hormoni. Somaclonele care s-au format prin embriogeneza și au atins lungimea de 5-7 cm, au fost transferate în sol. Clonele fără rădăcini au fost transferate pe mediul de înrădăcinare. Adaptarea somaclonelor a fost efectuată în camera de aclimatizare, în condiții controlate de lumină și temperatură.

Cota explantelor aclimatizate a atins valoarea de 86% și a fost dependentă de mai mulți factori (variantă, conținutul substratului, condițiile de creștere) însă influența maximă a revenit genotipului.

În rezultat au fost obținute somaclone cu spice fertile, sterile, slab dezvoltate, nedezvoltate sau fără spic. Impactul maxim asupra dezvoltării spicului a fost observat la variantele cu virus și radiație, fie separat sau în combinație. Prin urmare, au fost optimizate mediile de cultură pentru inițierea calusogenezei, organogenezei și embriogenezei din explante sănătoase, infectate și iradiate. De asemenea, au fost selectate două medii de inițiere pe care cota explantelor cu calus a atins valori de 90-100%, dar a manifestat totuși o dependență genotipică.

În rezultatul aprecierii condițiilor de regenerare s-a atestat că adăugarea citochininei BAP (0,2 mg/l) și AgNO₃ (5 mg/l) a avut o influență pozitivă asupra regenerării somaclonelor de orz.

În cadrul cercetărilor efectuate a fost elaborat algoritmul de obținere a somaclonelor de orz din embrionii imaturi infectați cu VMDO și iradiați cu razele gama (Figura 3.2).



Fig. 3.2. Obținerea regeneranților prin morfogeneză indirectă.

Pentru realizarea cu succes a acestui protocol, au fost optimizate mediile de cultură la diferite etape de cultivare prin modificarea mediilor de bază MS, suplimentarea cu diferite tipuri și concentrații de fitohormoni, utilizarea substanțelor ce intensifică procesele de calusogeneză, morfogeneză și regenerare a plantulelor de orz.

3.2 Impactul virusului mozaicului dungat al orzului solitar sau în complex cu radiația gama asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare a somaclonelor la orz

Prezența variațiilor somaclonelor la regeneranții obținuți prin morfogeneza indirectă este determinată de reacția plantei la stres. Este demonstrat faptul, că de rând cu cultura de țesuturi *in vitro*, razele ionizante și infecția virală sunt potențiali factori de stres care induc schimbări moleculare, genetice și epigenetice în genomul vegetal [99]. Analiza rezultatelor din literatura de specialitate despre efectul mutagen al factorilor sus-menționați ne-a determinat să studiem acțiunea VMDO și a razelor gama la toate etapele de obținere a somaclonelor de orz prin morfogeneză indirectă [8, 10, 11, 17, 18, 20]. În acest scop, embrionii imaturi de orz (Galactic,

Sonor, Unirea) au fost prelevați de la donori sănătoși, supuși iradierii gama (100 Gy, 150 Gy, 250 Gy) și infecției virale solitar sau în complex.

În rezultatul cultivării embrionilor imaturi pe mediile de cultură optimizate, inițieri de calus s-au observat la a 2-4 zi de la inoculare la toate variantele analizate (Figura 3.3).

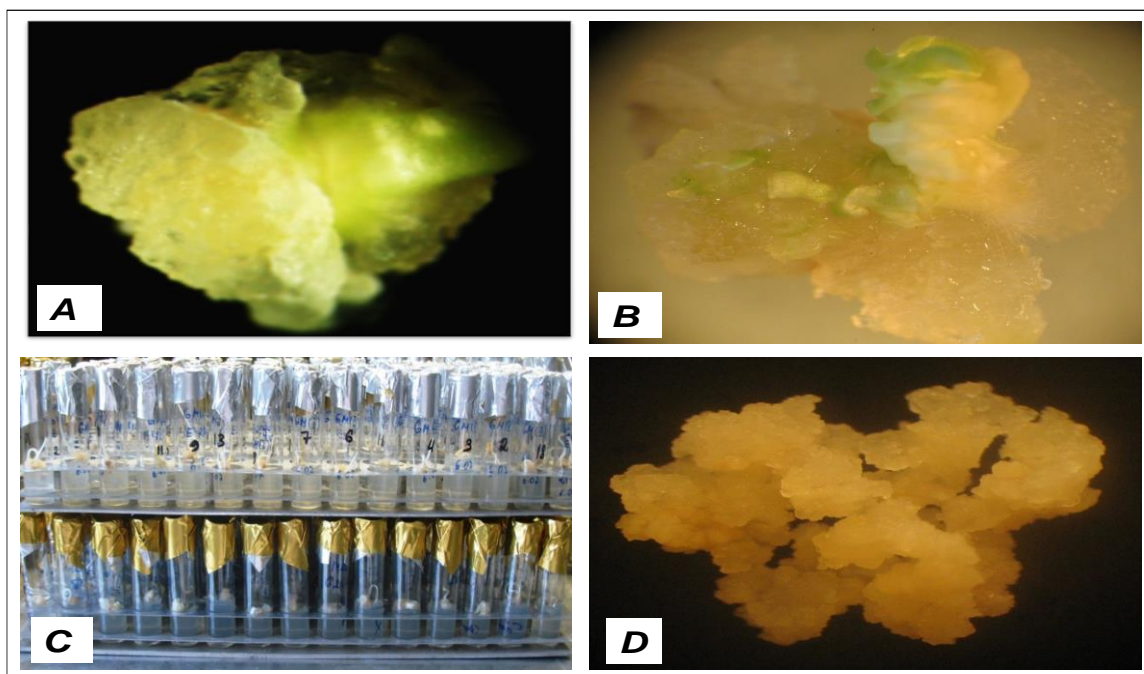


Fig. 3.3. Inducerea calusului din embrioni imaturi pe mediile de cultură optimizate: A - formarea calusului, ziua a 3-a de la inoculare (aspect sub lupa binocular); B - calus alb-gălbui, moale, apos, transparent (MSB₅D); C - inducerea calusului pe mediile de inițiere (aspect general); D - calusuri de culoare gălbuie, fărâmișos, neembriogen cu proliferare intensivă.

În dependență de varianta experimentală și mediul nutritiv utilizat, s-au format diferite tipuri de calus: de culoare alb-gălbui, compact, tare, netransparent (MS) și calus alb-gălbui, moale, apos, transparent (MSB₅D). Pe ambele medii, într-un procent mai mic s-au format calusuri de culoare gălbuie, fărâmișos, neembriogen cu creștere intensivă.

Cercetările au evidențiat de asemenea o eterogenitate a calusului, care nu ne-a permis să realizăm o clasificare în dependență de starea proliferativă a acestuia. Astfel, calusul apos, moale, aparent transparent, neembriogen, fiind transferat pe mediu de menținere formează zone tari embriogene și invers (Figura 3.3 B, D).

Infecția virală și razele gama, separat sau în complex nu au influențat inițierea procesului de calusogeneză, însă au indus schimbări asupra cotei explantelor cu calus. Valoarea medie a frecvenței calusogenezii embrionilor imaturi inoculați pe mediile optimizate la varianta martor a celor trei genotipuri a variat de la 91,91% (MS) – 92,88% (MSB₅D) la *s. Galactic*; 92,90% (MSB₅D) – 93,33% (MS) pentru *s. Sonor* și *s. Unirea* la 100% (MS, MSB₅D) (Tabelul 3.2).

Tabelul 3.2. Frecvența calusogenezei din embrionii imaturi de orz prelevați de la donori iradiați și /sau infectați cu VMDO pe medii de cultură optimizate ($\bar{x} \pm Es$)

Genotip	Varianta	MS	MSB ₅ D
Sonor	Martor	93,33±1,67	92,90±1,75
	100 Gy	94,90±0,43	93,41±1,71
	150 Gy	95,06±0,17	94,82±0,41
	250 Gy	87,14±1,43*	65,09±0,87***
	VMDO	67,17±0,51***	77,74±1,73**
	VMDO+100 Gy	75,92±0,92*** ++	50,79±2,24*** +++
	VMDO+150 Gy	90,16±0,16+++	76,87±2,07**
	VMDO+250 Gy	86,46±1,56* +++	84,68±0,70* +
Unirea	Martor	100,00±0,00	100,00±0,00
	100 Gy	55,00±2,88**	90,31±0,16***
	150 Gy	77,66±4,54**	87,20±0,84**
	250 Gy	71,14±1,98**	84,18±0,48***
	VMDO	81,66±1,66*	70,86±0,28***
	VMDO+100 Gy	55,71±0,71*** +++	73,71±0,81*** +
	VMDO+150 Gy	63,33±1,67** ++	82,04±1,08** +++
	VMDO+250 Gy	78,33±1,67**	74,56±0,44*** ++
Galactic	Martor	91,91±1,84	92,88±1,71
	100 Gy	91,13±1,66	91,74±1,74
	150 Gy	85,11±1,25*	95,89±0,06
	250 Gy	86,67±3,33	93,63±3,19
	VMDO	92,45±1,48	95,23±2,38
	VMDO+100 Gy	93,55±2,22	91,11±2,22
	VMDO+150 Gy	95,00±2,87	94,63±0,10

*, **, *** – diferențe semnificative pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$ (în comparație cu martorul)
 +, ++, +++ – diferențe semnificative pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$ (în comparație cu VMDO).
 Notă: \bar{x} – media aritmetică, Es – eroarea standard.

La variantele supuse infecției virale și radiației gama s-a înregistrat diminuarea valorii medii a capacității calusogenezei în comparație cu martorul. Frecvența calusogenezei pentru genotipurile Sonor și Unirea, la explantele infectate cu VMDO s-a redus cu 16,32 - 29,14%, în dependență de mediu de cultură, datele fiind statistic semnificative. Indicii frecvenței calusogenezei pentru genotipul Unirea, la explantele iradiate (100 Gy, 150 Gy, 250 Gy) a variat în dependență de mediul de cultură și doza radiației, veridicitatea deosebirilor fiind confirmate statistic pentru ambele medii. La explantele iradiate cu doza de 100 Gy s-a constatat micșorarea valorii medii cu 9,69% (MSB₅D) și 45% (MS) în comparație cu martorul.

Pentru mediul MS ($P \leq 0,01$) la dozele de 150 - 250 Gy, reducerea frecvenței calusogenezei a constituit 22,34% și 28,86%, iar pentru mediul MSB₅D ($P \leq 0,01$; $0,001$) – 12,8% la 150 Gy și 15,82% la 250 Gy, în comparație cu varianta martor. Capacitatea de calusogeneză a genotipurilor Galactic și Sonor a fost diminuată semnificativ ($P \leq 0,05$) la 150 Gy cu 7,39% și la 250 Gy – cu 6,63% pentru mediul MS, comparativ cu variantele netratate. Influența infecției

virale în combinație cu radiația gamma asupra ratei calusogenezei la soiurile Sonor și Unirea, a fost determinată de doza radiației și mediul nutritiv utilizat. Astfel, media calusogenezei pentru genotipul Sonor, la varianta VMDO + 100 Gy, s-a micșorat cu 45,32% (MSB₅D) și 18,65% (MS), iar la varianta VMDO + 250 Gy s-a redus cu 8,84% (MSB₅D) și 7,36% (MS), în comparație cu martorul. Pentru genotipul Unirea, această valoare, la varianta VMDO + 100 Gy s-a diminuat cu 44,29% (MS) și 26,29% (MSB₅D), iar la varianta VMDO + 250 Gy a scăzut cu 21,67% (MS) și 25,44% (MSB₅D) în comparație cu controlul.

Astfel, s-a înregistrat reducerea efectului asupra frecvenței calusogenezei a infecției virale în complex cu razele gama odată cu mărirea dozei de radiație, datele fiind confirmate statistic. La s. Galactic, virusul în combinație cu radiația a influențat nesemnificativ asupra indicilor respectivi.

Analiza comparativă a efectului virusului solitar și în complex cu radiația gama a atestat că razele gama au atenuat efectul negativ al infecției virale asupra calusogenezei la genotipul Unirea (MS) cu 33,46 % (100 Gy), 73,74% (250 Gy), 87,87% (150 Gy) și cu 12,69 % (250 Gy), 38,36 % (150 Gy) pentru mediul MSB₅D.

Calusurile formate, în funcție de mediul utilizat au format centre morfogene și regenerat plante prin organogeneză (formarea primordiilor foliare, rădăcini etc.) sau embriogeneză somatică (generarea embrionilor somatici). Astfel, frecvența morfogenezei reprezintă numărul de explante cu calus morfogenetic din numărul total de explante cu calus. Pentru intensificarea formării structurilor regenerative verzi și mărirea numărului de somaclone calusurile obținute au fost transferate pe medii de menținere optimizate (Figura 3.4).

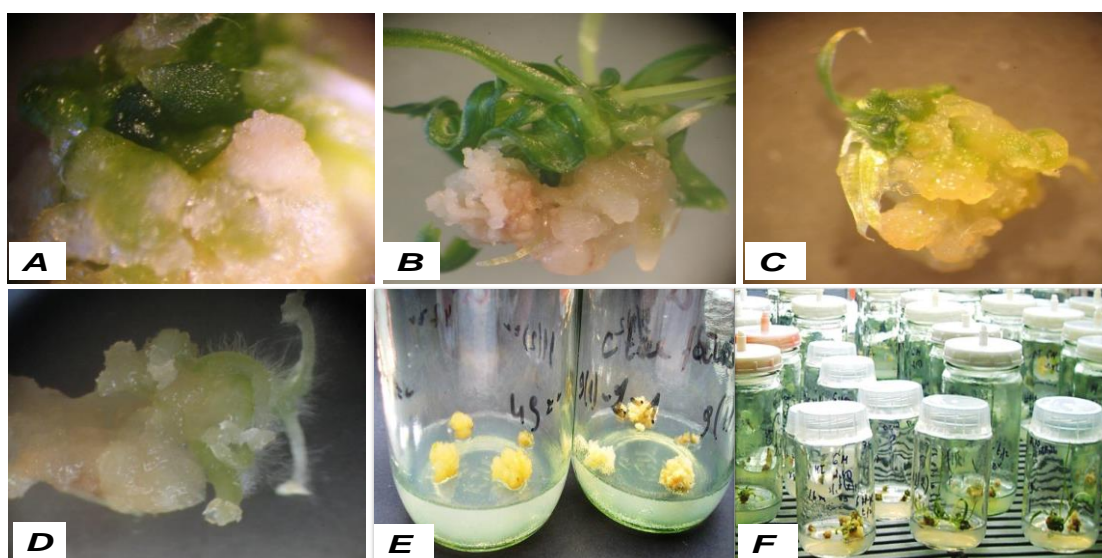


Fig. 3.4. Proliferarea calusurilor și inducerea morfogenezei: A – calus cu centre morfogene; B – regenerare prin embriogeneză; C – formarea primordiilor foliare; D – inițierea rizogenezei; E – proliferarea calusurilor pe medii de menținere; F – inițierea morfogenezei pe medii de regenerare.

Influența razelor gama asupra ratei de morfogeneză a fost determinată de doza radiației și mediul de menținere utilizat. La variantele iradiate a genotipurilor analizate (100 Gy, 150 Gy, 250 Gy) pentru MS s-a stabilit scădere valorii frecvenței morfogenezei pentru ambele medii și atenuarea efectului negativ cu 10,26-33,80% în paralel cu mărirea dozei de radiație în comparație cu varianta martor (Tabelul 3.3).

Astfel, iradierea gama a micșorat cota de calusuri morfogene de la 29,33% (100 Gy) până la 14,98% (250 Gy) la s. Sonor. La s. Unirea acest indice a variat de la 7,43% (250 Gy) până la 17,69% (100 Gy) și pentru s. Galactic: 9,03% (250 Gy) – 42,90% (100 Gy), diferențele fiind semnificative.

Evaluarea comparativă a impactului infecției virale și razelor gama (100 Gy) asupra procesului de morfogeneză a pus în evidență acțiunea mai accentuată a razelor gama de 1,3-4,7 ori la toate soiurile analizate cu excepția s. Unirea (MS) și s. Galactic (MSB₅D).

Tabelul 3.3. Frecvența morfogenezei a explantelor de calus orz obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO ($\bar{x} \pm Es$)

Genotip	Varianta	MS	MSB ₅ D
Sonor	Martor	89,27±0,19	98,15±1,85
	100 Gy	63,09±0,32***	78,91±0,64***
	150 Gy	70,74±0,74***	73,67±0,80***
	250 Gy	75,90±1,84**	69,03±1,37***
	VMDO	80,63±1,41**	81,57±0,78**
	VMDO+100 Gy	49,99±1,92*** +++	70,47±4,08**
	VMDO+150 Gy	67,24±1,28*** +++	89,08±2,13* +
	VMDO+250 Gy	50,98±0,98*** +++	90,29±1,74* +
Unirea	Martor	77,06±1,51	91,67±1,67
	100 Gy	63,43±1,92**	67,83±0,59***
	150 Gy	70,61±8,71	57,65±0,75***
	250 Gy	71,33±1,18*	45,70±2,97***
	VMDO	61,27±1,23**	69,44±2,78**
	VMDO+100 Gy	35,35±1,01*** +++	46,64±0,27*** ++
	VMDO+150 Gy	73,50±5,60	22,60±6,09*** ++
	VMDO +250 Gy	61,80±3,02*	44,49±5,09*** +
Galactic	Martor	50,88±0,88	36,32±1,60
	100 Gy	29,05±1,27***	24,52±2,48*
	150 Gy	42,45±1,27**	31,33±1,13
	250 Gy	46,29±0,93*	32,67±1,73
	VMDO	33,29±1,17***	21,92±9,03**
	VMDO+100 Gy	35,67±1,17***	22,09±0,44**
	VMDO+150 Gy	31,98±1,74***	17,08±2,32**

*, **, *** – diferențe semnificative pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul); +, ++, +++ – diferențe semnificative pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu VMDO).

Notă: \bar{x} – media aritmetică, Es – eroarea standard.

Utilizarea virusului în complex cu razele gama a intensificat efectul negativ asupra cotei explantelor cu răspuns morfogen în comparație cu acțiunea fiecărui factor separat, la toate genotipurile evaluate, cu excepția s. Sonor (MSB₅D) și s. Galactic (MS), la care efectul solitar al radiației a fost mai puternic [18].

Dezvoltarea plantulelor din centrele morfogene ale explantelor de calus, pe medii de regenerare optimizate (Figura 3.5), a avut loc fie prin organogeneză, fie prin embriogeneză, printre care au fost atestate și plante cu mutația *albino*.



Fig. 3.5. Dezvoltarea plantulelor de orz pe medii de regenerare optimizate.

Studiul comparativ între indicii frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării la genotipurile evaluate a evidențiat că valorile frecvenței regenerării sunt de 1,2 - 5,9 ori mai joase, la varianta martor și variază în dependență de genotip și mediu de cultură .

Valoarea medie a ratei de regenerare a explantelor de calus menținute pe mediile de regenerare la cele trei soiuri, varianta control, a atins valori de la 30,16% (MSB₅D) – 41,48% (MS) la s. Galactic; 18,72% (MSB₅D) – 27,94% (MS) pentru s. Sonor și 26,67% (MSB₅D) – 31,94% (MS) la s. Unirea (Tabelul 3.4).

VMDO a influențat semnificativ asupra indicilor frecvenței regenerării doar la s. Sonor, unde această valoare constituie 49,98% (MSB₅D) și 57,28% (MS), fiind statistic semnificativă. Media regenerării la explantele supuse infecției virale a crescut de 1,05 - 2,67 ori, pentru mediu MSB₅D și de 1,43 - 2,05 ori pentru mediu MS, în comparație cu varianta martor.

Frecvența regenerării la explantele iradiate a variat în dependență de doza radiației și mediul de cultură, fenomenul fiind confirmat statistic la toate genotipurile studiate pentru ambele medii de cultură, cu excepția unor variante experimentale. Astfel, razele gama (100 Gy) au avut un efect stimulator asupra procesului regenerării la s. Unirea, unde valorile medii s-au

majorat cu 36,82% (MSB₅D) și 76,89% (MS) în comparație cu varianta martor, iar la soiul Sonor – cu 48,5% pentru mediu MS. La s. Galactic acest indice s-a redus cu 16,72% pentru mediul MS.

Tabelul 3.4. Frecvența regenerării a explantelor de calus obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO ($\bar{x} \pm Es$)

Genotip	Varianta	MS	MSB ₅ D
Sonor	Martor	27,94± 1,47	18,72±2,52
	100Gy	41,50±0,83**	15,59± 2,26
	150Gy	51,28±1,28***	56,95±1,77***
	250Gy	19,43±2,02*	33,61±2,17*
	VMDO	57,61±1,61***	49,98± 4,14**
	VMDO+100 Gy	27,38±1,19+++	33,33±4,76
	VMDO+150 Gy	45,94±2,41**+	26,74±1,83++
	VMDO+250 Gy	43,98±3,61*+	38,26±0,87***
Unirea	Martor	31,94±0,69	26,67±1,67
	100 Gy	56,5±3,62**	36,75±1,71*
	150 Gy	26,67±1,67*	26,49±2,28
	250 Gy	40,27±2,34*	36,57±8,03
	VMDO	26,67±6,67	33,15±5,83
	VMDO +100 Gy	41,67±8,33	37,89±2,76*
	VMDO +150 Gy	24,83±1,46*	44,49±5,09*
	VMDO +250 Gy	27,41±2,59	22,6±6,09
Galactic	Martor	41,48±1,48	30,16±1,58
	100 Gy	34,72±1,39*	27,78±2,78
	150 Gy	23,14±0,92***	15,87±0,79**
	250 Gy	36,11±1,39	14,48±1,21**
	VMDO	28,89±4,44	31,80±1,53
	VMDO +100 Gy	16,98±1,65	16,98±1,66***++
	VMDO +150 Gy	12,63±0,92***+	13,68±0,59***+++

*, **, *** – diferența semnificativă pentru P≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul);

+, ++, +++ – diferența semnificativă pentru P≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu virusul).

Notă: \bar{x} – media aritmetică, Es – eroarea standard

Acțiunea radiației gama (150 Gy, 250 Gy) asupra mediei frecvenței de regenerare a fost determinată de genotip și mediu de cultură, fiind statistic semnificativă. Indicii frecvenței regenerării la variantele iradiate cu doza de 150 Gy s-au redus la s. Unirea cu 16,49% (MS), iar la s. Galactic – 44,21% (MS), 47,38% (MSB₅D), dar s-au majorat de 1,8 (MS) și 3,6 ori (MSB₅D) la s. Sonor.

Radiația gama în doza de 250 Gy a intensificat procesul de regenerare la genotipul Sonor cu 78,41% (MSB₅D) și la genotipul Unirea cu 26,08% (MS), datele fiind statistic semnificative. Totodată, această sursă de variație a inhibat procesul cu 35,10% (s. Sonor, MS) și 51,98% (s. Galactic, MSB₅D).

Impactul virusului în combinație cu razele gama asupra valorii medii a frecvenței de regenerare a fost determinat de genotip, doza radiației și mediu de cultură. Media regenerării la

explantele obținute de la donatori iradiați apoi infectați cu VMDO, pentru s. Unirea s-a mărit de 1,4 ori (VMDO + 100 Gy); 1,67 ori (VMDO + 150 Gy) pe mediu MSB₅D, iar pentru s. Sonor s-a majorat de 1,57-2,04 ori (VMDO + 250 Gy) pe mediu MS și MSB₅D, în comparație cu varianta martor. Infecția virală în complex cu radiația gama a redus cota calusurilor regenerative la genotipul Galactic pentru ambele medii de cultură: cu 43,70% (MSB₅D) - 59,5% (MS) la varianta VMDO + 150 Gy și cu 54,64% (MSB₅D) - 69,55% (MS) la varianta VMDO + 250 Gy. Pentru s. Unirea aceste valori s-au diminuat cu 14,18% (VMDO + 150 Gy) și 22,26% (VMDO + 250 Gy).

Analiza comparativă a influenței infecției virale separate și în combinație cu razele gama (150 Gy, 250 Gy) a pus în evidență faptul că radiația a atenuat statistic semnificativ efectul pozitiv al infecției virale asupra regenerării cu 37,49 - 74,3%, la genotipul Sonor pentru ambele medii de cultură. Pentru genotipul Galactic, VMDO a mărit acțiunea negativă a razelor gama (150 Gy) asupra valorilor regenerării cu 15,32% (MSB₅D); 57,31% (MS) și influența pozitivă a razelor gama cu 23,12% (MS); 48,83% (MSB₅D) pentru genotipul Sonor. La s. Unirea, infecția virală a majorat efectul pozitiv al iradierii gama (100 Gy) cu 14,25% pentru mediu MSB₅D.

Evaluarea rezultatelor a demonstrat, că asupra frecvenței calusogenezei și morfogenezei au influențat statistic semnificativ 3 factori (genotipul, virusul, radiația), iar asupra frecvenței regenerării doar 2 factori (genotipul și mediu de cultură) (Tabelul 3.5).

Tabelul 3.5. Variația frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării explantelor de orz de primăvară obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO

Sursa vari.	GL	Calusogeneza			Morfogeneza			Regenerarea		
		SP	S ²	F	SP	S ²	F	SP	S ²	F
A	2	4282,34	2141,17	262,68***	37214,3	1867,2	998,01***	3423,95	1711,98	62,73***
B	1	2876,08	2876,08	352,85***	3530,04	3530,4	189,34***	31,89	31,89	1,17
C	2	1477,37	738,684	90,62***	5464,1	2732,05	146,54***	164,54	82,27	3,01
D	1	157,856	157,856	19,37***	46,3216	46,3216	2,48	465,96	465,96	17,08***
Interacțiuni										
AB	2	2927,09	1463,54	179,55***	1004,58	502,29	26,94***	862,42	431,21	15,80***
AC	4	1516,93	379,232	46,53***	1045,52	261,379	14,02***	4405,61	1101,4	40,36***
AD	2	1320,51	660,254	81,00***	2562,7	1281,35	68,73***	285,91	142,95	5,24**
BC	2	301,184	150,592	18,48***	319,04	159,52	8,56***	1254,34	627,17	22,98***
BD	1	369,593	369,593	45,34***	77,6395	77,6395	4,16*	612,28	612,28	22,44***
CD	2	135,561	67,7803	8,32***	1328,77	664,387	35,63***	315,46	157,73	5,78**
ABC	4	728,163	182,041	22,33***	1004,46	251,114	13,47***	2753,88	688,47	25,23***
ABD	2	5,68546	2,84273	0,35	353,5	176,75	9,48***	190,75	95,37	3,49*
ACD	4	2052,6	513,15	62,95***	2445,95	611,487	32,80***	402,46	100,61	3,69**
BCD	2	224,117	112,058	13,75***	86,8093	43,4046	2,33	332,24	166,12	6,09**
ABCD	4	550,951	137,738	16,90***	1026,79	256,696	13,77***	923,04	230,76	8,46***
Total	107	19512,9			58852,9			18389,5		

*, **, *** – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001; Genotip (A), Virus (B), Radiație (C), Mediul (D); GL – grad de libertate, SP – suma pătratelor, S² – dispersia, F – factor Fisher, PI – puterea de influență.

Influența virusului în explantele inițiale și a radiației nu au modificat semnificativ frecvența de regenerare [17]. Componenta mediului de cultură a avut un efect semnificativ asupra capacității calusogenezei și a influențat neînsemnat asupra formării centrelor morfogene.

Analiza interacțiunii surselor de variație asupra proceselor menționate a evidențiat că din 11 interdependențe, numai 2 au avut un efect nesemnificativ, și anume interacțiunea *genotip x virus x radiație* – asupra frecvenței calusogenezei și interacțiunea *virus x radiație x mediu x frecvenței morfogenezei*.

Rezultatele prelucrării statistice prin aplicarea testului ANOVA denotă că puterea de influență a infecției virale și radiației gama asupra frecvenței calusogenezei a atins valorile de 14,74% și, respectiv, 7,57%. Pondere maximă a înregistrat genotipul (21,95%), interacțiunile *genotip x virus* și *genotip x radiație x mediu de cultură* constituind 15% și 10,52%, respectiv (Figura 3.6 A).

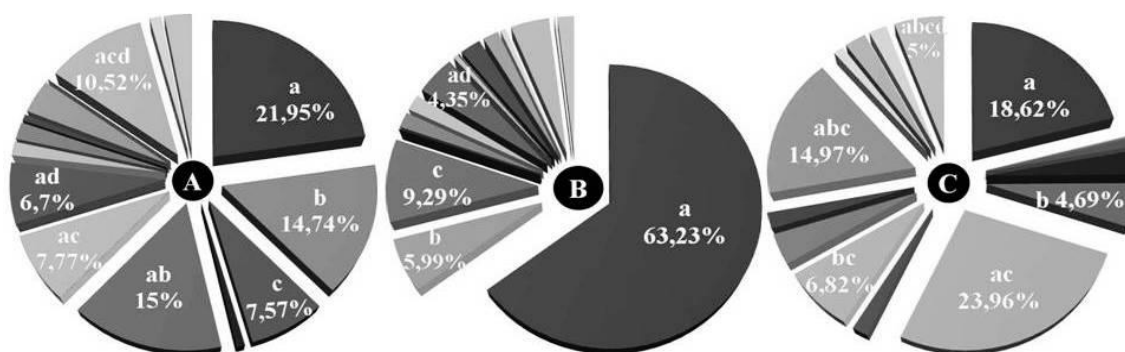


Fig. 3.6. Contribuția procentuală a genotipului, infecției virale și radiației asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare la embrionii imaturi de orz de primăvară: A - calusogeneză, B - morfogeneză, C - regenerare; a - genotip, b - virus, c - radiație, d - mediu.

Analiza comparativă a valorilor puterii de influență asupra frecvenței morfogenezei cu cele ale calusogenezei a atestat micșorarea impactului infecției virale, probabil datorită eliminării treptate a virusului în urma dividerii intense a celulelor calusale.

Eficacitatea surselor de variație asupra ratei morfogenezei a atins valori maxime pentru genotip (63,23%), radiație (9,29%), virus (5,99%) și interacțiune *genotip x mediu* (4,35%). Influența genotipului asupra procesului de morfogeneză s-a mărit de 2,8 și 3,4 ori în comparație cu efectul acestuia asupra calusogenezei și regenerării (Figura 3.6 B). Diferențele dintre variante sunt confirmate statistic.

Impactul VMDO și iradierii gama asupra procesului de regenerare a somaclonelor de orz nu au fost confirmate statistic, însă puterea de influență a interacțiunii factorilor cu genotipul a atins valori de 4,69 - 23,96% , fiind statistic semnificative (Figura 3.6 C).

Prin urmare, analiza varianței a stabilit că contribuția razelor gama au atins cele mai mari valori pentru morfogeneză (9,29%). Infecția virală a avut o influență mai mare asupra frecvenței

calusogenezei (14,74%) comparativ cu acțiunea asupra morfogenezei (5,99%), iar interacțiunea *virus x radiație* au avut impact maximal asupra regenerării

Analiza interacțiunii factorilor *genotip x radiație* asupra frecvenței calusogenezei în baza valorilor medii a demonstrat că radiația gama la doza de 150 Gy a avut un impact mai mare asupra acestui proces la cele trei soiuri în comparație cu doza 100 Gy de 1,13 ori, însă nu depășește valorile variantei martor la s. Unirea și s. Galactic. În același timp, la s. Sonor, iradierea gama la doza de 150 Gy a avut o influență mai puternică (de 1,1 ori) asupra cotei explantelor cu calus în comparație cu martorul. Valorile frecvenței calusogenezei diferă la cele trei genotipuri, fiind mai reduse la s. Unirea și s. Sonor în comparație cu s. Galactic de 1,5 ori (Figura 3.7A).

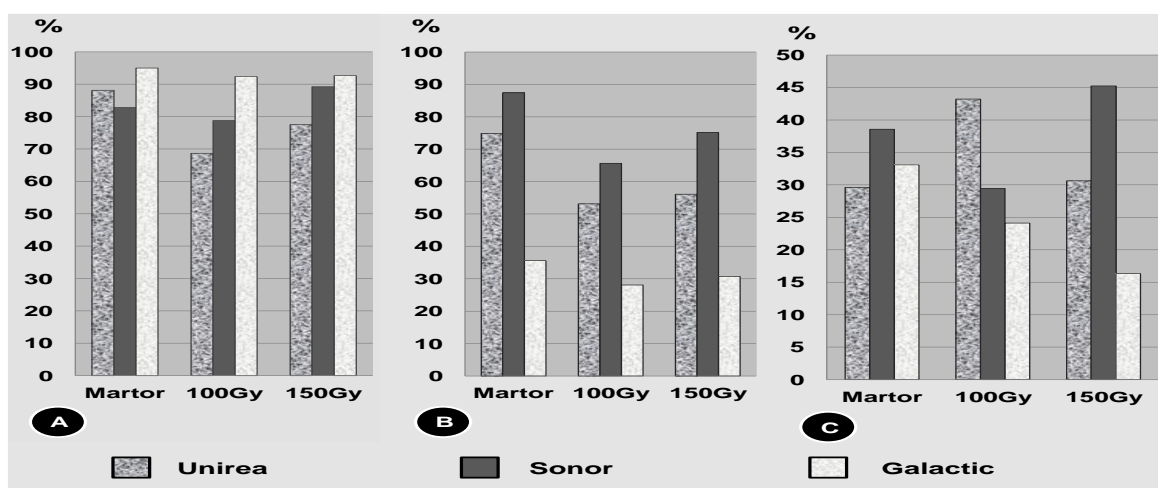


Fig. 3.7. Influența interacțiunii factorilor *genotip x radiație* asupra frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării din embrionii imaturi la orzul de primăvară: A - frecvența calusogenezei, B - frecvența morfogenezei, C - frecvența regenerării.

Rezultatele obținute indică că frecvența calusogenezei a fost influențată de factorii analizați în dependență de genotip și doza radiației.

Procesul de formare a zonelor morfogene în calusurile soiurilor analizate a fost inhibat de către radiație. Astfel, iradierea a redus frecvența morfogenezei de 1,1 - 1,4 ori în comparație cu martorul. Este important de menționat că odată cu mărirea dozei de radiație se observă atenuarea efectului negativ al iradierii (Figura 3.7 B).

Evaluarea interacțiunii *genotip x radiație* asupra frecvenței regenerării atestă că fiecare genotip a reacționat specific. Razele gama au avut un impact mai puternic asupra frecvenței regenerării de 1,03 ori la s.Unirea și au micșorat acest indice de 1,4 - 2 ori la s. Galactic, în comparație cu varianta martor. Efectul iradierii gama asupra procesului de formare a regeneranților la s. Sonor a fost dependent de doza radiației.

Astfel, razele gama, la doza de 100 Gy au redus frecvența regenerării de 1,3 ori, iar la doza de 150 Gy au intensificat acest indice de 1,2 ori, în comparație cu varianta control (Figura 3.7 C). Informații despre efectul stimulator al radiației gama (200, 300 Gy) asupra ratei regenerării sunt relatate de către [37] și [42], la plantele de orz și orez.

Studiul comparativ al frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării la genotipul Galactic a demonstrat că valorile acestor indici sunt invers proporționale. Luând în considerare alte 2 soiuri putem conchide că rata înaltă a explantelor care formează calus nu asigură garanții certe pentru un randament înalt al morfogenezei și regenerării, procese dependente prioritar de genotip.

Aprecierea influenței interacțiunii *genotip x virus* asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare a evidențiat că valorile acestor indici au variat în dependență de genotip. Astfel, VMDO a diminuat valorile frecvenței calusogenezei și morfogenezei la s. Unirea și Sonor de 1,04 - 2 ori, și a mărit cota explantelor cu calus la s. Galactic de 1,04 ori, în comparație cu varianta martor. Efectul stimulator al virusului s-a înregistrat și asupra procesului de regenerare la s. Unirea și Sonor, unde infecția virală a intensificat acest proces de 1,14 ori (Figura 3.8).

Razele gama și infecția virală au modificat valorile indicilor analizați în ambele direcții și au influențat în dependență de genotip, doza iradierii și mediu de cultură.

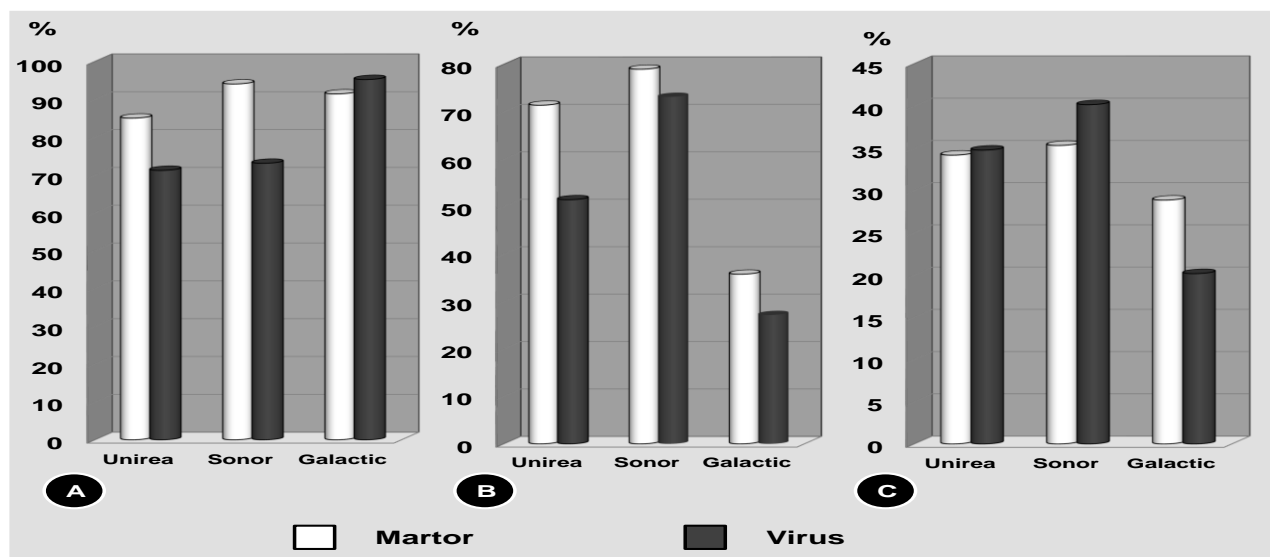


Fig. 3.8. Influența interacțiunii factorilor *genotip x virus* asupra frecvenței calusogenezei, morfogenezei și regenerării din embrionii imaturi la orzul de primăvară: A – frecvența calusogenezei, B - frecvența morfogenezei, C - frecvența regenerării.

Deși frecvența regenerării reprezintă numărul de calusuri regenerative din numărul total de explante cu calus, aceasta nu este un indicator definitiv al potențialului de regenerare,

deoarece nu toate calusurile regenerative sunt capabile de a genera plantule pretabile pentru transferare și cultivare în sol.

Luând în considerare cele relatate, este important de a determina numărul de plante per calus regenerativ, care reprezintă intensitatea regenerării. Evaluarea valorii medii a numărul de regeneranți per calus regenerativ, la soiurile analizate, a evidențiat că acest indice a variat în dependență de genotip și a constituit 5,7 (s. Sonor), 5,5 (s. Galactic) și 3,8 (s. Unirea). În variantele experimentale, VMDO a micșorat numărul de plante regenerante cu 47,37 - 55,26% la genotipurile Sonor și *Unirea*, iar pentru Galactic a mărit valoarea respectivă cu 81,81%, (Tabelul 3.6.).

Efectul razelor gama a fost determinat de genotip și doza radiației, fiind semnificativ pentru s. Sonor și s. Unirea în toate dozele utilizate, iar în cazul s. Galactic – în dozele de 100 Gy și 150 Gy. Numărul de regeneranți per calus la explantele iradiate s-a redus la toate genotipurile analizate, dar nu pentru toate dozele. Astfel, pentru s. Unirea și s. Sonor această valoare s-a diminuat cu 10,52-50% în dependență de doza radiației, iar pentru s. Galactic – cu 34,54% (150 Gy). Mărirea dozei de iradiere a atenuat efectul factorului respectiv.

Tabelul 3.6. Influența VMDO și/sau razelor gama asupra intensității regenerării

Varianta	Genotip		
	Sonor	Unirea	Galactic
	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$
Martor	5,7±0,02	3,8±0,03	5,5±0,17
100 Gy	3,2±0,01***	1,9±0,01***	6,4±0,21*
150 Gy	3,5±0,15***	3,3±0,08**	3,6±0,14***
250 Gy	3,4±0,02***	3,4±0,07***	4,9±0,34
VMDO	3,0±0,02**	1,7±0,17***	10,0±0,28***
VMDO +100 Gy	7,2±0,08***,+++	1,8±0,10***	2,4±0,13***,+++
VMDO +150 Gy	6,1±0,02***,+++	2,1±0,07***	1,5±0,10***,+++
VMDO +250 Gy	4,2±0,05***,+++	2,8±0,02***,++	-

*, **, *** – diferență semnificativă pentru $P \leq 0,05$; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul);

++, +++ – diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; 0,01; 0,001 (în comparație cu virusul).

Notă: \bar{x} – media aritmetică, Es – eroarea standard.

Utilizarea în complex a factorilor studiați la s. Unirea și s. Galactic a redus numărul de plantule per calus regenerativ de la 26% până la 72,73%, intensificând acțiunea diminutivă a razelor gama și a atenuat acest efect în comparație cu influența solitară a virusului la s. Unirea. Pentru genotipul Sonor virusul împreună cu razele gama au mărit cu 7,02 - 26,32% numărul de regeneranți. Majorarea acestui indice a fost evidențiată la s. Galactic în rezultatul acțiunii doar a virusului (81,81%) și a radiației la doza de 100 Gy (16,36%) în comparație cu martorul, datele fiind statistic veridice [102].

În rezultatul cultivării embrionilor imaturi, prin morfogeneză indirectă au fost obținuți 2219 regeneranți la cele trei soiuri de orz de primăvară (Figura 3.9).

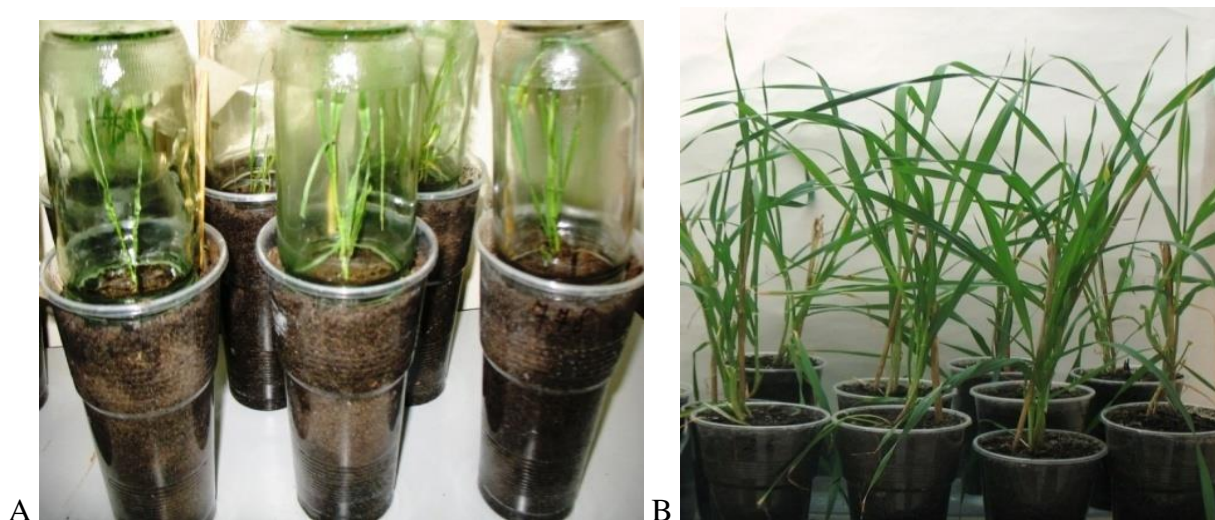


Fig. 3.9. Acclimatizarea regeneranților: A - regeneranți în prima perioadă de acclimatizare, B - somaclone acclimatizate.

Numărul total de somaclone (SC_0) transferate în sol, provenite din genotipurile Galactic, Sonor, Unirea a atins valori de 533 (74,13%), 613 (74,39%), 335 (43,01%).

Din aceste plante s-au acclimatizat: 472 (88,55%) – s. Galactic, 421 (68,67%) – s. Sonor, 335 (84,38%) – s. Unirea, printre care numărul regeneranților ce au format spice fertile a constituit la s. Galactic 294 (62,28%), s. Sonor – 123 (29,21%), s. Unirea – 153 (45,67%). Analiza datelor sus-menționate indică asupra faptului că capacitatea de adaptare la condițiile de cultivare *in vitro* și la factorii studiați are determinism genotipic pronunțat.

Infecția virală și razele gama au micșorat numărul de somaclone cu spice fertile în comparație cu varianta martor, la toate soiurile evaluate, dar cu diferit grad de manifestare (Tabelul 3.7). VMDO, în dependență de genotip, a redus acest indice cu 25,36 - 28,39% și a manifestat o acțiune moderată asupra numărului de regeneranți cu semințe în comparație cu radiația gama, care a avut un impact sever asupra acestora, diminuându-le cu 66,56%.

Puterea acțiunii radiației gama asupra fertilității somaclonelor obținute, este dependentă de doza radiației. Numărul de regeneranți cu semințe s-a micșorat brusc în comparație cu varianta martor. Dacă la doza de 100 Gy numărul plantelor fertile a scăzut cu 11,10 - 35,01%, atunci la doza de 150 - 250 Gy acest indice s-a micșorat cu 41,75 - 66,56%.

Efectul negativ al iradierii gama în complex cu infecția virală s-a atenuat de 1,16 - 1,67 ori la s. Sonor și s. Unirea pentru doza de 150 Gy. La s. Galactic acțiunea combinată a VMDO cu radiația, doza de 100 Gy, a redus puternic (cu 84,61%) numărul de somaclone cu semințe,

doar două plante din 13 plante obținute fiind fertile, iar la variantele cu 150 și 250 Gy procesul de regenerare indirectă a plantelor a fost inhibat.

Tabelul 3.7. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra numărului de somaclone (SC₀)

Genotip	Variantă	Număr total de regeneranți			
		obținuți	transferați în sol	aclimatizați	fertili
Sonor	Martor	165	140	93	46
	100Gy	61	45	28	9
	150Gy	141	89	53	9
	250Gy	47	30	20	5
	Virus (V)	104	91	48	17
	V+100Gy	100	76	66	13
	V+150Gy	102	67	50	15
	V+250Gy	104	75	63	9
Galactic	Martor	304	236	208	165
	100Gy	137	99	88	58
	150Gy	81	69	54	15
	250Gy	83	56	49	13
	Virus (V)	101	71	71	41
	V+100Gy	13	2	2	2
Unirea	Martor	258	144	125	74
	100Gy	37	19	19	10
	150Gy	75	48	29	10
	250Gy	91	72	57	20
	Virus (V)	81	43	43	19
	V+150Gy	75	38	29	11
	V+250Gy	59	33	33	9

Investigarea influenței VMDO – solitar sau în complex cu radiația gama asupra fertilității descendenților obținuți de la regeneranții SC₀ a evidențiat că impactul negativ al acestor factori a scăzut, iar rata somaclonelor (SC₁) cu fertilitate crescută s-a mărit, constituind 40,00-90,62% (Figura 3.10).

Rata înaltă a somaclonelor sterile indică nu numai sensibilitatea genotipurilor la acțiunea factorilor studiați, dar și iregularitățile ce se desfășoară în procesul dividerii mitotice. Evaluarea acțiunii iradierii orzului cu diferite surse (raze X, γ , β) a evidențiat un paralelism evident între sterilitate și rata mutațiilor, chiar pentru diferite tipuri de mutații [168].

Contribuția virusului asupra procesului de formare a boabelor s-a redus de 1,28 ori la plantele SC₁ în comparație cu regeneranții SC₀. Numărul plantelor fertile la descendenți (SC₁) obținuți de la plante donor iradiate a crescut cu 21,72% (100 Gy); 62,84% (150 Gy); 46,19% (250 Gy) în comparație cu somaclonele obținute prin morfogeneză indirectă.

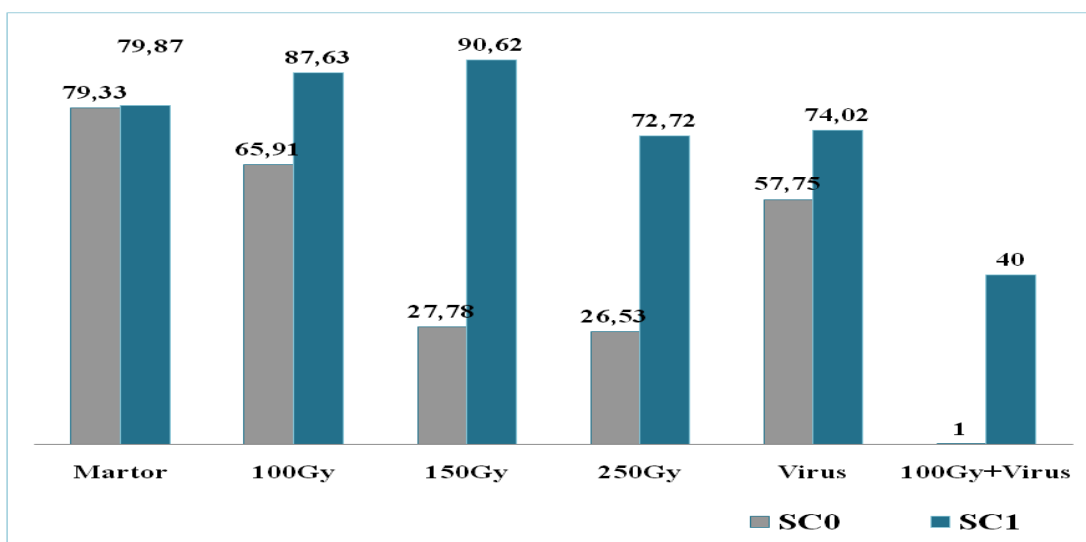


Fig. 3.10. Impactul infecției virale și radiației asupra ratei somaclonelor (%) cu spice fertile la s. Galactic.

VMDO în complex cu radiația gama (100 Gy) a redus numărul somaclonelor fertile (SC_1) cu 49,91% comparativ cu varianta martor, însă efectul factorilor asociați asupra fertilității descendenților obținuți din somaclonele (SC_0) s-a redus cu 93,95%.

3.3. Efectul infecției virale și al razelor gama asupra indicilor citogenetici și biochimici în calusul și regeneranții (SC_0) de orz de primăvară

Cultura de calus obținută din embrionii imaturi reprezintă o sursă de variații induse de factorii genetici și epigenetici fiind caracterizată prin instabilitatea genomului celulelor și heterogenitate. Mutațiile apărute în cultura *in vitro* pot avea origine diferită sau cuprinde un spectru divers și sunt luate în considerare la fel ca mutațiile induse de factorii fizici, chimici și biotici. Virusurile fitopatogene și razele gama pot fi utilizate ca factori de extindere a variației somaclonale. În acest scop a fost estimată influența VMDO separat sau în asocieră cu razele gama (100 Gy, 150 Gy, 250 Gy) asupra indicilor citogenetici la celulele calusale din embrioni imaturi de orz de primăvară, care implică evidența activității mitotice, cota celulelor cu aberații cromozomiale și stabilirea spectrului de mutații. Activitatea mitotică este determinată de indicele mitotic (IM), care reflectă reacția genotipului la acțiunea diferiților factori și reprezintă un criteriu în aprecierea proliferării celulelor vegetale. Analiza indicelui mitotic a demonstrat că la genotipul Galactic, în celulele calusale această valoare (3,84%) s-a micșorat de 4,6 ori, în comparație cu celulele meristemate radiculare (17,91%) (Tabelul 3.8).

Conform datelor din literatură, aceasta se datorează faptului că, în faza liniară de creștere a celulelor calusale, puține celule sunt capabile de multiplicare și se observă micșorarea indicelui mitotic, ceea ce denotă că celulele sunt pregătite pentru dediferențiere.

Tabelul 3.8. Influența virusului și radiației gama asupra activității mitotice în celulele calusale

Genotip	Variantă	Numărul total de celule	Celule în diviziunea mitotică				IM, %
			P	M	A	T	
Galactic	Martor I	9485	503	279	410	507	17,91
	Martor II	3359	71	41	14	3	3,84
	100 Gy	8205	231	156	62	39	5,95
	150 Gy	2997	70	13	10	4	3,23
	250 Gy	7079	252	39	46	30	5,18
	VMDO	6101	72	65	32	17	3,04
	VMDO+100 Gy	2654	42	24	44	8	4,45
Sonor	Martor I	21746	10032	268	134	269	49,21
	VMDO	2944	45	14	22	13	3,19
	VMDO+250 Gy	4518	110	54	23	4	3,23

Martor I – celulele meristemate radiculare; Martor II – celule calusale obținute din embrioni imaturi de la plante sănătoase; P – profază, M – metafază, A – anafază, T – telofază.

Analiza celulelor calusale obținute de la explantele iradiate cu razele gama, a demonstrat că acțiunea acestui factor a fost determinat de doza radiației. La s. Galactic, în varianta iradiată cu 100 Gy și 250 Gy activitatea mitotică s-a majorat cu 54,94% și, respectiv, 34,90%, iar la doza de 150 Gy acest indice s-a redus cu 15,88% în comparație cu martorul II.

La variantele obținute de la donori infectați cu VMDO indicele mitotic în celulele calusale s-a diminuat cu 20,83%, iar în complex cu radiația (100 Gy) s-a mărit IM cu 15,88% în comparație cu explantele netratate. Este important de menționat că acțiunea virusului a fost de 1,3 ori mai puternică în comparație cu influența razelor gama la doza de 150 Gy, iar în varianta VMDO + 100 Gy, radiația a atenuat efectul negativ al virusului.

În rezultatul examinării a 2480 de celule meristemate și 6303 celule calusale în diviziunea mitotică, a fost stabilită cota celulelor cu aberații ale diviziunii mitotice. Numărul celulelor cu aberații cromozomiale în celulele calusale la s. Galactic a constituit 45,78% pe când la celulele meristemate radiculare acest indice este de doar 0,17%, ceea ce demonstrează aportul culturii *in vitro* în inducerea mutațiilor [16]. La s. Sonor acest indice atinge valoarea de 7,14% în comparație cu varianta martor I, în care nu au fost depistate aberații. Factorii studiați au mărit numărul de celule calusale cu aberații în comparație cu varianta martor I (celule meristemate) și au micșorat acest indice în comparație cu martorul II (celule calusale). Astfel, la genotipul Galactic, cota celulelor cu aberații din cele iradiate cu dozele de 100 Gy, 150 Gy a constituit 24,27% și 7,40%, iar în celulele infectate această valoare a atins 1,75% (Tabelul 3.9). Utilizarea în comun a virusului și radiației gama (VMDO + 100 Gy – 10,52%), la s. Galactic a mărit rata celulelor cu aberații în comparație cu fiecare factor în parte. La s. Sonor, virusul

solitar a influențat de 1,4 ori mai puternic inducerea mutațiilor în celulele calusale în comparație cu acțiunea lui în combinație cu radiația în doza de 250 Gy.

Tabelul 3.9. Cota celulelor cu diferite tipuri de mutații în diviziunea mitotică la orz

Genotip	VARIANTĂ	Celule cu aberații, (%)	Tipuri de aberații
Galactic	Martor I	0,17	Fragmente cromozomiale, punte cromozomială solitară
	Martor II	45,78	Celule poliploide, punte cromozomială solitară
	100Gy	24,24	Celule poliploide, polinucleate, fragmente cromozomiale
	150Gy	7,40	Celule poliploide, aranjare ciclică a cromozomilor. Fragmente în formă de potcoavă, punte solitară
	VMDO	1,75	Celule aneuploide, fragmente în formă de potcoavă
	VMDO+100Gy	10,52	Celule polinucleate, cromozomi dubli
Sonor	Martor I	0	-
	VMDO	7,14	Celule polinucleate, aranjare ciclică a cromozomilor
	VMDO+250Gy	4,93	Fragment unitar liniar

Martor I – celulele meristemate radiculare; Martor II – celule calusale obținute din embrioni imaturi de la plante sănătoase;

Printre aberațiile evidențiate au fost înregistrate mutații genomice – celule poliploide, aneuploide (Figura 3.11) și polinucleate (Figura 3.12 H), aberații cromozomiale – fragmente și punți cromatidiene (Figura 3.12 E, F), dereglări în aranjarea cromozomilor în anafaza diviziunii mitotice (Figura 3.12 G).

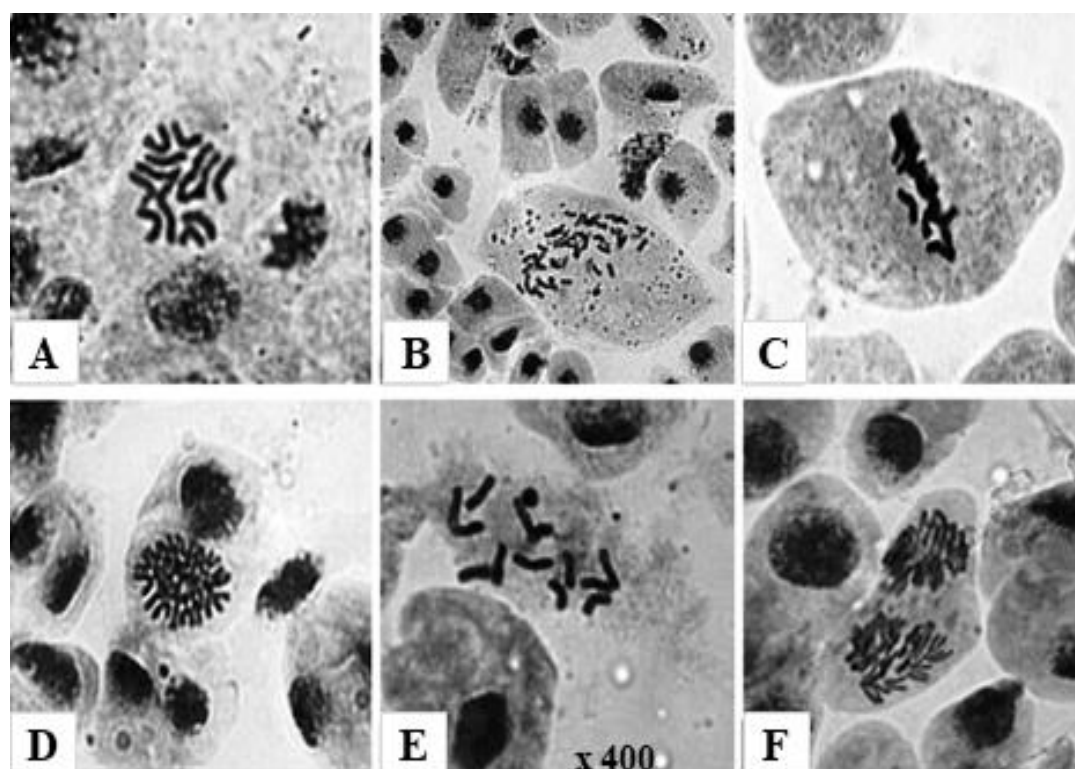


Fig. 3.11. Mutații mitotice în celule calusale la orzul de primăvară: A - celule cu setul diploid de cromozomi ($2n=14$); B - celulă gigantică, poliploidă ($2n=6x=42$); C - eliminarea unui cromozom; D - celula poliploidă ($2n=4x=28$); E - celulă aneuploidă ($2n-2=12$); F - celulă cu nuclee poliploide.

Indicii efectului citogenetic al culturii *in vitro* în calitate de factor inductor al variabilității celulare sunt dependenți de genotip. Factorul studiat duce la creșterea cotei de celule cu aberații și inducerea mutațiilor genomice și cromozomiale, unde prevalează aberațiile genomice. În explantele calusale infectate cu VMDO solitar au predominat celulele aneuploide și diferite tipuri de fragmente cromozomiale. La variantele iradiate s-au evidențiat celule poliploide, fragmente, punți cromozomiale și mutațiile ce țin de aranjarea cromozomilor în timpul diviziunii mitotice [104]

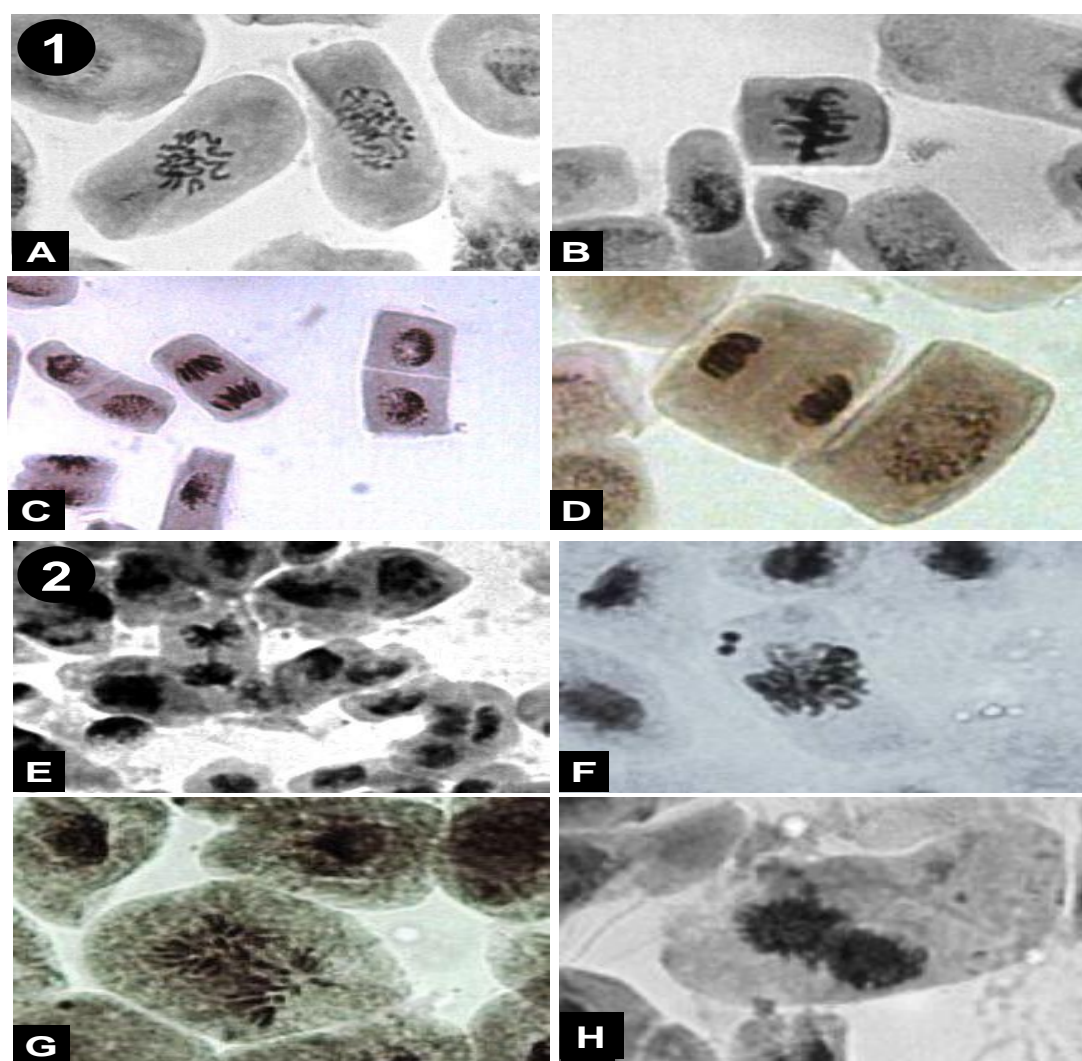


Fig. 3.12. Aspectul celulelor meristemate în diviziunea mitotică și a celulelor calusale mutante la orz: 1 - celule meristemate radiculare în diviziune: A - profaza, B - metafaza, C - anafaza, D - telofaza; 2 - celule calusale cu diferite tipuri de mutații: E - punte solitară, F - fragment par punctiform, G - aranjarea ciclică a cromozomilor, H - celulă polinucleată (x 200).

Infecția virală și radiația gama au majorat cota de celule cu aberații cromozomiale în comparație cu celulele meristemate radiculare. Astfel, în scopul estimării efectului VMDO și radiației gama, a fost analizată electroforegrama peroxidazei în calusul și regeneranții obținuți

din embrionii imaturi de orz. Pentru extragerea peroxidazei au fost luate probe din explante de calus morfogen sau nemorfogen (Figura 3.13 A, B) și regeneranți (Figura 3.13 C, D) obținuți din embrioni imaturi prelevați din semințe iradiate și plante infectate cu VMDO.

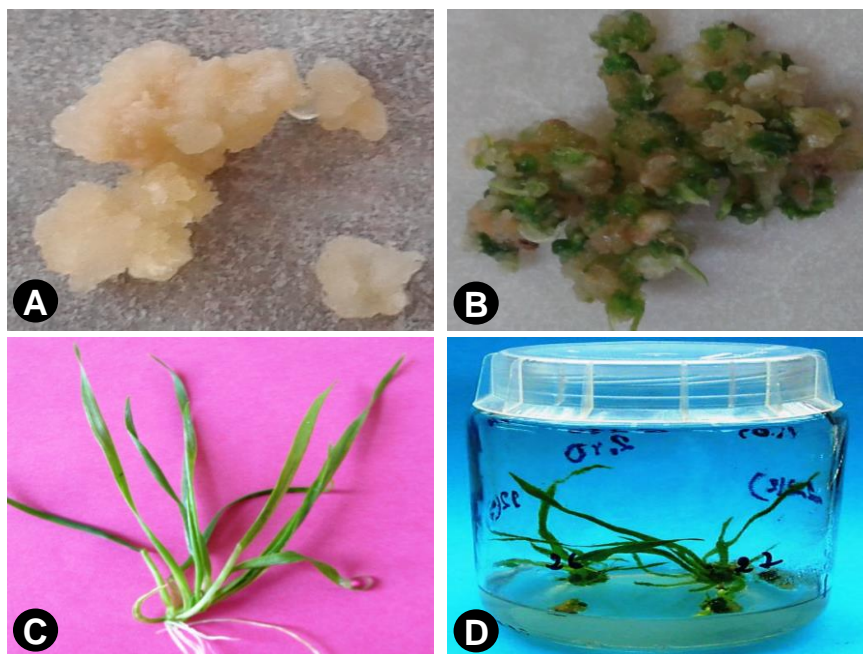


Fig. 3.13. Aspectul general al explantelor de calus și regeneranților de orz: A - calus nemorfogen; B - calus morfogen; C, D - regeneranți (SC₀) donor.

Spectrul polimorf al peroxidazelor este mai larg la probele prelevate de la calusurile morfogene în comparație cu cele nemorfogen (Figura 3.14).

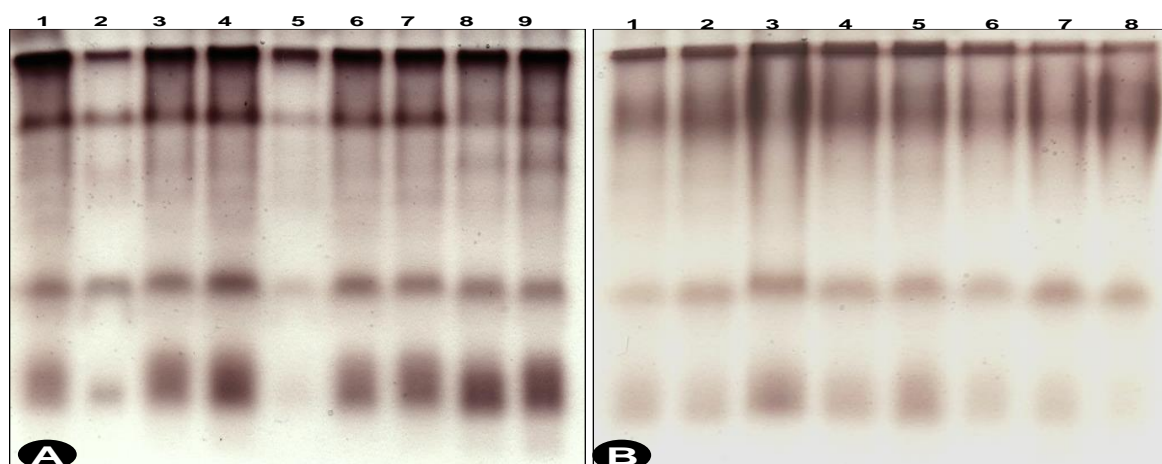


Fig. 3.14. Electroforegrama peroxidazei la soiul Galactin: A - calus; B - regeneranți.

În rezultatul analizei electroforetice a peroxidazei extrase din calus la variantele iradiate s-a evidențiat prezența sau lipsa unor izoforme în comparație cu varianta martor în dependență de doza radiației. Infecția virală a contribuit la dispariția benzilor 0,206; 0,216 și la apariția componentelor cu mobilitatea 0,642; 0,665 în comparație cu martorul (calus nemorfogen). La

explantele de calus iradiate, apoi supuse infecției virale, s-a constatat prezența a două izoforme noi care nu au fost evidențiate în variantele martor (Figura 3.14 A, Figura 3.15 A). Utilizarea comună a virusului și razelor gama (150 Gy) a demonstrat mărirea spectrului cu 4 componente în comparație cu acțiunea doar a infecției virale (Figurele 3.14 B, 3.15 B).

Evaluarea spectrului polimorf al peroxidazei la somaclonele de orz a evidențiat că razele gama au micșorat numărul de forme polipeptidice. La variatele iradiate cu doza de 100 Gy, 150 Gy aceasta a variat de la 4-5 benzi în comparație cu varianta martor, unde s-au înregistrat 6 benzi.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,064 0,075	0,062 0,067	0,057 0,080	0,089 0,104	0,057 0,078	0,047 0,057	0,057 0,067	0,047 0,069	0,059 0,064
0,207 0,226	0,206 0,216	0,199 0,227	0,196 0,214	0,202 0,221	0,200 0,219	0,203 0,217		0,248 0,265
					0,299 0,316	0,291 0,303		0,318 0,332
					0,380 0,387	0,376 0,397		0,385 0,390
0,576 0,614	0,577 0,618	0,574 0,601	0,589 0,600	0,573 0,599	0,561 0,606	0,567 0,598	0,587 0,603	0,561 0,594
0,647 0,664				0,644 0,661			0,642 0,665	0,641 0,660
0,744 0,765		0,733 0,756	0,774 0,76					
0,779 0,857	0,808 0,842	0,773 0,854	0,771 0,865	0,836 0,848	0,760 0,846	0,752 0,871	0,769 0,864	0,750 0,848

A

1	2	3	4	5	6	7	8
0,052 0,068	0,048 0,059	0,041 0,059	0,038 0,054	0,040 0,054	0,043 0,052	0,043 0,050	0,038 0,058
			0,115 0,124	0,117 0,122	0,114 0,119		0,129 0,138
0,195 0,233	0,190 0,215	0,199 0,206	0,186 0,211	0,182 0,209	0,191 0,225	0,196 0,227	0,189 0,225
0,335 0,364	0,327 0,356						
0,398 0,421	0,400 0,410						
0,584 0,606	0,575 0,602	0,557 0,599	0,553 0,602	0,547 0,590	0,564 0,602	0,582 0,611	0,579 0,629
0,797 0,880	0,797 0,884	0,794 0,887	0,800 0,881	0,802 0,878	0,800 0,874	0,811 0,895	0,809 0,863

B

Fig. 3.15. Indicele de mobilitate relativă (Rf) a izoformelor peroxidazei din calus și regeneranții obținuți din embrionii imaturi, s. Galactic: A- peroxidaza din calus morfogen (1, 3, 4, 6, 7, 9) și nemorfogen (2, 5, 6, 8) la variantele - Martor (1, 2), iradiate în doza de 100 Gy (3, 4), 150 Gy (5, 6), 250 Gy (7); cu virus (8) și virus în asociere cu radiația 100 Gy (9); B - peroxidaza din regeneranți, variantele - Martor (1, 2), iradiate în doza de 100 Gy (3, 4), 150 Gy (5), 250 Gy (6); cu virus (7) și virus în asociere cu radiația 100 Gy (8).

Generalizând rezultatele, constatăm mărirea spectrului de izoforme în probele prelevate de la explantele de calus supuse acțiunii comune a factorilor studiați în comparație cu cele nesupuse tratării. Numărul maxim de 7 componente a fost evidențiat în calusul morfogen (VMDO + 100 Gy).

Concluzii la capitolul 3

➤ A fost elaborat un algoritm eficient de obținere a regeneranților din embrioni imaturi prin morfogeneza indirectă, în rezultatul optimizării mediilor de cultură la diferite etape de cultivare prin modificarea mediilor de bază MS, suplimentarea cu diferite tipuri și concentrații de fitohormoni, utilizarea substanțelor ce intensifică procesele de calusogeneza, morfogeneza și regenerare a somaclonelor din explante de embrioni imaturi sănătoase, infectate și iradiate la orzul de primăvară (Galactic, Sonor, Unirea). Frecvența calusogenezei (90÷100%), morfogenezei (50,88÷89,27%) și regenerării (27,94÷41,48%) a variat în dependență de genotip și a atins valori mai mari cu 8,33 - 58,91% , în comparație cu martorul.

➤ S-a constatat că VMDO și razele gama au influențat semnificativ frecvența calusogenezei și morfogenezei. Analiza varianței a stabilit contribuția maximă a genotipului asupra proceselor de calusogeneză (21,95%), morfogeneză (63,23%) și regenerare (18,62%). Ponderea sursei de variație în rata morfogenezei a atins valori maxime pentru factorul de *genotip* (63,23%), urmată de *radiație* (9,29%), *virus* (5,99%) și interacțiunea *genotip x mediu de cultură* (4,35%). Impactul infecției virale și radiației asupra procesului de regenerare nu a prezentat veridicitate statistică, în timp ce puterea de influență a interacțiunii acestor factori cu genotipul a atins valori de la 4,69÷23,96% ($P \leq 0,001$). Razele gama au modificat valorile indicilor analizați în ambele direcții și au influențat în dependență de genotip și doza iradierii.

➤ S-a stabilit că în interacțiunea *genotip x infecție virală x raze gama*, fiecare component al sistemului a influențat indicii citogenetici în celulele calusale. Efectul VMDO solitar, asupra indicelui mitotic a fost mai accentuat în comparație cu razele gama. Infecția virală și razele gama au mărit numărul de celule cu aberații în dependență de genotip, și a atins valori de 1,75 - 24,27%. Printre aberațiile evidențiate au fost observate mutații genomice (celule poliploide, aneuploide și polinucleate) și aberații cromozomiale (fragmente și punți cromatidiene, dereglări în aranjarea cromozomilor în anafaza diviziunii mitotice), predominante fiind mutațiile genomice.

➤ S-a constatat că spectrul polimorfic al peroxidazei este mai larg la probele prelevate de la calusurile morfogene în comparație cu cele nemorfogene. Infecția virală și razele gama au contribuit la mărirea spectrului de izoforme în probele de calus în comparație cu cele nesupuse tratării.

4. EVALUAREA IMPACTULUI VIRUSULUI ȘI AL RADIAȚIEI ASUPRA VARIAȚIILOR SOMACLONALE LA ORZUL DE PRIMĂVARĂ

Îmbinarea variabilității somaclonale, caracteristică regeneranților obținuți prin cultura de calus cu factorii biotici și fizici permite sporirea frecvenței și lărgirea spectrului de variații genetice la plante. Selectarea eficientă a formelor cu caractere distincte, inclusiv agrobiologice valoroase este indispensabilă, deoarece diversitatea genetică a plantelor de cultură reprezintă sursa primară pentru dezvoltarea soiurilor adaptate la condițiile climatice variabile [234]. Pentru a spori eficiența selecției genotipurilor de orz cu caractere dorite este necesară aprecierea potențialului genetic, naturii variabilității, ponderii factorilor majori ce contribuie la manifestarea fenotipică a caracterelor de interes și modalității de moștenire a diferitelor elemente ale productivității [100].

4.1. Aprecierea rolului acțiunii comune și separate a iradierii gama și infecției virale în inducerea diversității agromorfologice la somaclonele (SC_0) de orz de primăvară

Aspectul morfologic al somaclonelor SC_0 de orz de primăvară. În rezultatul cultivării embrionilor imaturi, prin morfogeneză indirectă au fost obținuți regeneranți cu diferite tipuri de variații morfologice (Figura 4.1).

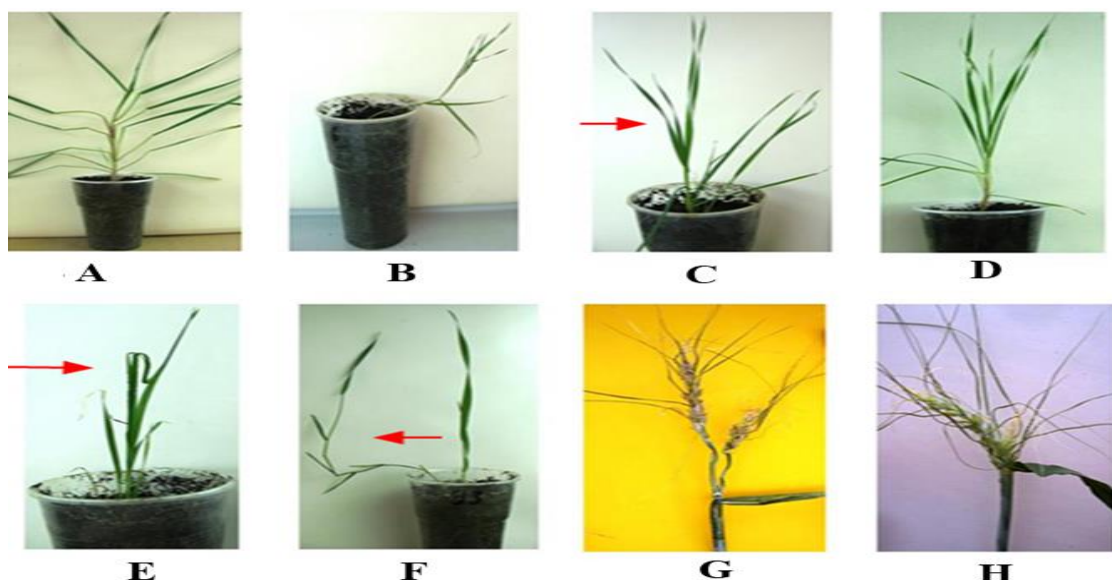


Fig. 4.1. Variații morfologice la somaclonele de orz (SC_0): A - frunze dispuse paralel; B - tulpină modificată și frunze scurte; C - frunze unite la bază; D - frunze paralele și dispuse compact; E - frunze unite ce au aspectul unui tub; F - pai modificat, distanță mică dintre internoduri, frunze foarte scurte; G - două spice ce pornesc de la un nod; H - inflorescență bifurcată.

Examinarea aspectului morfologic al somaclonelor a evidențiat un spectru larg de schimbări în structura paiului, frunzelor și spicului. La regeneranții SC₀ au fost relevate modificări cu fluctuații largi în aspectul morfologic al paiului și frunzelor. Astfel, numărul de internoduri a atins valorile de 3-8 internoduri per plantă în comparație cu plantele obținute din semințe, la care acest indice variază în limite mici și este de 5-6 internoduri. Distanța mică dintre internoduri și numărul mare de noduri au modificat portul plantei de la erect la semipătulit. Particularitățile morfologice ale frunzelor au contribuit la schimbarea aspectului general al plantelor la care au fost evidențiate frunze foarte scurte, unite la bază, de forma unui tub; frunze cu teaca desprinsă de pai, dispuse paralel aproape una de alta; frunze ce pornesc câte 2-5 de la fiecare nod al tulpinii. Diverse variații morfologice au fost evidențiate și în structura inflorescenței și anume: spice bifurcate, cu ariste groase, ondulate, spice sterile, pai bifurcat cu două spice.

Variații morfologice au fost depistate atât la regeneranții din variantele netratate cât și cele tratate cu razele gama și/sau cu infecția virală. Evaluarea variațiilor somaclonale la regeneranții obținuți de la plantele virozate și iradiate a constatat lărgirea spectrului de variații morfologice față de regeneranții obținuți de la plantele sănătoase. Spectrul de variații morfologice a fost dependent de genotipul plantei și de acțiunea factorilor mutageni aplicați.

Analiza caracterelor agromorfologice la somaclonele de orz SC₀. În rezultatul evaluărilor biometrice s-a atestat variația semnificativă (la nivel de 95 - 99,9%) a valorii medii a caracterelor agro-morfologice la somaclonele de orz în dependență de genotip, indicele analizat și factorii luați în studiu. Astfel, la genotipurile Sonor și Unirea s-au constatat valori medii mai mici pentru TPL (cu 12,74 - 28,4%) la variantele iradiate cu raze gama (150 - 250 Gy) și cele în complex cu infecția virală (Figura 4.2).

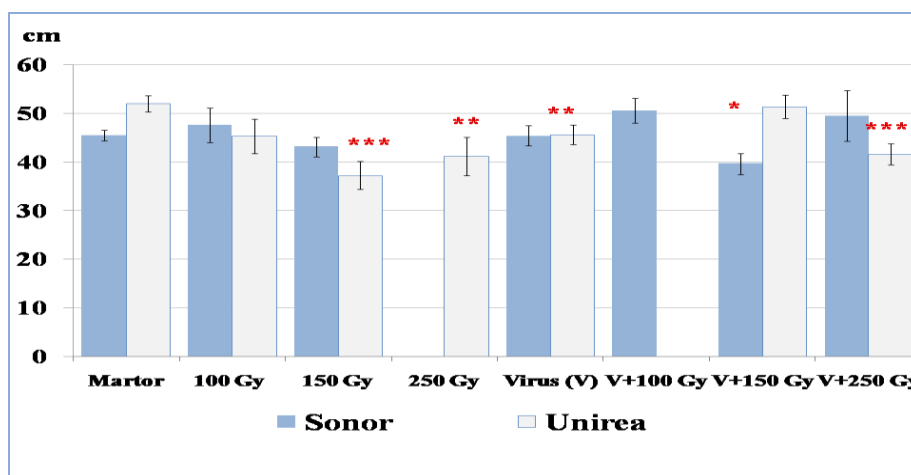


Fig. 4.2. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterului TPL la somaclonele de orz (SC₀): *, **, *** – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001

Valoarea minimă a TPL (37,2 cm) a prezentat genotipul Unirea supus iradierii (150 Gy). Efectul VMDO asupra înălțimii regeneranților de orz, la soiul Sonor s-a dovedit a fi mai atenuat comparativ cu razele gama.

În mod similar, la variantele supuse acțiunii VMDO solitar și iradierii gama (150 - 250 Gy) s-au înregistrat valori medii mai mici a caracterului LUI (cu 5,65 - 34,2%) față de martor pentru toate genotipurile evaluate. Cele mai mici valori au prezentat genotipurile Sonor (7,5 cm; V + 250 Gy) și Unirea (7,8 cm, 150 Gy). La s. Unirea și Sonor, razele gama (150 Gy) au redus acțiunea infecției virale asupra parametrului respectiv, iar mărimea medie a atins valori mai mari cu 35,7 - 56,9% în comparație cu variantele supuse acțiunii solitare a virusului (Figura 4.3 B).

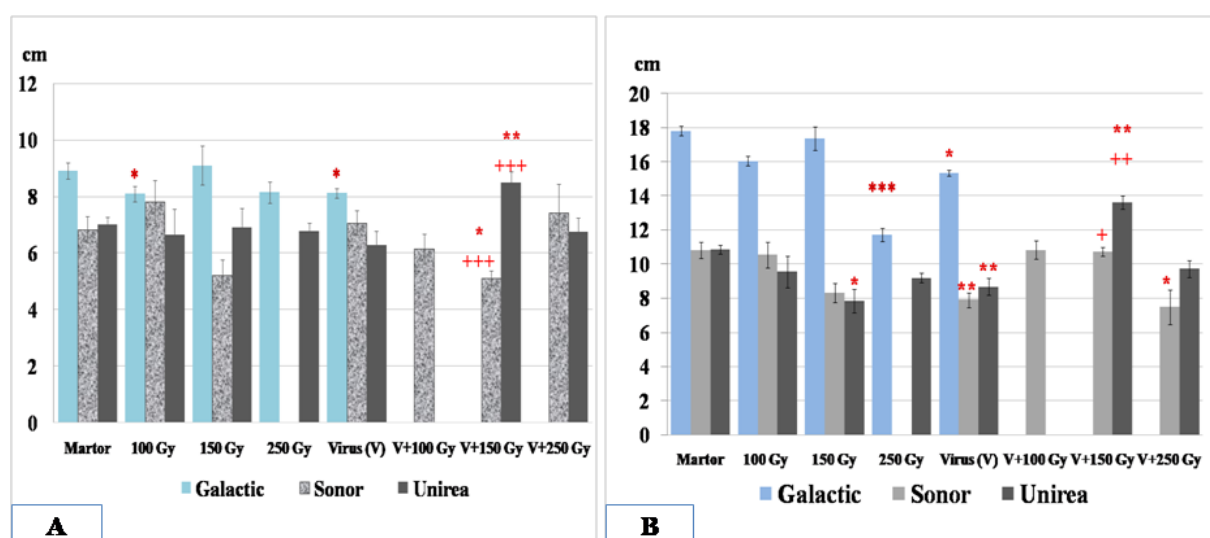


Fig. 4.3. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor LSP (A) și LUI (B) la somaclonele de orz (SC₀): *, **, * – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (comparativ cu martorul); +, +++ – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,001 (comparativ cu virusul).**

De asemenea, s-a înregistrat micșorarea valorilor medii a indicelui LSP cu 9 - 25% pentru genotipul Galactic (VMDO, 100 Gy) și genotipul Unirea (V+150 Gy), diferențele fiind statistic semnificative. În același timp, s-a evidențiat reacția specifică fiecărui genotip la acțiunea virusului în complex cu razele gama (150 Gy). Astfel, pentru s. Unirea valorile medii s-au mărit cu 21 - 35%, iar pentru s. Sonor media s-a redus cu 16,6 - 25% în comparație cu variantele martor și virus (P ≤ 0,05; 0,01; 0,001).

Cea mai înaltă valoare a caracterului LSP (8,9 cm) s-a atestat pentru s. Galactic, varianta martor și pentru s. Unirea (8,50 cm), varianta V + 150 Gy (Figura 4.3 A).

Conform datelor din literatură și celor înregistrate de noi în urma evaluării morfologiei paiului, caracterul NI la orzul cu două rânduri este un indice cu variații în limite mici de la 5-7 internoduri [127]. La regeneranții de orz - genotipurile Galactic, Unirea, Sonor (soiuri cu 2

rânduri de spiculețe în spic), pentru toate variantele, media caracterului respectiv a variat cu fluctuații largi și a atins valori de 3-9 internoduri per plantă în comparație cu plantele martor, la care acest indice este de 5-6 internoduri. Valoarea medie a NI s-a redus semnificativ (95 - 99,9%) pentru genotipurile Unirea și Galactic – cu 13,05 - 26,7% (100 - 250 Gy) față de martor, iar pentru s. Sonor s-au atestat diferențe semnificative – cu 25,3% mai mari în comparație cu martorul doar pentru varianta V + 250 Gy (Figura 4.4 B).

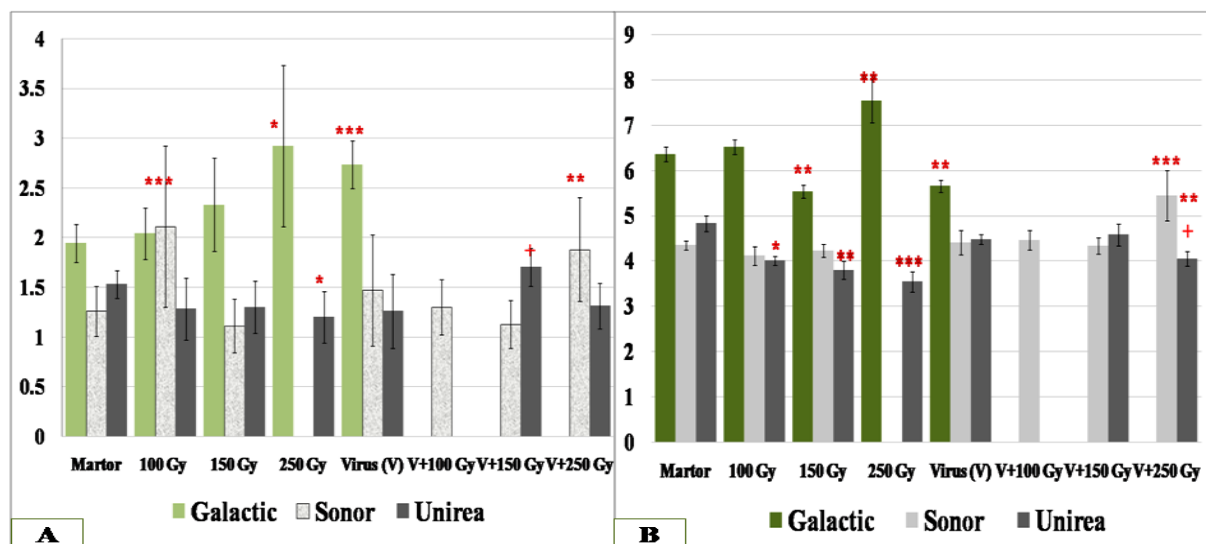


Fig. 4.4. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor NFF (A) și NI (B) la somaclonele de orz (SC₀): *, **, * – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul); + – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05 (în comparație cu virusul).**

Este important de remarcat că polignirea paiului micșorează cantitatea de producție, favorizează atacul de boli, afectează maturarea uniformă a boabelor și pune în dificultate recoltarea mecanizată. Rezistența la cădere a plantelor de orz este determinată semnificativ de mai mulți indici morfologici printre care sunt înălțimea plantei, lungimea, duritatea și flexibilitatea paiului, mărimea și greutatea spicului, numărul și lungimea internodurilor etc. [182]. Prin urmare, valorile mici ale caracterelor menționate sunt de importanță majoră pentru ameliorarea orzului.

În ceea ce privește caracterul NFF, genotipurile Galactic (250 Gy) și Sonor (100 Gy) au deținut valori medii mai înalte cu 50,5 - 67% față de varianta martor. Mărirea acestui indice cu 34,9 - 49,2% s-a evidențiat și pentru variantele supuse VMDO în complex cu razele gama (150 - 250 Gy) pentru genotipul Unirea și Sonor (Figura 4.4 A). Cea mai înaltă valoare a mediei caracterului NFF (2,73; 2,92) s-a înregistrat la genotipul Galactic, somaclonele obținute din explante infectate cu VMDO și cele iradiate (250 Gy).

Potrivit rezultatelor unor cercetători majorarea numărului de frați fertili per plantă este asociată cu înălțimea mică a formelor semipitice de orz [133]. Se presupune că aceasta se datorează expresiei joase a genei Hv20ox₂ (reglează expresia genelor semipiticismului - sdw1/denso), ce duce la scăderea nivelului de acid giberelic în meristemele apicale, reducerea lungimii internodurilor, înălțimei plantei și dezvoltarea unui număr mai mare de frați fertili per plantă [149].

Este cunoscut faptul, că infecțiile virale, inclusiv cea provocată de VMDO, micșorează NFF, contrar rezultatelor noastre, unde media caracterului respectiv la somaclonele de orz, a indicat valori cu 40,7% mai mari față de martor, datele fiind statistic veridice. Această creștere, probabil se datorează specificului impactului infecției virale în condițiile *in vitro*.

În rezultatul analizei datelor obținute pentru caracterul NSP s-a stabilit reducerea semnificativă (la nivel de 99-99,9%) a valorii medii față de martor cu 17,80 - 25,32% (V + 150 Gy) doar în cazul genotipului Unirea. La genotipul Sonor, pentru varianta supusă acțiunii VMDO în comun cu razele gama (150 Gy) s-a constatat o micșorare ușoară, dar semnificativă a NSP în comparație cu influența separată a virusului. Cea mai înaltă valoare (17,69) a acestui indice s-a estimat pentru varianta martor (cultura *in vitro*) la genotipul Unirea (Figura 4.5 A).

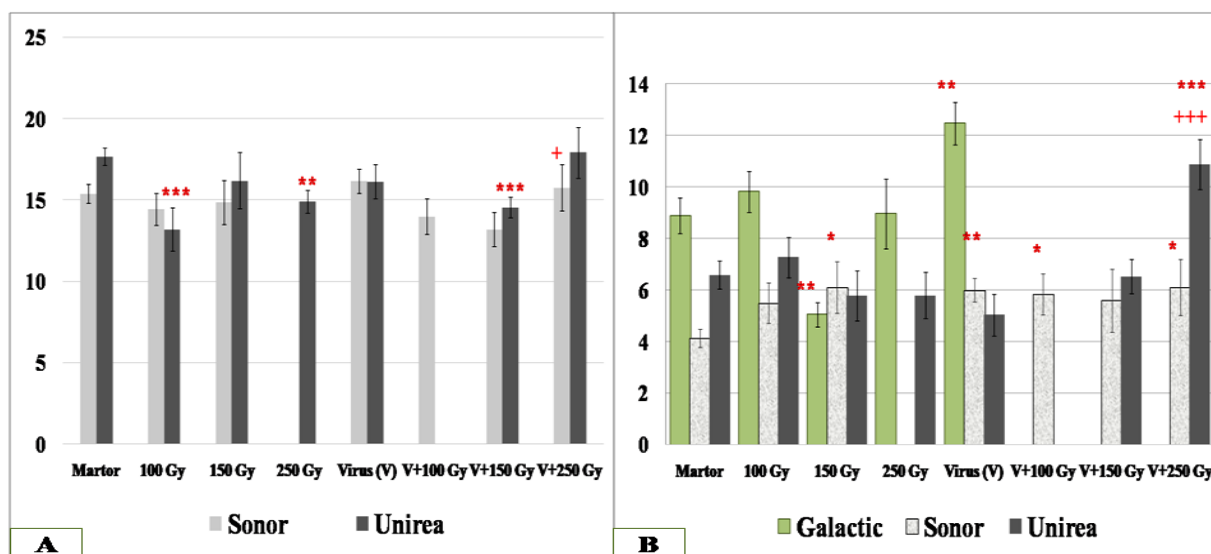


Fig. 4.5. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor NSP (A) și NBSP (B) la somaclonele de orz (SC₀): *, **, *** – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul); +, +++ – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,001 (în comparație cu virusul).

În același timp, pentru genotipurile Sonor și Unirea, caracterul NBSP a indicat valori medii mai mari cu 41,4 - 65% (150 Gy; V + 250 Gy) față de varianta martor.

Este de menționat că pentru s. Sonor s-a atestat acțiunea mai pronunțată a radiației gama (150 Gy) și virusului solitar sau în asociere cu raze gama (150 Gy; 250 Gy) asupra indicelui NBSP, comparativ cu s. Unirea și s. Galactic. Cea mai mare valoare (10,89) a caracterului respectiv a fost constatată pentru genotipul Unirea, varianta V + 250 Gy (Figura 4.5 B). Efecte similare a razelor gamma asupra mediei indicelui numărului de boabe/spic au fost descrise la plantele de grâu și orz [36, 139].

Generalizând cele expuse putem afirma că VMDO și razele gama (250 Gy) separat și în comun au indus variații semnificative pentru 5-6 din 7 caractere în comparație cu celelalte variante, modificând media în dependență de genotip și indicele biomorfologic studiat. De asemenea, reducerea mediilor a caracterelor morfologice care determină direct sau indirect rezistența la cădere și respectiv, creșterea productivității, demonstrează eficiența utilizării radiației gama și infecției virale în generarea variațiilor utile și extinderea diversității la somaclonele de orz [14, 20].

Estimarea coeficientului de variație a caracterelor agromorfologice la somaclonele (SC₀). Pentru determinarea gradului de variație a caracterelor cantitative se utilizează coeficientul de variație (CV,%), care permite obținerea informației, privind norma de reacție la factorii externi și interni ai plantei în întregime sau a fiecărui caracter particular [298]. Este stabilit, că fiecărui caracter, ca și genotipului, îi este caracteristică o anumită reactivitate. Astfel, conform datelor obținute în rezultatul cercetărilor efectuate la soiurile de grâu în diverse condiții NSP și LSP variază slab ($CV < 10\%$); NBSP variază mediu ($10\% < CV < 20\%$), iar numărul de NFF – puternic ($CV > 20\%$) [300, 303].

Conform cercetărilor efectuate de noi, a fost evidențiată o variație semnificativă a valorilor indicilor cantitativi la plantele de orz, care sunt dependente de genotip, caracter și impactul factorului luat în studiu. Prin urmare, CV la caracterul LSP, la soiul Galactic, constituie 16,86-29,38% sub influența razelor gama, ceea ce corespunde unui nivel înalt de variabilitate, deși acestui indice îi este caracteristic un grad mic de variație (Figura. 4.6 B).

Nivelul înalt de variație a acestui caracter s-a evidențiat și pentru s. Sonor și Unirea, la care indicele respectiv a atins valori maxime la varianta V + 100 Gy (31,18%) și raze gama, 100 Gy (52,84%). La somaclonele martor, pentru cele trei genotipuri analizate, valorile coeficientului de variație au constituit 23,02 - 46,4%.

Valorile CV la caracterul TPL a variat în varianta cu radiație de la 14,03% până la 29,15% în dependență de genotip și doza razelor gama (Figura. 4.6 A).

Infecția virală a contribuit la mărirea coeficientului de variație la acest caracter, pentru genotipul Sonor de 1,2 ori în comparație cu martorul. Valoare maximă a indicelui de variație la

caracterul respectiv s-a atestat la regeneranții obținuți din explante iradiate în dozele de 100 Gy și 250 Gy, s. Unirea

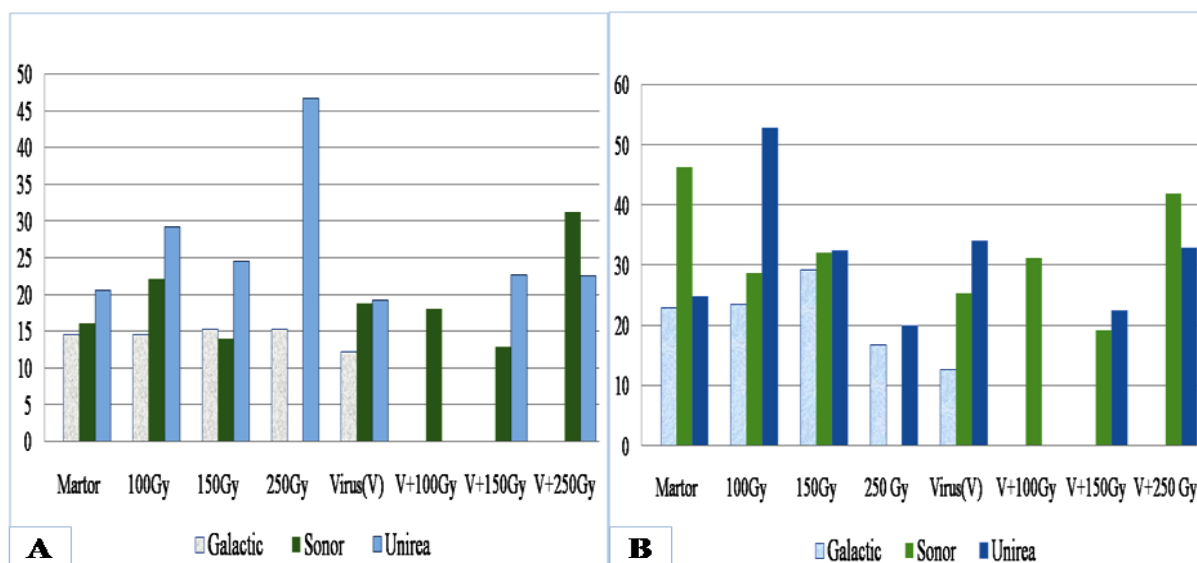


Fig. 4.6. Variabilitatea caracterelor biomorfologice la somaclonele de orz SC₀ sub influența virusului și a radiației gama: A – TPL, B – LSP, (CV,%)

Infecția virală a contribuit la mărirea coeficientului de variație la acest caracter, pentru genotipul Sonor de 1,2 ori în comparație cu martorul. Valoare maximă a indicelui de variație la caracterul respectiv s-a atestat la regeneranții obținuți din explante iradiate în dozele de 100 Gy și 250 Gy, s. Unirea.

Coeficientul de variație a caracterului NI și LUI a atins valori maxime la plantele supuse infecției virale, unde acest indice a constituit 25,41% și respectiv 35,93% (Figura 4.7).

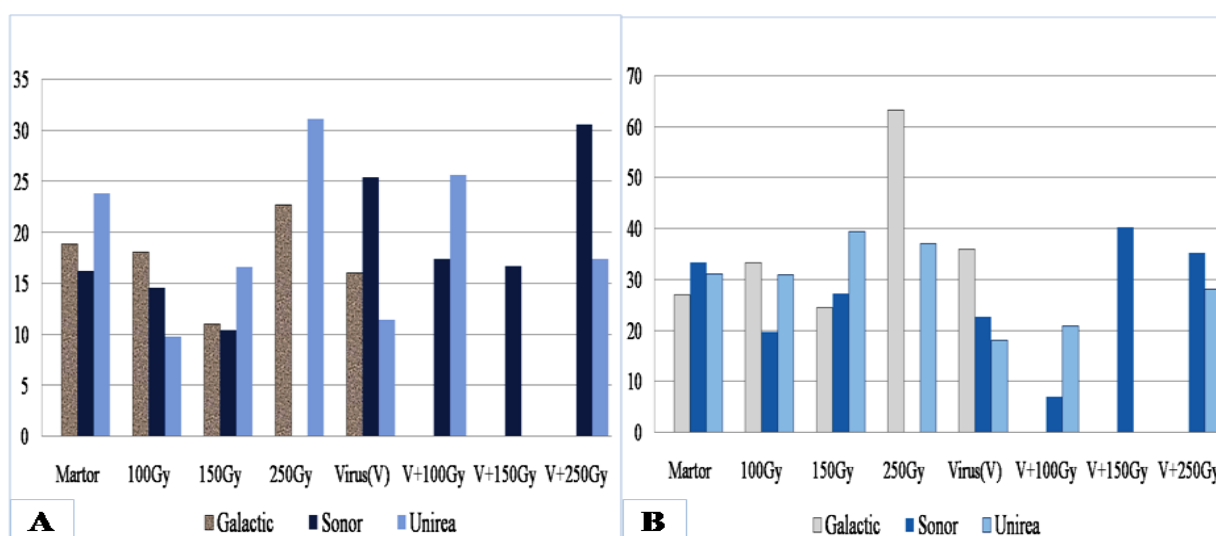


Fig. 4.7. Influența virusului și a radiației gama asupra variabilității caracterelor cantitative la somaclonele SC₀: A – NI; B – LUI, (CV,%)

Cea mai mare deviere a CV de la varianta martor s-a observat pentru caracterul LUI, la somaclonele de orz rezultate din explante supuse radiației gama în doza de 150 Gy (39,38%) și 250 Gy (63,29%), genotipurile Unirea și Galactic.

În rezultatul analizei variabilității caracterelor NSP și NBSP la regeneranții de orz de primăvară s-a constatat un diapazon larg a coeficientului variației la toate variantele studiate (Figura 4.8).

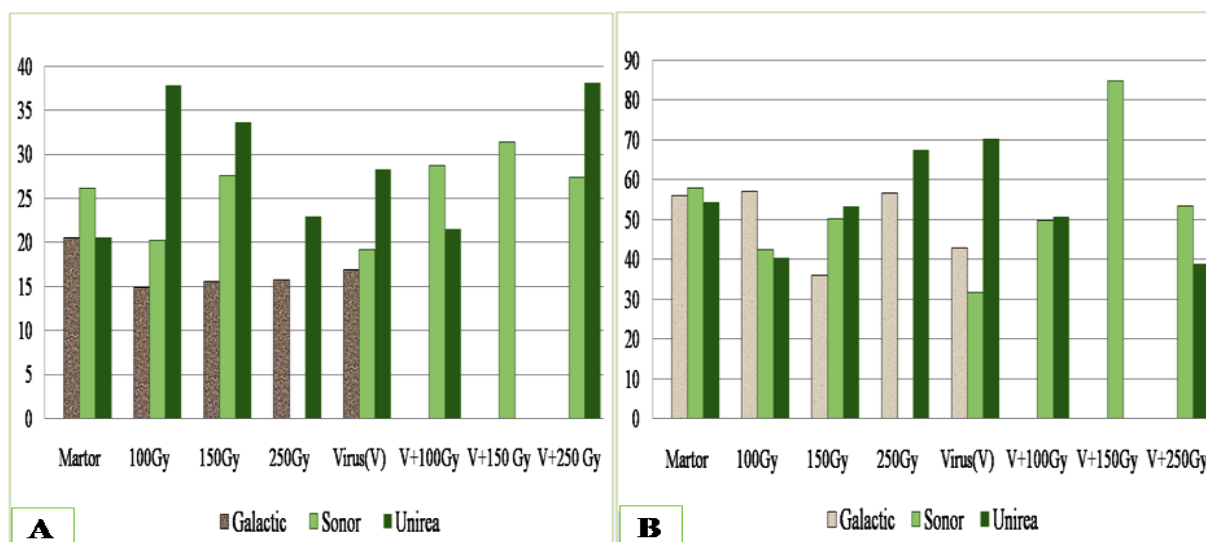


Fig. 4.8. Variabilitatea caracterelor cantitative la somaclonele SC₀ sub influența virusului și a radiației gama: A – NSP; B – NBSP, (CV,%)

Valori maxime pentru caracterul NSP s-au înregistrat la explantele iradiate cu razele gama în doza de 100 Gy (37,8%) și cele supuse acțiunii comune a virusului și radiației gama (250 Gy) – 38,08%. La plantele regenerate din explante netratate acest indice a constituit 20,5 - 26,11%. Indicele variabilității la caracterul NBSP a atins valori majore la variantele supuse iradierii gama în doza de 250 Gy (67,36%) și infecției virale solitar (70,27%) precum și la cele supuse acțiunii comune a radiației (150 Gy) cu VMDO, unde aceasta valoare constituie 84,78%.

Analiza datelor experimentale prin aplicarea testului ANOVA denotă că VMDO a influențat statistic semnificativ variația caracterelor cantitative, la somaclonele de orz (SC₀), efectul fiind specific indicelui biomorfologic studiat (Tabelul A 2.1). Puterea de influență a infecției virale asupra caracterelor: NBSP, LUI, NI la regeneranții analizați a variat de la 1,43% (NBSP) până la 4,65% (LUI). Contribuția procentuală a radiației gama asupra indicilor biomorfologici (TPL, LUI, NI, NSP, NBSP) a cuprins valori de la 1,38% (NBSP) până la 5,39% (LUI), datele fiind veridice pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$. Pondere maximă a manifestat genotipul, aceasta constituind 12,50 - 49,70%, în dependență de caracterul biomorfologic analizat. Cele mai înalte valori ale acestui indice au fost înregistrate pentru caracterele: NI – 38,34% , LUI –

38,38% și TPL – 49,70%. Influența genotipului este statistic semnificativă pentru toate caracterele biomorfologice studiate. Puterea de influență a VMDO asupra caracterelor analizate este maximă pentru indicele LUI (4,65%) fiind statistic veridică. Este important de menționat că acțiunea comună VMDO + raze gama a avut un impact mai mare comparativ cu infecția virală separată pentru caracterele: NBSP (PI = 4,69%), TPL (PI = 2,54%), NSP (PI = 2,41%).

În rezultatul cercetării influenței VMDO și a radiațiilor gama asupra caracterelor biomorfologice s-a constatat că factorii studiați au influențat în dependență de genotip și caracterul analizat.

Acțiunea asociată a infecției virale și razelor gama a avut un impact semnificativ mai mare (de 3,27 ori) asupra caracterului NBSP comparativ cu VMDO solitar. S-a înregistrat o variabilitate puternică a caracterelor agromorfologice, cărora le este caracteristică o variație slabă sau medie. Obținerea formelor mutante și diferențele semnificative ale valorilor medii și coeficientului de variație la plantele de orz confirmă capacitatea surselor de variații luate în studiu de a extinde variația genotipică la orzul de primăvară.

4.2. Analiza influenței virusului mozaicului dungat al orzului și razelor gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC₁-SC₃) somaclonelor de orz

În rezultatul evaluării somaclonelor (SC₀) au fost selectate 106 de forme (SC₁-SC₂) obținute din semințele plantelor regenerate din embrioni imaturi prelevați de la cele 3 soiuri de orz (Galactic, Sonor, Unirea) expuse acțiunii separate sau comune a infecției virale și razelor gama, la fel și derivate de la soiurile respective nesupuse tratării, care au prezentat cele mai pronunțate variații ale caracterelor morfologice studiate, precum și plante cu MMB mai ridicată în comparație cu varianta martor.

Pentru estimarea reacției genotipurilor analizate la factorii studiați a fost investigată cota somaclonelor viabile (SC₂-SC₃). S-a constatat micșorarea numărului de plante viabile în comparație cu varianta martor (Figura 4.9).

La soiurile Sonor și Unirea procentul plantelor viabile la variantele iradiate a fost 81,60 - 91,10% și, respectiv, 89,90 - 94,50% (150 - 250 Gy). În variantele martor (M I, M II) cota plantelor viabile a constituit 95,3 - 93,85% (s. Galactic); 97,50% (s. Unirea, s. Sonor). Acest fapt denotă particularitățile genotipice și specificitatea de reacție a soiurilor luate în studiu. VMDO a manifestat o acțiune moderată asupra cotei somaclonelor viabile în comparație cu radiația gama (150 - 250 Gy). Indicele analizat la somaclonele obținute de la donatorii infectați a constituit 88,5% (s. Galactic) și 88,8 - 90% (s. Sonor, s. Unirea).

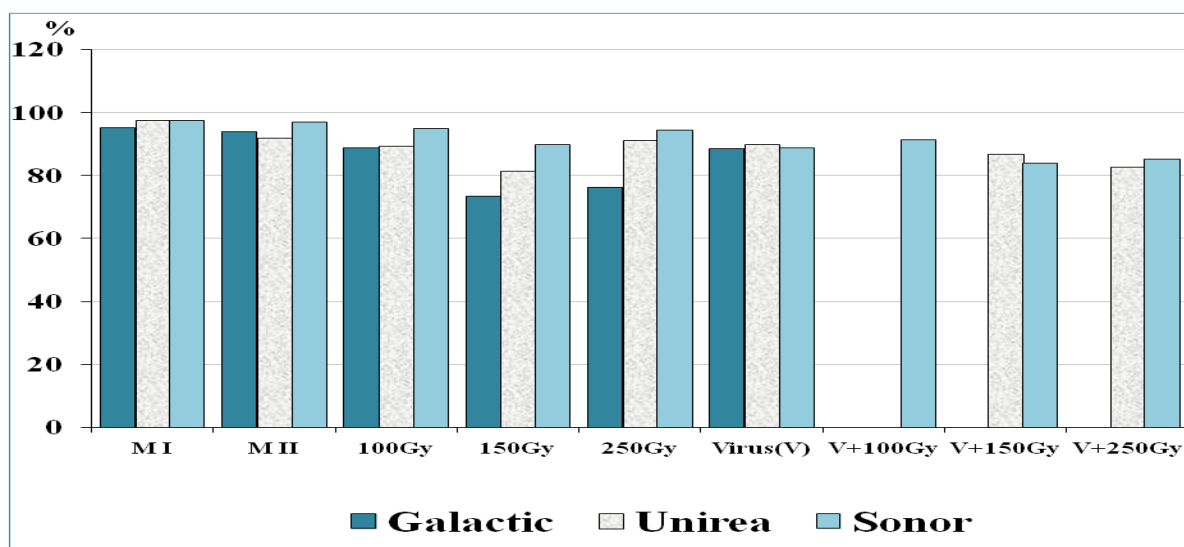


Fig. 4.9. Cota descendenților (SC₂) obținuți de la donatorii supuși acțiunii comune și/sau separate a iradierii gama și infecției virale: M I – plantule obținute din semințe; M II – somaclone.

Analiza comparativă a impactului VMDO și radiației gama asupra cotei plantelor viabile la somaclonele SC₂ și SC₃ a pus în evidență atenuarea efectului negativ al factorilor studiați și mărirea ratei somaclonelor în generația descendentă.

Rata regeneranților (SC₃) viabili, obținuți de la donori supuși infecției virale a crescut cu 3%, iar a somaclonelor (SC₃) viabile obținute de la donatori iradiați cu doze de 100, 150 și 250 Gy - cu 1,24 - 13,62%, în comparație cu somaclonele (SC₂) viabile (Figura. 4.10).

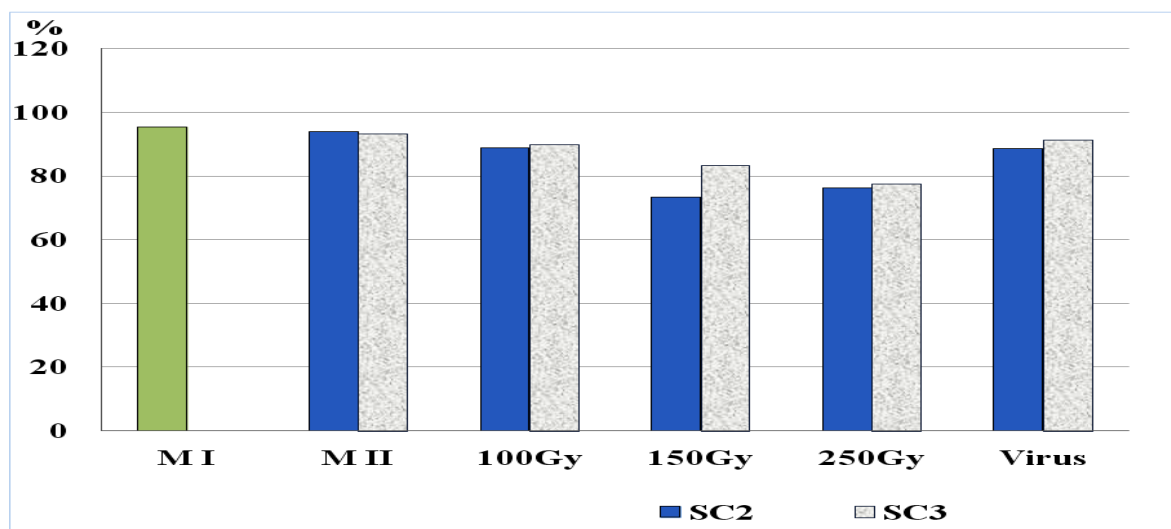


Fig. 4.10. Impactul infecției virale și a radiației gama asupra cotei de somaclone viabile (SC₂-SC₃): M I – plantule obținute din semințe; M II – somaclone (SC₂).

Analiza aspectului morfologic al somaclonelor de orz (SC₁-SC₂). Pentru obținerea somaclonelor (SC₁-SC₂) au fost semănate boabe ale regeneranților cu variații morfologice evidențiate în rezultatul evaluării aspectului morfologic al fiecărei somaclone. Analiza

comparativă a variațiilor morfologice ale descendenților (SC_1 - SC_2) cu regeneranții (SC_0) a demonstrat că, descendenții nu au prezentat modificări cu fluctuații largi în aspectul morfologic al paiului și frunzelor ceea ce s-a depistat la somaclonele (SC_0). În același timp, la descendenții (SC_1) au fost evidențiate plante cu diverse variații morfologice ce țin de dezvoltarea plantelor de orz: talia plantei, lungimea internodurilor pe rahisul spicului, poziția spiculețelor în spic, dezvoltarea spiculețului lateral, arisotelor, regiunii frunzei standart, tecii paiului (Figura 4.11).

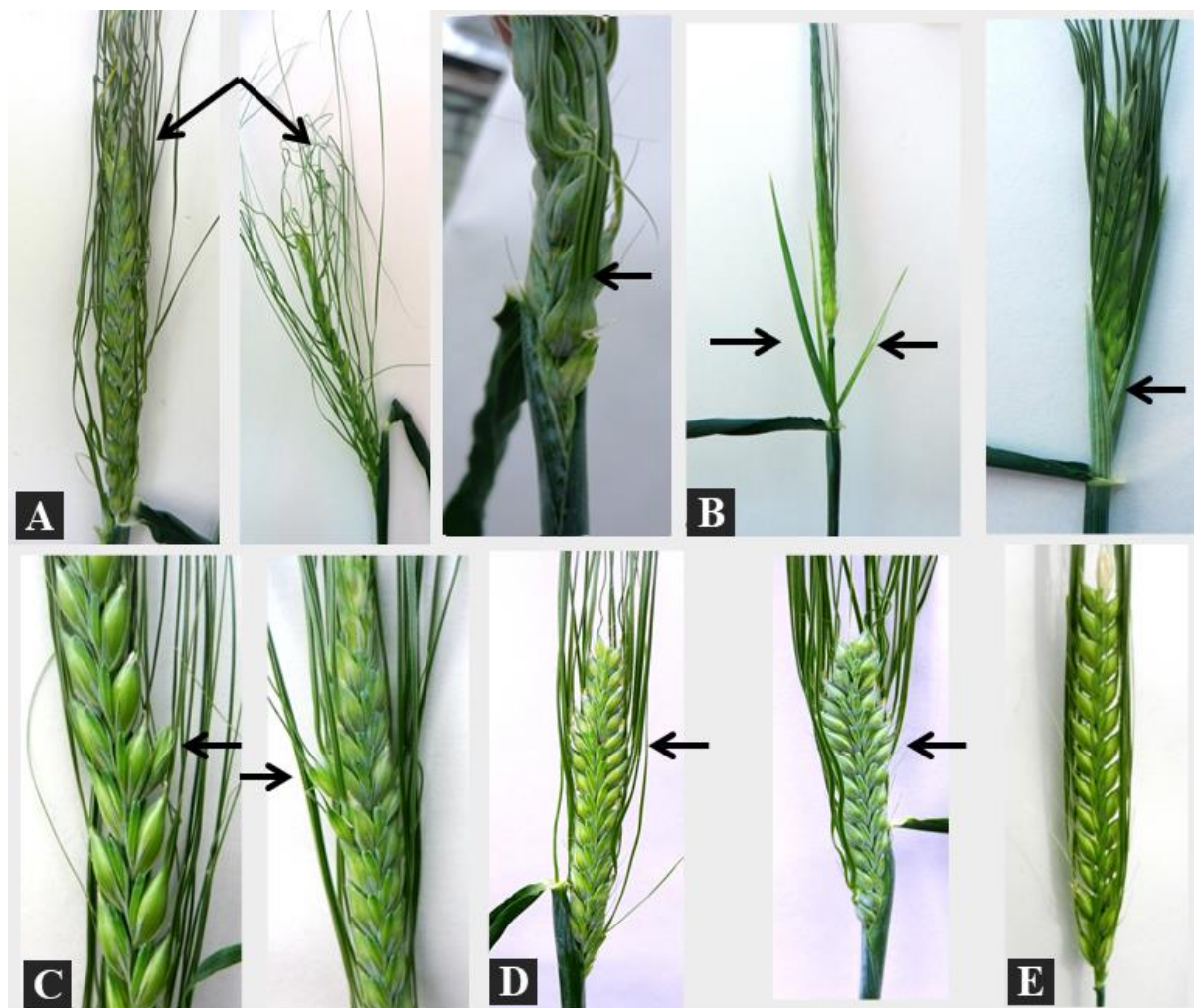


Fig. 4.11. Variații morfologice la somaclonele de orz (SC_1): A – spice cu ariste încrețite și îngroșate
 B – somaclone cu ligulă modificată, aspect de frunze; C – spice cu spiculeț lateral fertil; D – spice cu dispunerea opusă a spiculețelor pe rahis; E – spic cu dispunerea rară a spiculețelor fertile.

Evaluarea variațiilor somaclonale la regeneranții obținuți de la plantele virozate și iradiate a atestat lărgirea spectrului de variații morfologice comparativ cu regeneranții obținuți de la plantele sănătoase [13]. Spectrul de variații morfologice a fost dependent de genotipul plantei și de acțiunea factorilor mutageni aplicați. Unele din schimbările morfologice ale spicului s-au transmis și în generațiile ulterioare (Figura 4.12).

Astfel, variația morfologică *spic ramificat* s-a evidențiat la descendenții (SC₁), unde frecvența acesteia a constituit 95,23% și s-a transmis în generația SC₂ (Unirea 100 Gy). Necesari de remarcat că, la s. Unirea (SC₂), din plantule obținute de la donori nesupuși tratării și iradiați cu razele gama (150 Gy) au fost obținute plantule cu mutația *albino*, rata cărora a constituit 20,71% la somaclona SC₂-567 și 3% – SC₂-668.

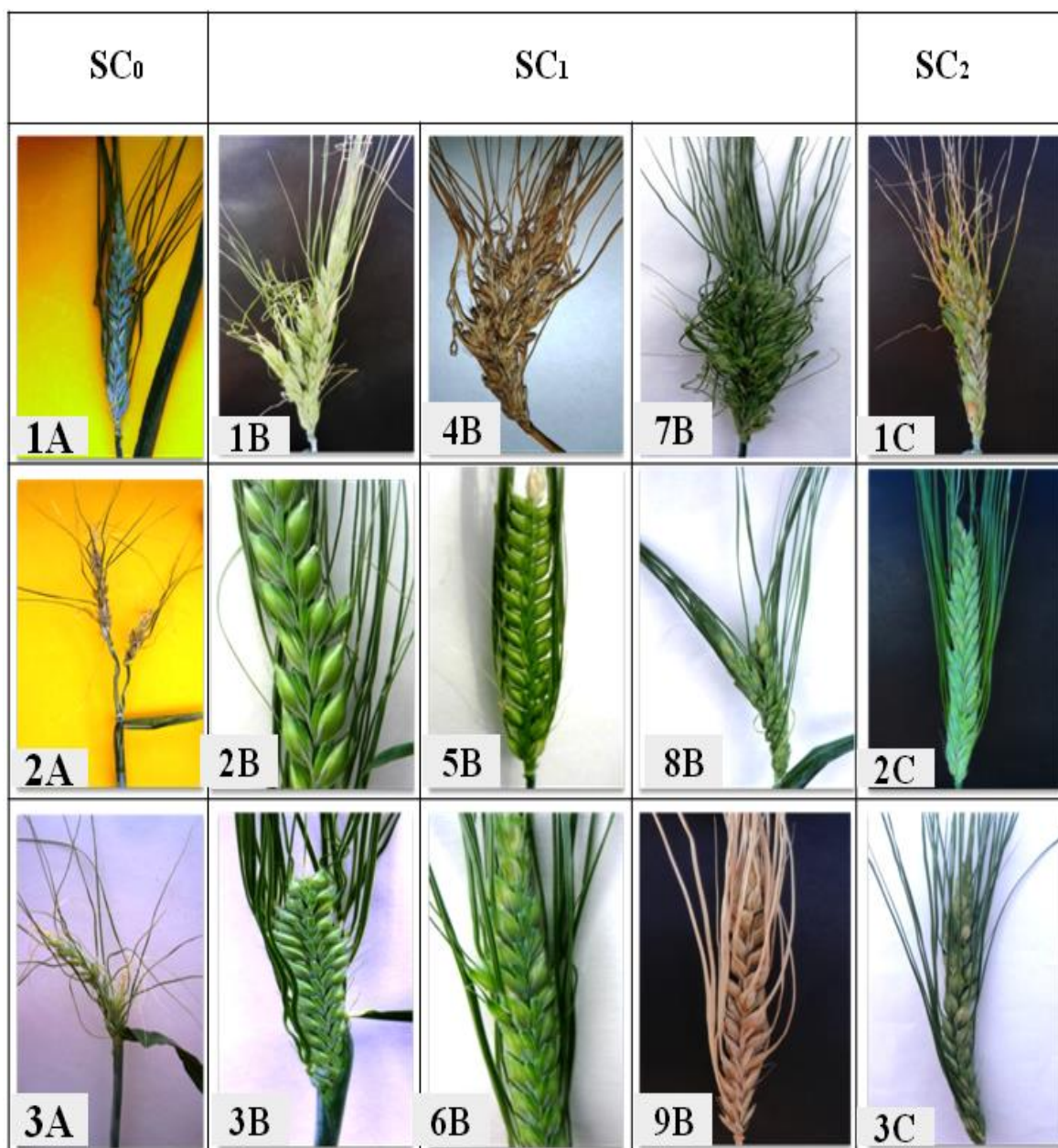


Fig. 4.12. Variații morfologice ale spicului la descendenții somaclonelor de orz (SC₁–SC₂) comparativ cu SC₀: 1A – spic ceros cu aristele groase și ondulate (U100 Gy); 2A – pai cu două spine (G100 Gy); 3A – spic bifurcat, cu spiculețul secundar steril (G150 Gy); 1B – spic trifurcat (U100 Gy); 2B – spic cu spiculețul lateral fertil (SV); 3B – spic compact cu dispunerea opusă a spiculețelor (G100 Gy); 4B – spic ramificat (U100 Gy); 5B – spic cu dispunerea rară a spiculețelor fertile (GM *in vitro*); 6B – spic cu trei spiculețe laterale sterile (GV); 7B – spic modificat (U100 Gy); 8B – spic bifurcat (GM); 9B – spic cu trei spiculețe fertile (GM); 1C – spic trei spiculețe fertile în rând (G100 Gy); 2C – spic compact (G100 Gy); 3C – lipsa spiculețelor sterile în spic (GV).

De asemenea, în rezultatul evaluării comparative a ratei variațiilor s-a evidențiat sporirea cotei de abateri morfologice la descendenții de orz de primăvară (SC_1) la soiul Sonor, indicii căreia s-au majorat de 1,21 - 4,40 ori comparativ cu somaclonele SC_0 (Figura 4.13).

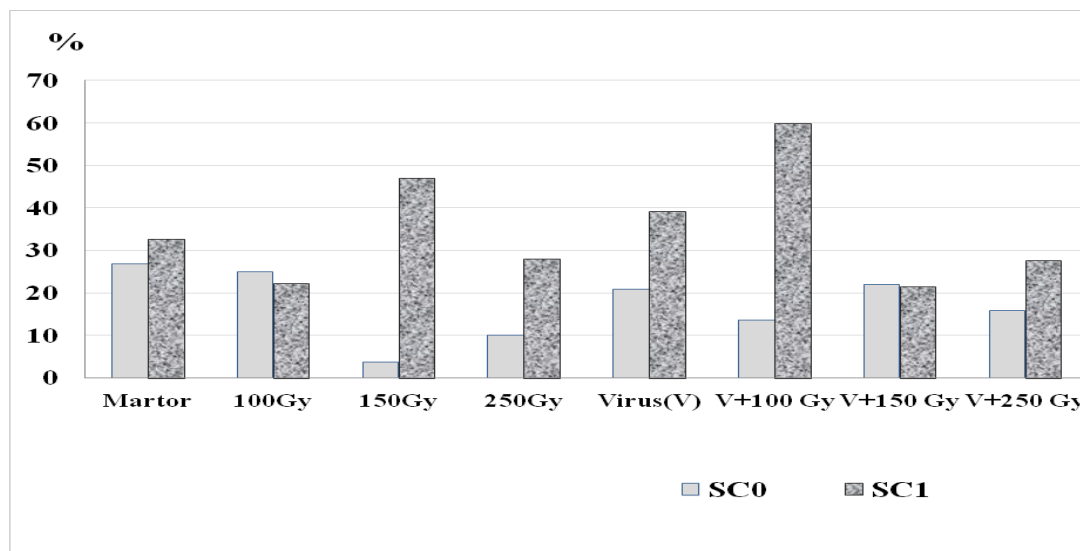


Fig. 4.13. Cota de variații morfologice la somaclonele (SC_0) și descendenții (SC_1) de orz de primăvară, s. Sonor.

Evaluarea caracterelor cantitative la somaclonele SC_1 - SC_2 . Cercetările noastre anterioare au stabilit că infecția virală și radiația gamma separat sau în asociere, generează variații fenotipice utile ale unor trăsături cantitative care pot fi utilizate pentru a spori variabilitatea genetică la regeneranții orzului (SC_0) [20, 101]. Conform datelor din literatura de specialitate variația fenotipică a trăsăturilor plantelor poate fi rezultatul modificărilor genetice și epigenetice sub influența diferiților factori de stres biotici și abiotici, inclusiv raze gama și virusuri [7, 33, 43]. Una dintre modificările epigenetice majore este metilarea ADN-ului care modifică expresia genelor și este ușor transmisă generațiilor ulterioare. În același timp, este important de evidențiat că modificările epigenetice prezintă instabilitate și sunt influențate de mediu, iar unele modificări epigenetice pot duce la variații fenotipice ereditare, în timp ce altele nu conduc la careva schimbări [33, 43].

Astfel, a fost efectuată evaluarea efectului VMDO și razelor gama asupra caracterelor agronomice la descendenții de orz (SC_1) în comparație cu regeneranții SC_0 .

În rezultatul analizei comparative a aceluiași genotip s-au evidențiat cote similare de caractere cu devieri semnificative ale valorii medii față de varianta martor la regeneranții SC_0 comparativ cu descendenții SC_1 , cu excepția genotipurilor Sonor și Unirea (Figura 4.14).

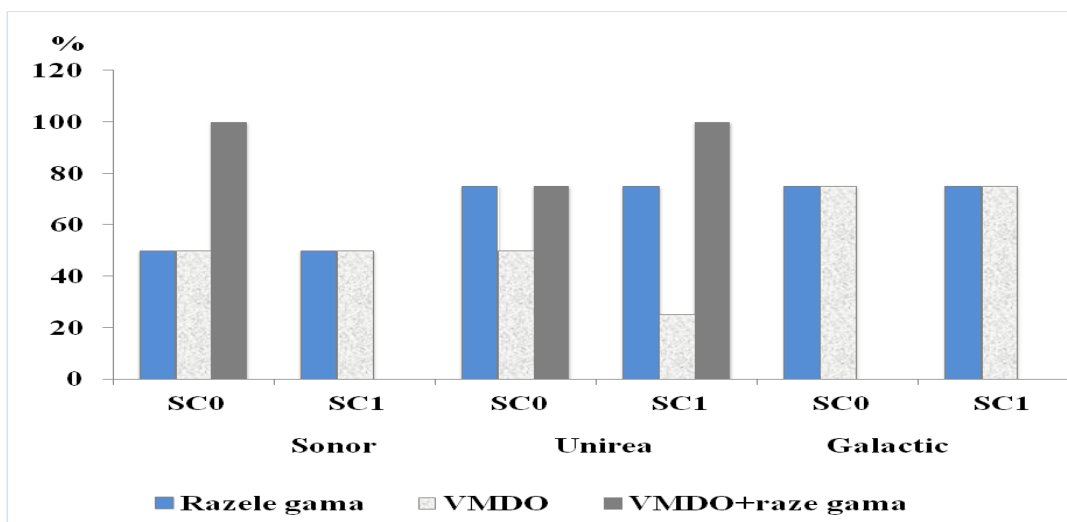


Fig. 4.14. Cota caracterelor cu diferențe semnificative față de martor la regeneranții SC₀ și descendenții SC₁.

Aceste genotipuri prezintă un număr mai mic de caractre cu devieri semnificative ale valorii medii față de martor în generația SC₁, pentru variantele infectate cu VMDO și VMDO + razele gama (0-25%) sau o rată mai mare de caractere cantitative pentru VMDO + raze gama, s. Unirea (100%). VMDO și radiația gama au influențat manifestarea caracterelor cantitative la soiurile evaluate în dependență de genotip, caracterul analizat și generație.

În cazul genotipului Sonor, radiația gamma (250 Gy) a mărit valorile medii ale caracterelor TPL și LUI cu 10,97 - 14,78% față de martor în generația SC₁ (P ≤ 0,001), deși nu a influențat semnificativ acești parametri în generația SC₀ (Figurile 4.15, 4.16).

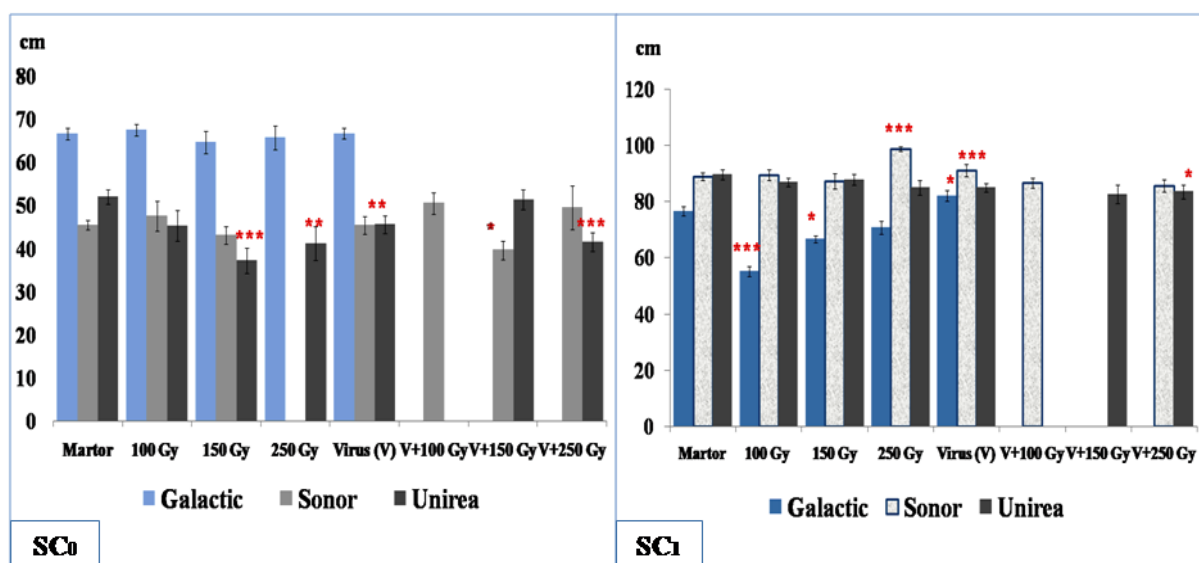


Fig. 4.15. Influența VMDO și razelor gama asupra caracterului TPL la somaclonele SC₀-SC₁: *, **, *** – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.

Totodată, pentru descendenții SC₁, ai soiurilor Galactic și Unirea s-au stabilit valori mai mici ale acestor caractere cu 13,10 - 46,29% (P≤ 0,05 - 0,001) la variantele iradiate cu raze gamma (100 – 250 Gy), comparativ cu controlul, cu excepția s. Unirea (caracterul TPL, fără diferențe semnificative).

VMDO separat sau în asociere sau în asociere cu razele gamma (150 - 250 Gy) a redus semnificativ valoarea medie a caracterelor TPL (cu 6,83 %) și LUI (cu 11,32 - 12,28 %) în generația SC₁, doar la genotipul Unirea.

În timp ce descendenții (SC₁) genotipurilor Sonor și Galactic au prezentat valori mai mari ale TPL (cu 2,3 - 7,15 %) și LUI (cu 9,90 - 11,32%), cu abateri semnificative de la martor pentru varianta VMDO, contrar generației SC₀.

Este important de menționat că descendenții SC₁ ai soiurilor Unirea și Galactic din variantele iradiate gamma (100, 250 Gy), VMDO și VMDO + raze gamma (250 Gy) au prezentat aceeași tendință de micșorare a caracterelor TPL și LUI în comparație cu regeneranții SC₀ (Figurile 4.15, 4.16). Valorile joase ale TPL și LUI determină rezistența la cădere la plantele de orz și joacă un rol indirect important în formarea productivității.

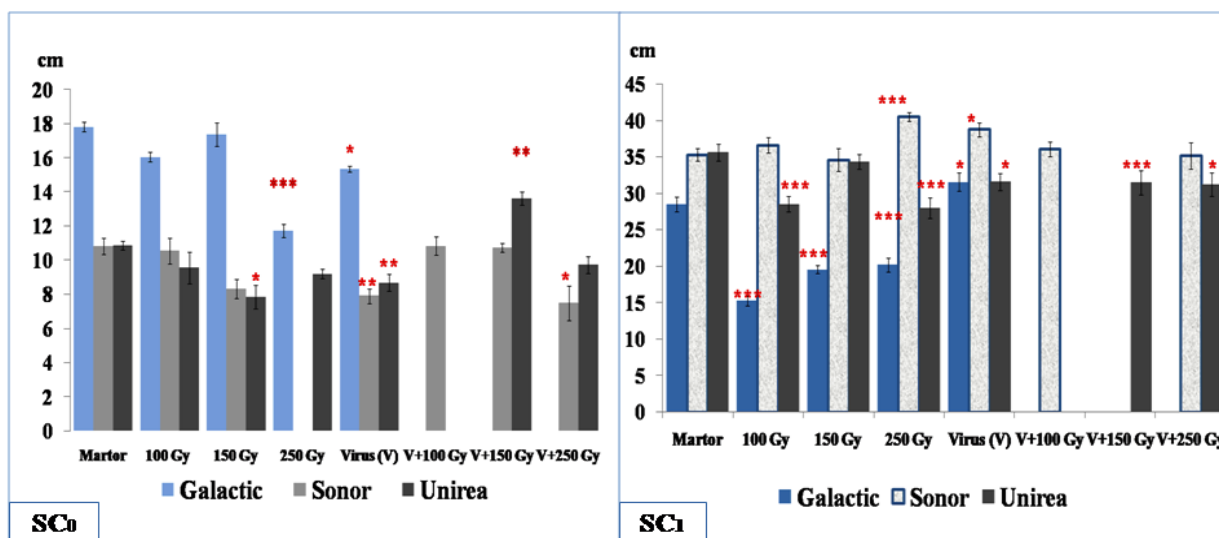


Fig. 4.16. Influența VMDO și razelor gama asupra valorii medii a caracterului LUI la somaclonele SC₀-SC₁: *, **, *** – diferență semnificativă pentru P≤ 0,05; 0,01; 0,001

În ceea ce privește caracterele asociate direct cu productivitatea (NFF și NBSP), radiația gama (250 Gy) și VMDO (doar pentru s. Unirea, NFF) au determinat o reducere semnificativă (P≤ 0,01; 0,001) a valorii medii (cu 22,00 - 35,23%) în comparație cu varianta martor, pentru caracterul NFF (s. Galactic, Unirea) și caracterul NBSP (s.Unirea) la descendenții SC₁ contrar valorilor medii ale acestor caractere la regeneranții SC₀, cu excepția s. Sonor (diferențe nesemnificative) (Figurile 4.17, 4.18).

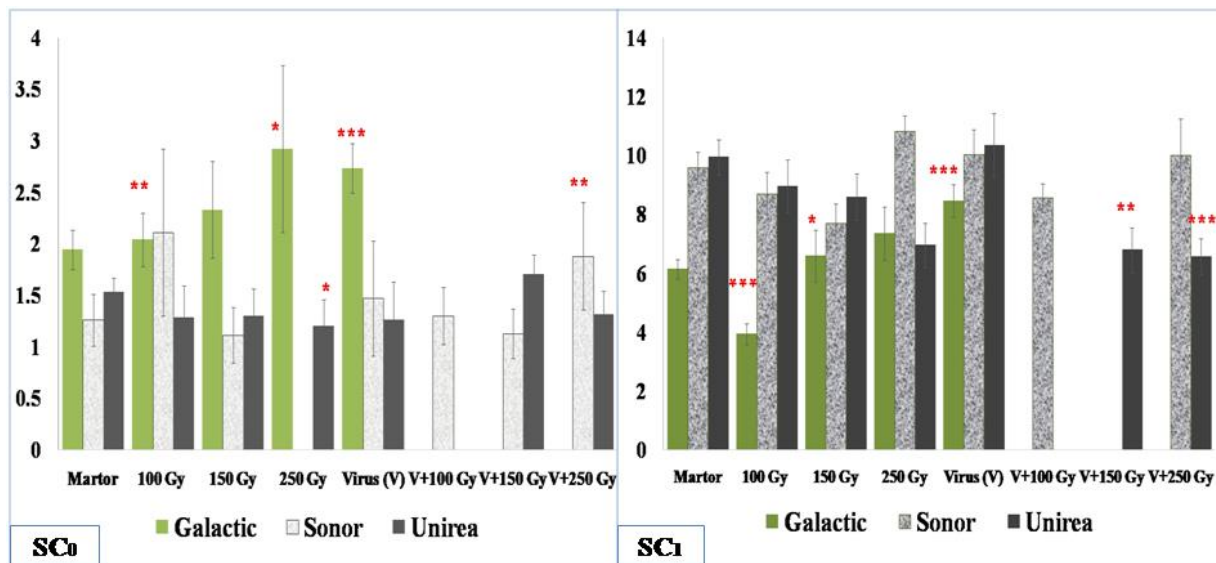


Fig. 4.17. Influența VMDO și razelor gama asupra caracterului NFF la somaclonele SC₀-SC₁: *, **, *** – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.

De asemenea, genotipurile au manifestat aceeași tendință doar pentru NFF la plantele SC₀ - SC₁, raze gama (valoare medie mai mică decât martorul) și VMDO (mai mare față de martor).

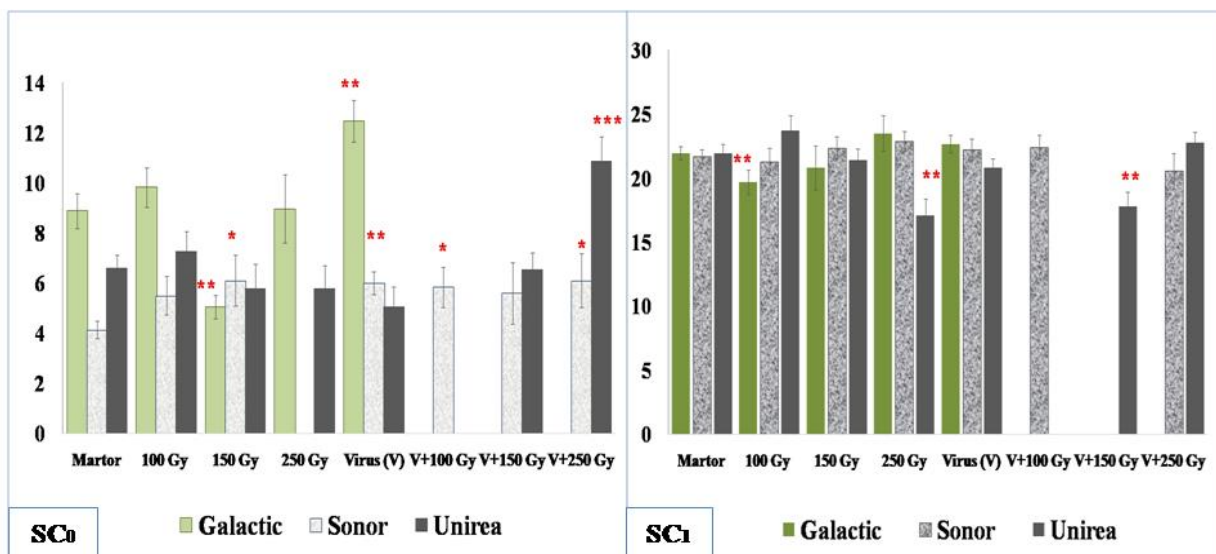


Fig. 4.18. Influența VMDO și razelor gama asupra caracterului NBSP la somaclonele SC₀-SC₁: *, **, *** – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.

Analiza varianței a stabilit variații semnificative ale parametrilor cantitativi, în funcție de genotip, caracter, generație, precum și interacțiunea genotipului cu factorii studiați. Genotipul a avut contribuție semnificativă în variația caracterelor studiate (PI = 14,99 - 38,84%), urmată de interacțiunea *genotip x doza de radiație* (PI= 5,20 - 10,40%), *razele gama x VMDO* (PI = 2,54%) și *genotip x virus* (PI = 2,35%). Important de menționat că factorii studiați au avut o contribuție proximă (*doza de radiație* și *radiația x virus*) sau un impact mai mare (*genotip x*

doza de radiații) asupra variației caracterelor ce țin de arhitectura plantelor la descendenți (SC₁) comparativ cu regeneranții SC₀. Astfel, rezultatele obținute confirmă influența semnificativă a radiației gama (100 - 250 Gy) și a infecției virale asupra variației caracterelor arhitecturale și de productivitate la descendenții SC₁ și sugerează ideea efectului intergenerațional al acestor factori, în funcție de genotip (Tabelele A 2.1, 2.2).

În rezultatul analizei varianței caracterelor cantitative la somaclonele (SC₂) s-a atestat, că asupra caracterelor – LSP, NSP, NI au influențat statistic semnificativ 3 factori (genotipul, radiația, condițiile *in vitro*), iar asupra indicilor TPL, NBSP, NFF – 4 factori (genotip, radiația, cultivarea *in vitro* și infecția virală) (Tabelul A 2.3).

Impactul radiației în explantele inițiale nu a influențat semnificativ NFF per plantă. Valorile puterii de influență a infecției virale asupra caracterelor: TPL, NFF, NBSP la descendenții (SC₂) analizați au variat în limitele 3,52% până la 4,96%.

Contribuția procentuală a radiației gama asupra indicilor biomorfologici (LSP, NFF, NSP, NBSP, NI, TPL) a constituit valori de la 1,07% până la 14,27%, datele fiind veridice pentru $P \leq 0,001$. Ponderea genotipului în manifestarea acestora a atins valori de 1,60 - 19,64%, în dependență de caracterul biomorfologic analizat. Cele mai înalte valori ale acestui indice au fost înregistrate pentru caracterele NFF (PI = 14,45%) și TPL (PI = 19,64%). Influența genotipului este statistic semnificativă pentru toate caracterele biomorfologice studiate. Valorile puterii de influență a condițiilor *in vitro* asupra caracterelor analizate este maximă pentru NFF și NI (PI = 21,58 - 22,92%), fiind semnificativă în intervalul de încredere de 99%.

În scopul analizei influenței VMDO și radiației gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC₂) somaclonelor de orz a fost determinat coeficientul de variație (CV, %).

Conform investigațiilor efectuate s-a constatat că valorile indicelui de variabilitate depind de genotip, caracterul analizat și sursa de variație. Coeficientul de variabilitate pentru caracterul TPL la varianta martor I a constituit 6,79% – (s. Unirea), 10,45% – (s. Galactic), 10,51% – (s. Sonor), iar la martorul II acest indice a atins 9,31% – (s. Unirea), 8,71% – (s. Galactic), 8,91% – (s. Sonor). (Figura 4.19 A).

Aceste valori denotă variația mică și medie a caracterelor conform clasificării. Valoarea maximă a CV,% pentru caracterul respectiv s-a înregistrat la regeneranții obținuți din explante supuse infecției virale, parametrul atingând valoarea de 14,31%, s. Unirea.

CV pentru caracterele ce determină productivitatea la orzul de primăvară (LSP, NSP și NBSP) a fost determinat de genotip, doza radiației și caracterul analizat (Figurile 4.19, 4.20).

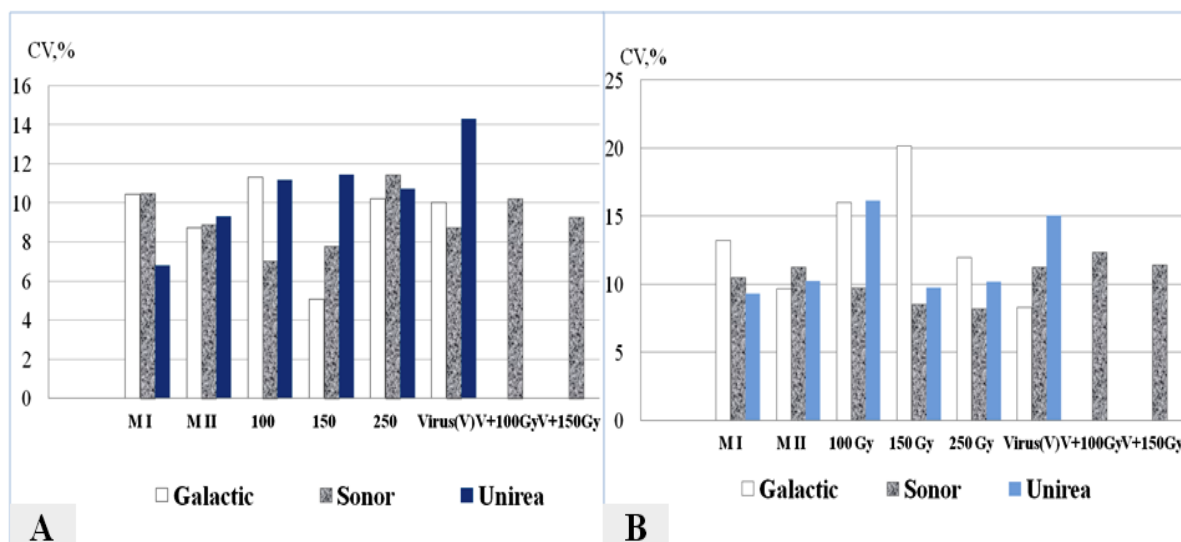


Fig. 4.19. Influența virusului și a radiației gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC₂) somaclonelor de orz: A –TPL; B – LSP; M I – plante obținute din semințe; M II - plante obținute *in vitro*.

Pentru LSP s-a înregistrat variația medie a indicelui analizat la s. Galactic și s. Unirea, variantele iradiate în doze de 100 Gy (15,99%; 16,14% respectiv) și la s. Galactic 150 Gy (s. Galactic), precum și la plantele obținute din explante supuse infecției virale (15,04%).

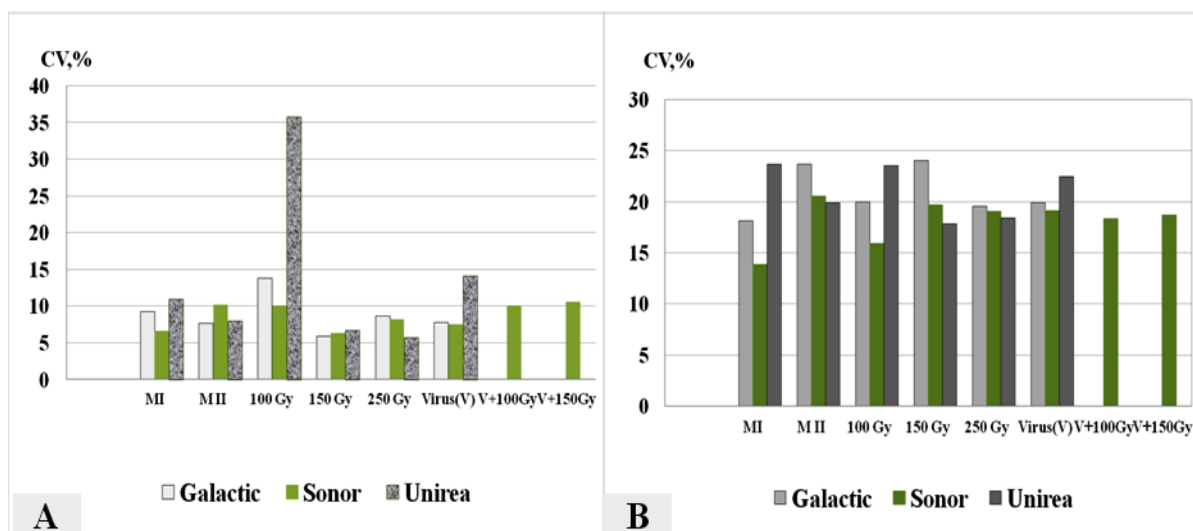


Fig. 4.20. Influența virusului și a radiației gama asupra variabilității caracterelor biomorfologice la descendenții (SC₂) somaclonelor de orz: A – NSP; B – NBSP; M I – plante obținute din semințe; M II – plantule obținute *in vitro*.

Nivelul mediu și înalt de variabilitate pentru caracterul NSP s-a atestat la plantele obținute de la donori iradiați cu razele gama în doza 100 Gy pentru genotipul Galactic (13,8%), Unirea (35,79%) și la variantele supuse infecției virale (14,14%) la s. Unirea. Caracterul NBSP a variat puternic la variantele acestui soi supus radiației gama în doza de 100 Gy (23,52%) și la s. Galactic (24,04%) în doza de 150 Gy.

4.3. Identificarea genotipurilor cu însușiri agrobiologice nespecifice formelor inițiale și evaluarea somaclonelor de orz de primăvară (SC₂-SC₃) descendente a formelor cu variații morfologice

În scopul selectării formelor cu caractere agronomice valoroase a fost determinată MMB la descendenții SC₁-SC₂ de orz de primăvară. Analiza valorii MMB a evidențiat că acest indice a variat în ambele direcții la formele alese în comparație cu martorul, fiind determinată de genotip, factorul utilizat și forma aleasă. Prezintă interes valorile maxime ale indicelui ce determină direct productivitatea. Prin urmare, în rezultatul evaluării descendenților (SC₂) obținuți de la explante sănătoase, *in vitro* (Martor II) au fost alese trei forme (SC₂-165, SC₂-162, SC₂-124) la soiul Galactic și formele SC₂-506, SC₂-252 la soiul Unirea și Sonor (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Valorile masei a 1000 de boabe per somaclonă (SC₂) la plantele de orz obținute din explante supuse acțiunii radiației gama și infecției virale

Genotip	Martor I	Martor II		100Gy		150Gy		250Gy		VMDO	
	MMB,g	SC ₂	MMB,g	SC ₂	MMB,g	SC ₂	MMB,g	SC ₂	MMB,g	SC ₂	MMB,g
Galactic	48,05	165	62,01	76	38,82	20	54,6	53	41,68	42	54,81
		162	53,94	171	42,03			3	51,72	65	55,35
		124	52,12	109	43,07					67	58,64
				130	41,78					134	46,96
				80	48,1					185	51,62
				148	51,99					187	49,80
Unirea	56,15	617	52,92	623	38,9	567	51,15	665	43,88	625	48,66
		615	52,3	622	42,57	568	48,54	669	52,93	626	42,52
		560	53,47					670	58,06	681	47,08
		506	60,53					672	53,73	686	49,02
		668	51,23								
Sonor	57,43	252	58,63	215	50,7	447	59,42	673	54,87	306	56,34
		501	51,94	223	54,85	323	57,75	674	56,19	493	51,66
		348	53,56	350	52,63					366	51,24
		240	57,29							305	54,57
		499	55,95							11	59,73
		208	56,34								
		206	57,86								

M I – plante obținute din semințe; M II – somaclone derivate de la semințele variantei martor.

Masa a 1000 de boabe la formele respective au atins valori cu 1,2-13,5 grame mai ridicate în comparație cu genotipurile inițiale. La genotipul Galactic valoarea acestui indice la descendenții obținuți de la donori iradiați a depășit martorul cu 3,67-3,94 grame (100 Gy, 250 Gy), 6,55 grame (150 Gy) și 1,91-1,99 grame (150 Gy, 250 Gy) la genotipurile Sonor și Unirea. Astfel, din descendenții obținuți de la explante infectate au fost selectate patru forme (SC₂-42, SC₂-65,

SC₂-67, SC₂-185) la care MMB a atins valori mai mari cu 3,57 - 10,59 grame în comparație cu genotipurile inițiale. În total au fost alese 15 forme cu valori mai înalte ale MMB, față de genotipurile inițiale.

Cele mai multe forme (10) au fost selectate de la descendenții somaclonelor s. Galactic: 3 forme de la somaclonele martor (doar prin cultura *in vitro*); 3 forme de la somaclonele variantelor experimentale cu iradiere gama (100 Gy, 150 Gy, 250 Gy) și 4 forme de la somaclonele variantelor obținute prin infectare cu VMDO al orzului.

La descendenții soiului Sonor au fost selectate 3 forme care au depășit MMB față de genotipul donor de explante: 1 formă de la somaclonele martor (doar prin cultura *in vitro*); 1- de la somaclona variantei experimentale cu iradiere gama 150 Gy; și 1 – de la somaclona variantei obținute prin infectare cu VMDO. Din cadrul descendenților s. Unirea au fost selectate 2 forme obținute prin cultura *in vitro* și varianta de la explante iradiate cu raze gama (250 Gy).

De asemenea, în rezultatul evaluării descendenților (SC₂-SC₃) somaclonelor de orz de primăvară selectați din formele cu variații morfologice, a fost pusă în evidență moștenirea schimbărilor în structura inflorescenței: spic bi-, trifurcat, ramificat, cu spiculețe laterale fertile, la s.Unirea (SC₂-623, SC₂-622, SC₂-621), plantule obținute de la donori supuși iradierii cu razele gama (100 Gy) și la regeneranții soiului Sonor (SC₃-11) obținuți de la donori infectați cu VMDO (Figura 4.12). Cota plantelor care au moștenit variațiile respective în generațiile ulterioare a constituit 15% - 42%.



Fig. 4.21. Variațiile morfologice ale spicului la descendenții somaclonelor de orz (SC₂-SC₃) selectați din formele cu cele mai expresive variații ale caracterelor studiate: A – s. Sonor (SC₃-11/Virus); B - Martor; C – s. Unirea (SC₂-622/100Gy); D – s. Unirea (SC₂-623/100Gy).

Aprecierea impactului infecției virale și razelor gama în inducerea formelor cu variații biomorfologice la orzul de primăvară, denotă dependența capacității de generare a variațiilor indicilor analizați de genotip, caracterul analizat, tipul și doza factorilor exogeni utilizați și condițiile de cultivare.

În urma investigării valorii medii a caracterelor ce determină direct sau indirect productivitatea a descendenților de orz (SC₂-SC₃) selectați din formele cu cele mai pronunțate variații au fost evidențiate diferențe semnificative ale acestui indice în comparație cu plantele obținute din semințe netratate (Martor I) și plantulele obținute din explante sănătoase (Martor II). Indicii valorii medii la formele evaluate au variat în dependență de genotip și caracterul biomorfologic analizat (Tabelul 4.2)

Tabelul 4.2. Caractere de productivitate medii la formele de orz selectate

Variantă	TPL, cm	LSP, cm	NF	NFF	NSP	NBSP
	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$
Unirea (U) Martor I	95,68±0,91	11,78±0,15	2,41±0,17	0,88±0,10	31,80±0,48	22,39±0,7 4
UM II	90,10±0,83	10,90±0,11	1,37±0,09	0,43±0,07	28,41±0,22	17,88±0,3 5
U-100 Gy SC ₂ - 623 SC ₂ - 622	79,33±1,11 ***+++	11,81±0,37 +++	0,96±0,09 *** +++	0,11±0,04 *** +++	54,81±2,41 *** +++	26,21±1,0 4 **+++
Sonor (S) Martor I	92,28±1,37	11,32 ± 0,17	2,58±0,20	5,14±0,33	29,36±0,28	20,12±0,3 9
SM II	91,12±0,59 68,0÷109,0	10,57±0,08 6,5÷13,5	1,52±0,06 0,0÷5,0	0,53±0,04 0,0÷2,0	27,65±0,20 18,0÷33,0	17,27±0,2 6 10,0÷26,0
SV- SC ₃ -11	98,06±1,07 ** +++	11,41±0,16 +++	0,97±0,13 ***++	0,21±0,10 *** ++	30,52±0,28 **++++	18,54±0,6 3 *

*, **, *** – diferențe semnificative pentru $P \leq 0,05, 0, 01; 0,001$, față de M I (plantule din semințe); ++,+++ – diferența semnificativă pentru $P \leq 0, 01; 0,001$, față de M II (somaclone SC_{2,3}, varianta martor).

Astfel, la forma SC₂-623 (s. Unirea), NBSP și NSP s-au mărit cu 17,06 - 72,36% în comparație varianta martor I și 46,59-92,93% - față de martorul II, diferențele fiind statistic veridice. Media caracterului LSP s-a majorat cu 8,34% în comparație cu acest indice la plantele descendente de la somaclonele obținute din explante iradiate dar nu a depășit valoarea medie a plantelor provenite din semințe.

Analiza datelor la la forma SC₃-11 (genotipul Sonor) pentru caracterele TPL, NFF a demonstrat mărirea acestei valori cu 6,26 - 7,62% și 7,95 - 11,32% în comparație cu variantele martor respective, rezultatele fiind confirmate statistic. Lungimea spicului s-a mărit cu 7,95% în comparație cu martorul II, datele fiind veridice pentru $P \leq 0,001$.

Pentru indicii biomorfologici NF, NFF, NBSP media a atins valori cu 7,85 - 95,91% mai scăzute în comparație cu martorul.

Este cunoscut că fiecărui caracter, ca și genotipului îi este caracteristică o anumită normă de reacție, de aceea este important de a estima variația acestui indice la formele cu cele mai

pronunțate variații morfologice ale spicului. Astfel, la formele de orz, a fost evidențiată modificarea valorii coeficientului de variație (CV,%) în dependență de genotip și caracterul cantitativi studiat. În urma evaluării indicelui de variație, pentru forma SC₂-623 (genotipul Unirea), la caracterele ce determină direct productivitate (LSP, NSP, NBSP) s-a observat variație considerabilă a acestuia în comparație cu variantele martor (Figura 4.22).

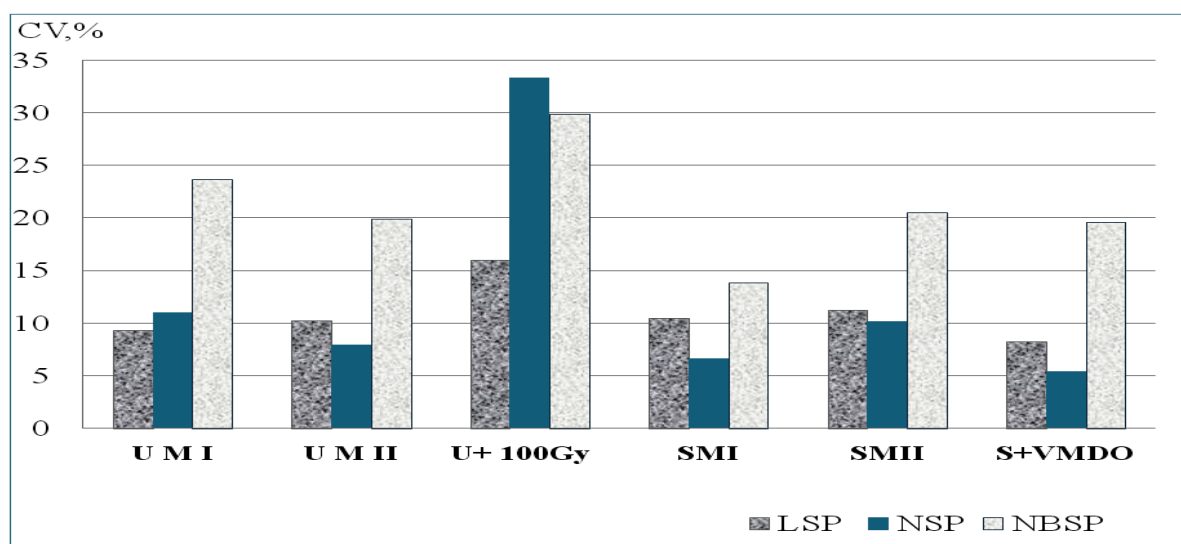


Fig. 4.22. Coeficientul de variație a unor caractere morfologice ale spicului:
UM I – plante obținute din semințe, s. Unirea; M I I – plantule obținute *in vitro*, s.Unirea
S M I – plante obținute din semințe, s. Sonor; S M I I – plantule obținute *in vitro*, s.Sonor.

Prin urmare, pentru indicii biomorfologici LSP (15,97%), NSP (33,31%) și NBSP (29,9%) coeficientul de variație s-a majorat de 1,26 - 3,03 ori în comparație cu caracterele la plantele obținute din semințe și de 1,5 - 4,17 ori față de martor II.

Analiza coeficientului de variație la forma SC₃-11 (genotipul Sonor), a evidențiat mărirea gradului de variabilitate pentru NBSP, unde această valoare a constituit 19,63% – de 1,05 - 1,42 ori mai mare în comparație cu varianta martor.

4.4. Aprecierea polimorfismului proteinelor de rezervă la somaclonele de orz de primăvară obținute de la forme supuse acțiunii infecției virale și radiației gama

Pentru extracția proteinelor de rezervă semințele au fost prelevate randomizat de la formele de orz obținute de la s. Galactic: SC₂-165, SC₂-124 (*In vitro*), SC₂-148 (100 Gy), SC₂-20 (150 Gy); SC₂-3 (250 Gy), SC₂-42, SC₂-67 (VMDO); s. Unirea: formele SC₂-668 (*In vitro*), SC₂-622, SC₂-623 (100 Gy), plante cu inflorescență ramificată și neramificată, SC₂-672 (250 Gy), SC₂-686 (VMDO); s. Sonor: SC₃-11,5; SC₃-11,8; SC₃-11,11 (VMDO).

Analiza electroforetică a hordeinelor extrase din semințele soiurilor Galactic, Unirea și somaclonelor (SC_2) a pus în evidență 35 benzi polipeptidice cu masa moleculară cuprinsă între 65 și 10 kDa. Pentru fiecare genotip analizat a fost stabilit spectrul tipic al fracțiilor proteice și identificate 4 polipeptide (10; 47,0; 39,0; 36,0 kDa) comune pentru ambele soiuri. În rezultatul comparării fracțiilor proteice, cele mai multe benzi polipeptidice au fost remarcate la s. Galactic (13), în timp ce la s. Unirea au fost constatate doar 10 fracții.

În procesul de extracție în sodium dodecilsulfat hordeinele au fost separate în trei fracții A, B, C. Conform rezultatelor diferiților cercetători, C-hordeinele pot fi separate în polipeptide cu masa moleculară cuprinsă între 50-86 kDa, B-hordeinele între 28-50 kDa, iar A-hordeinele pot fi divizate în fracții cu masa moleculară mai mică de 30 kDa [46, 242].

În rezultatul cercetărilor noastre, masa moleculară a fracțiilor polipeptidice pentru hordeinele C a variat de la 50,7 până la 64,5 kDa, pentru hordeinele B – 30,8 - 48,7 kDa, iar pentru hordeinele A – de la 10 până la 27,5 kDa (Figura 4.23).

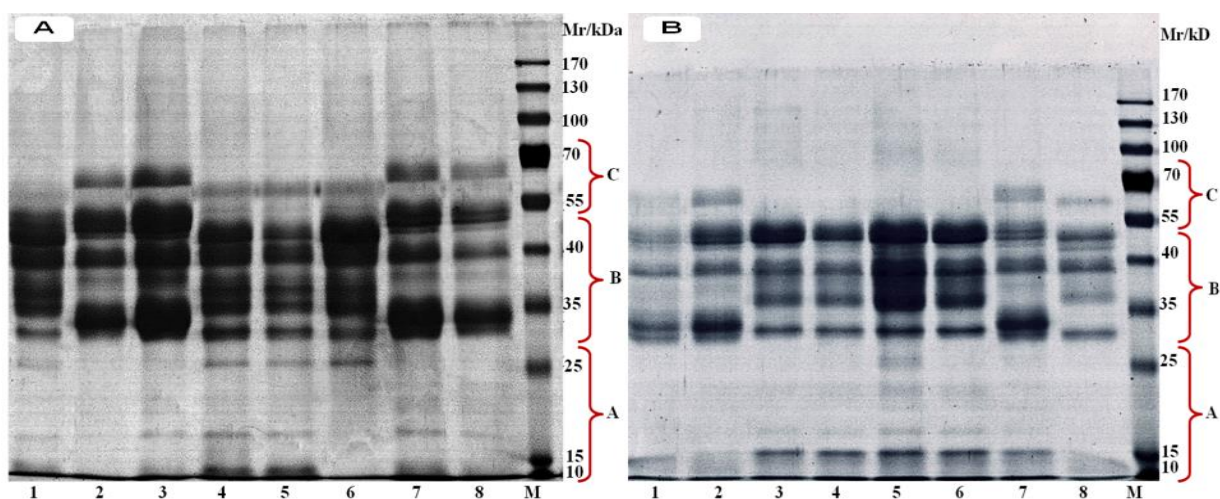


Fig. 4.23. Electroforegrama hordeinelor în semințele de orz: A₁ – s. Galactic (Martor); A₂ – SC_2 - 165 (*in vitro*); A₃ – SC_2 -124 (*In vitro*); A₄ – SC_2 -148 (100 Gy); A₅ – SC_2 -20 (150 Gy); A₆ – SC_2 -3 (250 Gy); A₇ – SC_2 -42 (VMDO); A₈ – SC_2 -67 (VMDO); B₁ - s. Unirea (Martor); B₂ – SC_2 -668 (*In vitro*); B₃ – SC_2 -622, B₄ – SC_2 -623, plante cu spic neramificat; B₅ – SC_2 -622, B₆ – SC_2 -623, plante cu spic ramificat; B₇ – SC_2 -672 (250 Gy); B₈ – SC_2 -686 (VMDO); M – marcheri moleculari.

Cele mai multe fracții proteice au fost identificate în diapozonul 30,8 - 48,7 kDa (hordeine B), pentru ambele soiuri și toate formele analizate, ceea ce corespunde cu datele atestate în literatură, în care se menționează că fracțiile B constituie majoritatea deplină, însumând cca 70-80% din totalul de hordeine. În ceea ce privește fracțiile polipeptidice din grupa C și A, se consideră ca acestea reprezintă 10-20% și respectiv 5% din totalul de hordeine [181], ceea ce nu s-a evidențiat la genotipurile și somaclonele evaluate, unde numărul benzilor

proteice cu masa moleculară cuprinsă între 10 - 27,5 kDa a depășit numărul fracțiilor cuprinse între 50,7 - 64,5 kDa, cu excepția varinței control și formei SC₂-168 (*In vitro*), s. Unirea.

În rezultatul evaluării comparative a spectrelor hordeinelor extrase din boabele soiurilor Galactic, Unirea și a formelor de orz cu însușiri agrobiologice de interes, s-a evedențiat inducerea unui polimorfism exprimat prin prezența sau absența unor fracții proteice și prin majorarea sau diminuarea cantitativă a benzilor polipeptidice din fiecare grupă proteică.

Analiza spectrelor hordeinelor din grupa A, la genotipul Galactic, somaclonele SC₂-165, SC₂-124 (*In vitro*), SC₂-3 (250Gy), SC₂-42, SC₂-67 (VMDO) a pus în evidență absența unor fracții proteice prezente la varianta martor. Astfel, la formele SC₂-165, SC₂-124 (*In vitro*) a fost evidențiată lipsa a 3 benzi (12,0; 25,8; 27,5 kDa) și respectiv, două benzi polipeptidice (27,5; 25,8 kDa). La somaclonele SC₂-3 (250 Gy), SC₂-42, SC₂-67 (VMDO) s-a constatat dispariția componentelor proteice de 12,0 și respectiv 25,8 kDa. În spectrele proteinelor extrase din semințele somaclonelor SC₂-148 (100 Gy) și SC₂-20 (150 Gy) au fost remarcate variații doar cu caracter cantitativ (Tabelul 4.3). În rezultatul comparării spectrelor polimorfe a izoformelor proteinelor marcher din grupa B, extrase din semințele soiului Galactic și a formelor selectate s-a remarcat prezența a 5 izoforme noi.

Tabelul 4.3. Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele A) extrase din boabele de orz, s. Galactic

N	Genotip / Variantă															
	Martor		SC ₂ -165 (<i>In vitro</i>)		SC ₂ -124 (<i>In vitro</i>)		SC ₂ -148 (100Gy)		SC ₂ -20 (150Gy)		SC ₂ -3 (250Gy)		SC ₂ -42 (VMDO)		SC ₂ -67 (VMDO)	
	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa
1	27,5	—	17,9	—	17,9	—	27,5	—	27,5	—	27,5	—	27,5	—	27,5	—
2	25,8	—	10,0	—	12,0	—	25,8	—	25,8	—	25,8	—	17,9	—	17,9	—
3	17,9	—			10,0	—	17,9	—	17,9	—	17,9	—	12,0	—	12,0	—
4	12,0	—					12,0	—	12,0	—	10,0	—	10,0	—	10,0	—
5	10,0	—					10,0	—	10,0	—						

La somaclonele (SC₂-42, SC₂-67) obținute de la forme supuse acțiunii infecției virale s-a evidențiat apariția a trei benzi polipeptidice noi cu masa moleculară 30,8; 46,3; 48,7 kDa.

Inducerea unei benzi cu Mr 40,0 kDa a fost constatată la somaclonele SC₂-148 (100 Gy), SC₂-20 (150Gy), SC₂-3 (250 Gy). O bandă nouă ce reprezintă o fracție cu Mr 30,8 kDa a fost identificată la somaclonele obținute de la formele nesupuse infecției virale și radiației gama.

Pe lângă apariția unor fracții polipeptidice noi a fost remarcată și dispariția a 5 benzi proteice prezente la varianta martor. Prin urmare, la somaclonele SC₂-165, SC₂-124 (*In vitro*) nu a fost depistată fracția cu Mr 36,0 kDa, la formele obținute de la plante supuse iradierii gama – banda

cu Mr 44,7 kDa, iar la somaclonele SC₂-42, SC₂-67 (VMDO) a fost constatată dispariția a 3 benzi proteice cu masa moleculară 36,0; 44,7;47,1 kDa. Este important de menționat că la somaclonele obținute de la formele supuse acțiunii aceluiași factor mutagen a fost remarcat un spectru polimorf identic, dar cu diferențe cantitative ale componentilor proteici. La varianta martor și la toate somaclonele analizate, au fost stabilite 2 fracții polipeptidice comune cu masa moleculară 39,3; 37,2 kDa, deosebite doar prin variații cantitative (Tabelul 4.4).

Tabelul 4.4. Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele B) extrase din boabele de orz, s. Galactic

N	Genotip/Varianta															
	Martor		SC ₂ -165 (<i>In vitro</i>)		SC ₂ -124 (<i>In vitro</i>)		SC ₂ -148 (100Gy)		SC ₂ -20 (150Gy)		SC ₂ -3 (250Gy)		SC ₂ -42 (VMDO)		SC ₂ -67 (VMDO)	
	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	
1	47,1	47,1	47,1	47,1	44,7	44,7	44,7	44,7	44,7	44,7	48,7	48,7	48,7	48,7	48,7	
2	44,7	44,7	44,7	44,7	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	46,3	46,3	46,3	46,3	46,3	
3	39,3	39,3	39,3	39,3	9,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	
4	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2	
5	36,0	35,2	35,2	35,2	36,0	36,0	36,0	36,0	36,0	36,0	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	
6	35,2	30,8	30,8	30,8	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2	30,8	30,8	30,8	30,8	30,8	

Compararea spectrelor hordeinelor din grupul C, extrase din boabele soiului Galactic și a formelor de interes a constatat inducerea a 3 izoforme noi cu Mr 52,6 kDa (SC₂-148, SC₂-20); 61,3 kDa (SC₂-165, SC₂-124) și 64,5 kDa (SC₂-42, SC₂-67). Analiza fracțiilor polipeptidice la somaclonele obținute din plante netratate, iradiate cu razele gama (100 - 150 Gy) sau infectate cu VMDO a pus în evidență inducerea unui spectru proteic specific fiecărui factor mutagen utilizat (Tabelul 4.5).

Evaluarea comparativă a fracțiilor polipeptidice din grupa C a remarcat absența unei izoforme cu Mr 58,2 kDa la somaclonele SC₂-165, SC₂-124 (*In vitro*); SC₂-42, SC₂-67 (VMDO) și unei benzi ce corespunde fracției cu Mr 51,0 kDa la formele SC₂-148 (100 Gy), SC₂-20 (150 Gy), SC₂-3 (250 Gy).

Tabelul 4.5. Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele C) extrase din boabele de orz, s. Galactic

N	Genotip/Varianta									
	Galactic (Martor)	SC ₂ -165 (<i>In vitro</i>)	SC ₂ -124 (<i>In vitro</i>)	SC ₂ -148 (100Gy)	SC ₂ -20 (150Gy)	SC ₂ -3 (250Gy)	SC ₂ -42 (VMDO)	SC ₂ -67 (VMDO)	SC ₂ -42 (VMDO)	SC ₂ -67 (VMDO)
	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa
1	58,2	61,3	61,3	58,2	58,2	58,2	64,5	64,5	64,5	64,5
2	51,0	51,0	51,0	52,6			52,6	51,0	51,0	51,0

În rezultatul examinării spectrelor A-hordeine, extrase din boabele formelor cu caractere agronomice valoroase, la genotipul Unirea, s-a remarcat inducerea unor izoforme noi cu Mr 18,1; 22,6; 26,5 kDa (Tabelul 4.6).

Tabelul 4.6. Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele A) extrase din boabele de orz, s. Unirea

N	Genotip/Varianta															
	Martor		SC ₂ -668 (<i>In vitro</i>)		SC ₂ -622* (100Gy)		SC ₂ -623 * (100Gy)		SC ₂ -622+ (100Gy)		SC ₂ -623 + (100Gy)		SC ₂ -672 (250Gy)		SC ₂ -686 (VMDO)	
	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa	Mr, kDa
1	15,7	—	15,7	—	18,1	—	18,1	—	26,5	—	22,6	—	15,7	—	15,7	—
2	10,0	—	10,0	—	15,7	—	15,7	—	22,6	—	18,1	—	10,0	—	10,0	—
3					10,0	—	10,0	—	18,1	—	15,7	—				
4									15,7	—	10,0	—				
5									10,0	—						

* – plante cu inflorescență neramificată; + – plante cu inflorescență ramificată.

Comune pentru toate variantele au fost stabilite 2 polipeptide (15,7; 10,0 kDa). La somaclonele SC₂-622, SC₂-623 (100 Gy), plante cu inflorescență neramificată, s-a evidențiat un spectru polipeptidic comun alcătuit din fracțiile proteice cu masa moleculară de 10,0; 15,7; 18,1 kDa, ceea ce nu s-a observat la aceleași forme, dar la care mutația *spic ramificat* s-a manifestat. Astfel, la somaclona SC₂-622, plante cu spic ramificat, s-a constatat prezența fracției cu Mr 26,5 kDa, dar absentă la forma SC₂-623. Pentru ambele forme au fost identificate 4 benzi polipeptidice cu masa moleculară de 10,0; 15,7; 18,1; 22,6 kDa.

La varianta martor și somaclonele SC₂-672 (250 Gy); SC₂-686 (VMDO) au fost determinate spectre polipeptidice comune. Pentru toate spectrele polimorfe comune s-au remarcat variații cu caracter cantitativ.

În spectrele hordeinelor din grupa B extrase din semințele somaclonelor de orz, s. Unirea a fost stabilită apariția a 3 benzi proteice noi, absente la varianta martor. La formele SC₂-622, SC₂-623 (100 Gy) ce reprezintă plante cu inflorescență neramificată s-au constatat fracții polipeptidice cu Mr 36,2 și respectiv 38,1; 43,2 kDa (Tabelul 4.7).

La formele cu inflorescență ramificată s-a constatat prezența izoformelor cu Mr 36,2; 38,1; 43,2 kDa (SC₂-622) și 36,2; 38,1 kDa (SC₂-623). Examinarea fracțiilor proteice, la somaclonele SC₂-672 (250Gy) și SC₂-686 (VMDO) a pus în evidență prezența unor benzi ce corespund fracțiilor polipeptidice cu Mr 38,1 și, respectiv, 36,2 kDa. În fracțiile polipeptidice extrase din semințele plantelor martor și somaclonei SC₂-668 (*In vitro*) au fost remarcate doar diferențe cantitative. Comune pentru toate variantele analizate au fost identificate 5 izoforme comune (31,5; 38,9; 39,7; 45,4; 47,5 kDa), deosebiri doar de ordin cantitativ.

Tabelul 4.7. Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele B) extrase din boabele de orz, s. Unirea

N	Genotip/Varianta															
	Martor		SC ₂ -668 (<i>In vitro</i>)		SC ₂ -622*		SC ₂ -623 *		SC ₂ -622+		SC ₂ -623+		SC ₂ -672 (250Gy)		SC ₂ -686 (VMDO)	
	Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa	
1	47,5	—	47,5	—	47,5	—	47,5	—	47,5	—	47,5	—	47,5	—	47,5	—
2	45,4	—	45,4	—	45,4	—	45,4	—	45,4	—	45,4	—	45,4	—	45,4	—
3	39,7	—	39,7	—	39,7	—	43,2	—	43,2	—	39,7	—	39,7	—	39,7	—
4	38,9	—	38,9	—	38,9	—	39,7	—	39,7	—	38,9	—	38,9	—	38,9	—
5	32,5	—	32,5	—	36,2	—	38,9	—	38,9	—	38,1	—	38,1	—	36,2	—
6	31,5	—	31,5	—	31,5	—	36,2	—	38,1	—	36,2	—	32,5	—	31,5	—
7							31,5	—	36,2	—	31,5	—	31,5	—		
8									31,5	—						

* – plante cu inflorescență neramificată; + – plante cu inflorescență ramificată.

În rezultatul analizei spectrelor proteice din grupul B, la somaclonele obținute de la plante supuse iradierii gama în doza de 100 Gy, precum și de la cele obținute din forme infectate cu agenți virali s-a constatat absența fracției cu masa moleculară de 32,5 kDa. Compararea spectrelor proteice din grupul B a pus în evidență cele mai multe fracții (8 polipeptide) la somaclona SC₂-622 (100 Gy) – plante cu inflorescență ramificată.

Evaluarea spectrelor polimorfe a hordeinelor ce aparțin fracției C la somaclonele s. Unirea a remarcat dispariția unei benzi cu masa moleculară de 61,9 kDa la formele obținute de la plante iradiatate cu razele gama (100 Gy) și a unei benzi cu Mr 50,7 kDa la plantele 672 (250 Gy); SC₂-686 (VMDO). La somaclonele obținute de la plante netratate au fost stabilite doar schimbări cantitative a componentilor proteici (Tabelul 4.8).

Tabelul 4.8. Reprezentarea diagramică a fracțiilor proteice (hordeinele C) extrase din boabele de orz, s. Unirea

N	Genotip/Varianta															
	Martor		SC ₂ -668		SC ₂ -622*		SC ₂ -623 *		SC ₂ -622+		SC ₂ -623+		SC ₂ -672 (250Gy)		SC ₂ -686 (VMDO)	
	Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa		Mr, kDa	
1	61,9	—	61,9	—	50,7	—	50,7	—	50,7	—	50,7	—	61,9	—	61,9	—
2	50,7	—	50,7	—												

* – plante cu inflorescență neramificată; + – plante cu inflorescență ramificată.

Generalizând cele expuse, constatăm o variație largă între spectrele polipeptidice ale proteinelor extrase din semințele somaclonelor cu însușiri agronomice valoroase în fiecare grup proteic. Polimorfismul hordeinelor exprimat prin prezența sau absența unor fracții proteice,

mărirea sau diminuarea cantitativă a componentelor proteice este influențat de genotipul analizat și factorul aplicat.

Concluzii la Capitolul 4

- Variațiile morfologice au fost depistate la regeneranții (SC_0), precum și la descendenții (SC_1 - SC_3) obținuți de la semințe iradiate. S-a atestat lărgirea spectrului de variații la SC_1 comparativ cu regeneranții SC_0 distinse prin apariția de forme cu caractere netipice plantelor recurente. Astfel, variația morfologică spic ramificat s-a remarcat la descendenții (SC_1), unde frecvența acestuia a constituit 95,23% (Unirea 100 Gy). Această mutație morfologică s-a transmis generațiilor ulterioare (SC_2 - SC_3). Obținerea formelor mutante confirmă eficacitatea surselor de variație implicate în cercetare.
- În rezultatul analizei varianței s-au stabilit variații semnificative ale parametrilor cantitativi la regeneranții (SC_0) și descendenții (SC_1 - SC_2) de orz în dependență de genotip, caracter, generație, precum și interacțiunea dintre genotip și factorii studiați. Genotipul a avut contribuție semnificativă ($PI = 12,50 - 49,70\%$), în variația caracterelor analizate în toate generațiile, cu excepția caracterelor LSP, NSP, NBSP, NI (SC_2) unde influența razelor gama ($PI = 12,17 - 12,38\%$) și interacțiunea *genotip x raze gama* ($P = 15,97 - 19,25\%$) au avut o acțiune mai puternică.
- Puterea de influență a razelor gama și infecției virale s-a intensificat la somaclonele SC_2 pentru unele caractere, atingând valori de 3,52 (TPL) - 4,96% (NBSP) comparativ cu 2,30 - 3,12% (SC_1) ponderea interacțiunii *virus x genotip* constituind 10,90%. Aceasta relevă efectul intergenerațional sau transgenerațional al infecției virale și razelor gama în dependență de caracter. Același fenomen s-a evidențiat la unele caractere pentru cultura *in vitro* (SC_1 - SC_2).
- Descendenții SC_1 ai soiurilor Unirea și Galactic din variantele iradiate gamma (100, 250 Gy), VMDO și VMDO + raze gamma (250 Gy) au prezentat valori medii mai mici pentru caracterele TPL și LUI în comparație cu regeneranții SC_0 . Aceiași tendință a infecției virale și radiației gama s-a evidențiat și la somaclonele SC_2 . Reducerea valorii medii a caracterelor morfologice care determină direct sau indirect rezistența la cădere și respectiv creșterea productivității, demonstrează eficiența utilizării radiației gama și infecției virale în generarea variațiilor utile și extinderea diversității la somaclonele de orz.
- Pentru masa a 1000 de boabe (MMB) la descendenții (SC_1 - SC_3) de orz de primăvară obținuți din semințe iradiate cu razele gama și plante infectate cu VMDO s-a evidențiat că acest indice a variat atât spre majorare, cât și diminuare în comparație cu varianta martor. În rezultat au fost selectate 15 forme de orz rezultate din variantele iradiate cu razele gama (100 Gy, 150

Gy, 250 Gy) și cele supuse infecției virale la genotipurile Galactic, Sonor, Unirea, cu valorile MMB mai ridicate cu 1,2 - 13,5 grame în comparație cu martorul.

➤ În baza spectrelor polimorfe ale hordeinelor s-a evidențiat o variație largă între componentele polipeptidice ale proteinelor extrase din boabele somaclonelor. Polimorfismul hordeinelor exprimat prin prezența sau absența unor fracții proteice, mărirea sau diminuarea cantitativă a componentilor proteici este condiționat de genotipul analizat și factorului aplicat.

5. EVALUAREA ACȚIUNII COMUNE ȘI SEPARATE A INFECȚIEI VIRALE ȘI A RAZELOR GAMA ÎN INDUCEREA VARIABILITĂȚII *IN VIVO* ȘI *IN VITRO* LA ORZUL DE PRIMĂVARĂ

Acțiunea separată a infecției virale și radiației gama asupra creșterii și dezvoltării plantelor de cultură este detaliat studiată la ora actuală. Virusurile reprezintă nu numai agenți patogeni ce induc diferite boli la plante, dar și factori mutageni care duc la mărirea spectrului de recombinări prin înserarea unui material genetic nou în celula gazdă. Este determinat că acești agenți patogeni influențează activitatea mitotică și induc aberații cromozomiale [34], intensifică recombinogeneza meiotică și somatică [49], activează elementele mobile [280]. Schimbările induse de virus se pot transmite generațiilor ulterioare [1, 173].

Prin intermediul razelor gama au fost obținute forme de orz care se deosebeau de cele inițiale prin caracterele biomorfologice, precum rezistența la poligire, conținutul de proteine în boabe, înălțimea plantei, numărul fraților fertili, lungimea spicului principal, numărul de spiculețe în spic etc. (Tabelul A 1.3). Posibilitatea complementării acțiunii infecției virale și radiației gama în calitate de inductori ai diversității plantelor este demonstrată de mai mulți cercetători [1, 33, 49, 50], ceea ce a argumentat interesul studiului acțiunii asociate a VMDO și radiației gama asupra indicilor agromorfologici la orzul de primăvară [12].

5.1. Analiza impactului virusului și a radiației gama asupra caracterelor biomorfologice la descendenții orzului de primăvară

Obținerea și selectarea formelor de orz cu caractere biomorfologice distinctințe față de genotipurile inițiale sunt importante din punct de vedere științific și practic, pornind de la actualitatea diversității genetice în calitate de materie primă pentru crearea soiurilor cu noi caractere adaptate la condițiile climatice variabile.

În rezultatul analizei caracterelor la orzul crescut din semințe iradiate și plante infectate s-a evidențiat o variație considerabilă a valorilor caracterelor cantitative în dependență de genotip, caracterul studiat, sursa de variație și condițiile anului [9, 20].

Astfel, infecția virală a diminuat valorile medii ale indicilor studiați în comparație cu varianta martor, la toate soiurile evaluate, dar cu diferit grad de manifestare (Tabelul 5.1). VMDO a micșorat media de 1,14 - 3,9 ori, în dependență de caracterul analizat. Cea mai mare deviere a valorilor medii de la varianta martor s-a observat la soiul Galactic pentru parametrii – NBSF și NFF în generațiile M_0 (3,5 ori) - M_2 (3,9).

Tabelul 5.1. Variația caracterelor biomorfologice la soiurile de orz supuse infecției virale în generațiile M₀-M₂

Genotip	Varianta	TPL, cm	LSP, cm	NSP	NBSP	NFF
		$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$
Sonor M ₀	Martor	65,27±1,29	8,40±0,17	24,40±0,44	17,01±0,66	3,57±0,25
	VMDO	54,64±0,84 ***	7,61±0,17 **	22,12±0,50 **	12,75±0,76 ***	3,3±0,19
Sonor M ₁	Martor	53,15±0,80 xxx	8,82±0,23	25,68±0,58	17,16±0,66	3,34±0,23
	VMDO	52,76±0,75	8,54±0,15	25,86±0,35	15,98±0,75 ***	2,74±0,23
Sonor M ₂	Martor	85,08±0,85 xxx	12,45±0,19 xxx	32,94±0,43 xxx	25,45±0,60 xxx	3,87±0,27
	VMDO	83,72±0,63	11,46±0,20 ***	31,54±0,45 *	24,68±0,64	3,68±0,19
Unirea M ₀	Martor	65,85±0,94	8,81±0,14	24,92±0,44	16,6±0,75	3,53±0,26
	VMDO	59,93±1,28 ***	8,40±0,16	25,27±0,43	14,03±0,98 *	2,73±0,17 *
Unirea M ₁	Martor	55,45±0,73 xxx	9,33±0,15 x	28,10±0,51 xxx	19,96±0,65 xxx	2,50±0,15 xxx
	VMDO	52,18±0,72 ***	8,40±0,16	28,60±0,40	19,14±0,69	2,73±0,17
Unirea M ₂	Martor	87,18±0,96 xxx	13,46±0,19 xxx	35,36±0,45 xxx	26,44±0,68 xxx	3,48±0,28
	VMDO	82,78±1,11 ***	13,44±0,20	35,00±0,91	24,76±0,65	2,96±0,22
Galactic M ₀	Martor	60,51±0,57	7,65±0,15	24,00±0,42	13,89±0,65	3,66±0,28
	VMDO	43,03±1,41 ***	6,60±0,16 ***	22,70±0,57 *	10,28±1,09 **	1,03±0,11 ***
Galactic M ₁	Martor	46,15±0,42 xxx	8,49±0,15 xxx	27,48±0,38 xxx	22,14±0,48 xxx	2,32±0,16 xxx
	VMDO	34,71±1,16 ***	8,36±0,32	18,06±1,77 ***	11,23±1,19 ***	1,16±0,12 ***
Galactic M ₂	Martor	64,14±0,76 xxx	12,64±0,19 xxx	34,88±0,45 xxx	26,60±0,89 xxx	2,40±0,20 xxx
	VMDO	50,90±2,61 ***	11,10±0,40 ***	27,47±0,83 ***	16,75±1,35 ***	0,80±0,12 ***

*, **, *** – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul)
xxx – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,001 (în comparație cu generația M₀).

Diferențele dintre variante sunt statistic semnificative. Soiul Galactic s-a dovedit a fi mai sensibil la acțiunea infecției virale care a micșorat valorile indicilor evaluați cu 4,32 - 68,27% în comparație cu soiurile Sonor și Unirea, în dependență de caracterele analizate.

Datele obținute corespund rezultatelor cercetărilor altor autori, care au arătat că VMDO reprimă creșterea plantelor de cultură și scade productivitatea acestora [199]. Suprimarea creșterii și scăderea productivității sunt cauzate de micșorarea celulelor în diviziune, distrucția celulelor și cloroplastelor, astfel diminuând activitatea fotosintetică [109].

Acțiunea comună a radiației gama și infecției virale a indus schimbări ce influențează mai puternic caracterele cantitative ale plantelor de orz, decât fiecare factor separat. De

asemenea, remarcăm ca radiația în complex cu infecția virală atenuază efectul negativ al acesteia la toate generațiile analizate și valorile indicilor sus-menționați se măresc treptat în dependență de doza radiației. În acest mod, la varianta VMDO + 150 Gy valorile caracterelor respective s-au mărit de 1,2 - 2,7 ori în comparație cu varianta virus, fiind statistic semnificative. Cele mai înalte devieri de la martor s-au evidențiat la s. Galactic infectat și iradiat cu doza de 250 Gy pentru caracterele NBSP și NFF (Tabelul 5.2).

Tabelul 5.2. Variația caracterelor biomorfologice la soiurile de orz supuse infecției virale în complex cu radiația gama în generațiile M₀-M₂

Genotip/Variant a		TPL,cm	LSP, cm	NSP	NBSP	NFF
		$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$
SM ₀	Martor	65,27±1,29	8,40±0,17	24,40±0,44	17,01±0,66	3,57±0,25
	V+100Gy	53,42±1,03 c	7,57±0,16 c	22,17±0,36 b	10,85±0,81 c	2,33±0,18 bg
	V +150Gy	53,04±1,27 c	7,91±0,21 c	22,74±0,53 a	10,89±1,08 c	2,11±0,19 cg
	V+250Gy	49,76±0,8 ch	7,5±0,15 cg	23,00±0,41 a	9,57±0,92 ch	2,23±0,19 a
SM ₁	Martor	53,15±0,80	8,82±0,23	25,68±0,58	17,16±0,66	3,34±0,23
	V +100 Gy	55,63±0,72 a	8,56±0,16	25,97±0,39	17,32±0,64	2,76±0,19 c
	V+150Gy	54,01±1,1	9,01±0,16 f	25,68±0,56	14,02±0,68 b	1,9±0,12 ah
	V+250Gy	55,06±0,77	9,46±0,18 a	27,42±0,44 b	15,72±0,75	2,68±0,17
SM ₂	Martor	85,08±0,85	12,45±0,19	32,94±0,43	25,45±0,60	3,87±0,27
	V+100Gy	83,72±0,63	11,46±0,20 c	31,46±0,36 b	24,68±0,64	3,68±0,21
	V+150Gy	81,12±0,76 c	11,87±0,16 a	31,40±0,33 b	23,02±0,59 b	3,42±0,20
	V +250Gy	85,16±0,89	11,61±0,19 a	31,82±0,42	25,44±0,69	3,74±0,26
UM ₀	Martor	65,85±0,94	8,81±0,14	24,92±0,44	16,6±0,75	3,53±0,26
	V +100Gy	58,28±1,42 c	8,35±0,17 a	25,55±0,45	10,98±1,11 c	2,45±0,17 c
	V +150Gy	56,3±1,46 c	8,62±0,19	27,10±0,72bf	14,03±1,25	3,47±0,25 f
	V+250Gy	50,68±1,32 ch	8,16±0,20 b	24,36±0,52	9,04±1,56 ch	2,48±0,27 f
UM ₁	Martor	55,45±0,73	9,33±0,15	28,10±0,51	19,96±0,65	2,50±0,15
	V+100Gy	55,62±0,88h	10,48±0,25cf	29,86±0,53 a	20,24±0,69	2,58±0,18
	V +150Gy	53,26±0,96	10,07±0,22b	28,60±0,49	20,08±0,7	2,35±0,16
	V+250Gy	52,18±0,75 b	9,58±0,24	27,84±0,52	17,54±0,86 a	2,44±0,19
UM ₂	Martor	87,18±0,96	13,46±0,19	35,36±0,45	26,44±0,68	3,48±0,28
	V+100Gy	86,02±0,94	13,07±0,24	34,00±0,52 a	26,04±0,71	3,73±0,28
	V+150Gy	82,28±0,79	13,56±0,21	34,96±0,50	27,04±0,76	3,72±0,23
	V +250Gy	86,36±1,11	11,64±0,23	31,98±0,45 c	25,59±0,51	3,92±0,24
GM ₀	Martor	60,51±0,57	7,65±0,15	24,00±0,42	13,89±0,65	3,66±0,28
	V+100Gy	48,58±1,59 cf	6,96±0,20 c	22,17±0,36	9,36±1,0 c	1,31±0,10 c
	V +150Gy	55,30±1,04 ch	7,88±0,23 b	26,00±0,55 b	12,17±1,12	2,13±0,19 cg
	V +250Gy	56,5±1,29 bg	7,97±0,26 g	24,6±0,91	10,38±0,58 ch	0,31±0,12 cg
GM ₁	Martor	46,15±0,42	8,49±0,15	27,48±0,38	22,14±0,48	2,32±0,16
	V +100Gy	40,90±0,83 bh	8,90±0,26	27,32±0,71 g	15,8±1,15 ch	1,62±0,12 bg
	V+150Gy	44,12±0,68 ag	9,47±0,18 c	28,40±0,44 g	19,94±0,76 ag	2,00±0,17 g
GM ₂	Martor	64,14±0,76	12,64±0,19	34,88±0,45	26,60±0,89	2,40±0,20
	V +100Gy	67,68±0,75 b	12,99±0,17	34,74±0,48 g	20,24±1,03	2,56±0,20
	V+150Gy	65,70±0,85 g	12,98±0,19	35,17±0,39 g	18,35±1,20 g	2,15±0,22 g

a,b,c- diferența semnificativă pentru P≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu martorul)

f, h ,g – diferența semnificativă pentru P≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparație cu virusul).

Notă: V-VMDO; SM₀; SM₁ SM₂- Sonor; UM₀; UM₁ UM- Unirea; GM₀; GM₁ GM- Galactic; generațiile - M₀-M₁

Impactul radiației gama este dependent de doza radiației și caracterul analizat. Doza de 250 Gy a prezentat un efect puternic depresiv, unde doar 1/3 din plante au supraviețuit în M_0 , majoritatea fiind sterile, iar din boabele ce s-au format foarte puține au germinat în generațiile ulterioare. Cea mai accentuată acțiune a fost descrisă la s. Galactic, ceea ce ne indică despre radiosensibilitatea acestuia în comparație cu celelalte soiuri. Tocmai la această doză în generația M_2 au fost obținute o gamă largă de mutante precum: plante cu inflorescența bifurcată (Figura 5.1 A-C), fără ariste (Figura 5.1 B), cu paiul și limbul foliar îngroșat și alte modificări, dar care nu au fost înregistrate în generațiile descendente.



Fig. 5.1. Variații fenotipice ale spicului la descendenții din M_2 , s. Galactic (250 Gy):
A, C – spice bifurcate, B – spic fără ariste.

La genotipul Sonor influența iradierii gama a fost dependentă de doza radiației, caracterul studiat, efectul fiind mai atenuat, spectrul de variații mai restrâns, ceea ce relevă toleranța mai pronunțată a plantelor acestui în comparație cu genotipul Galactic. Cu toate acestea, la s. Sonor, VMDO + 250 Gy, au fost obținute forme mutante la care lema spiculețelor are aspectul unor „saci” sau „buzunare”, caracter evidențiat în M_2 și descris în generațiile ulterioare . (Figura 5.2 A B)



Fig. 5.2. Variații fenotipice ale spicului la descendenții din generațiile M_2 (A) – M_3 (B) , s. Sonor, VMDO + 250 Gy.

Îmbinarea factorilor analizați a redus valorile medii ale indicilor TPL, NBSP și NFF cu 23,77 - 91,62% și la mărirea mediei caracterelor LSP și NSP, în generația M₁ cu 8,33 - 11,54% la genotipurile analizate.

De asemenea este necesar de menționat că în rezultatul analizei comparative a acțiunii factorilor evaluați pe parcursul generațiilor M₀-M₂ a indicilor valorii medii s-au atestat aceleași tendințe de micșorare în varianta cu infecție virală, iar în cazul razelor gama s-a atestat tendința de majorare a acestora pentru caracterele TPL și LSP.

Aplicarea testului ANOVA (Tabelul A 4.1, 4.2) asupra varianței indicilor respectivi a demonstrat că, din cele trei surse de variație (genotip, virus, radiație) și relațiile acestora, o influență statistic semnificativă au avut-o virusul, genotipul, radiația și interacțiunea lor. Interacțiunile *genotip x virus*, *genotip x radiație*, *virus x radiație*, *genotip x virus x radiație* au fost semnificative în dependență de caracterul analizat și generație.

În rezultatul analizei comparative a caracterelor pe parcursul a două generații consecutive (M₀-M₁), s-a stabilit influența semnificativă a VMDO asupra tuturor indicilor analizați în M₀, iar în cazul generației ulterioare la variația valorilor medii a 4 caractere din 6. Astfel, valorile puterii de influență a infecției virale asupra caracterelor evaluate: TPL, LSP, LUI, NFF, NBSP, NI la plantele de orz a variat de la 2,99% (NBSP) până la 33,89% (TPL) în generația M₀, iar în generația M₁ pentru caracterele TPL, LUI, NFF, NBSP de la 0,45% (LUI) - 5,43% (NBSP). Similar pentru razele gama, care au avut impact semnificativ ($P \leq 0,01$; 0,001) pentru toate caracterele în M₀, unde puterea de influență a constituit 1,32% (LUI) până la 8,11% (NBSP), iar la plantele din generația M₁ pentru 5 din 6 caractere (TPL, LSP, NFF, NBSP, NI) și a constituit 1,11% (NFF) - 14,39% (TPL). În ceea ce privește interacțiunea dintre infecția virală și genotip, diferențe semnificative au fost stabilite la același număr de caractere 5 din 6, efect semnificativ fiind înregistrat pentru NBSP (M₀) și NFF (M₁). Mărimea contribuției semnificative a interacțiunii factorilor respectivi a atins valori de la 0,67% (TPL) până la 9,49% (NFF) în M₀ și 0,59% (LUI) - 6,65% (NBSP) în M₁ (Figurile 5.3-5.8).

Puterea de influență a interacțiunii *genotip x radiație* a înregistrat valori de la 0,67% (TPL) - 4,69% (NFF) în M₀ și 1,94% (NI) - 9,48% (TPL) în M₁. Numărul caracterelor influențate semnificativ de interacțiunea *genotip x radiație* este similar cu cel al acțiunii radiației separate. Acțiunea comună a infecției virale și razelor gama a determinat variația semnificativă a tuturor caracterelor în M₀ și a variat în limitele 0,29% (NI) - 1,71% (NBSP), iar în M₂ - doar pentru 3 din 6 caractere unde puterea de influență a constituit valori de 0,64% (NI) și 2,61% (TPL).

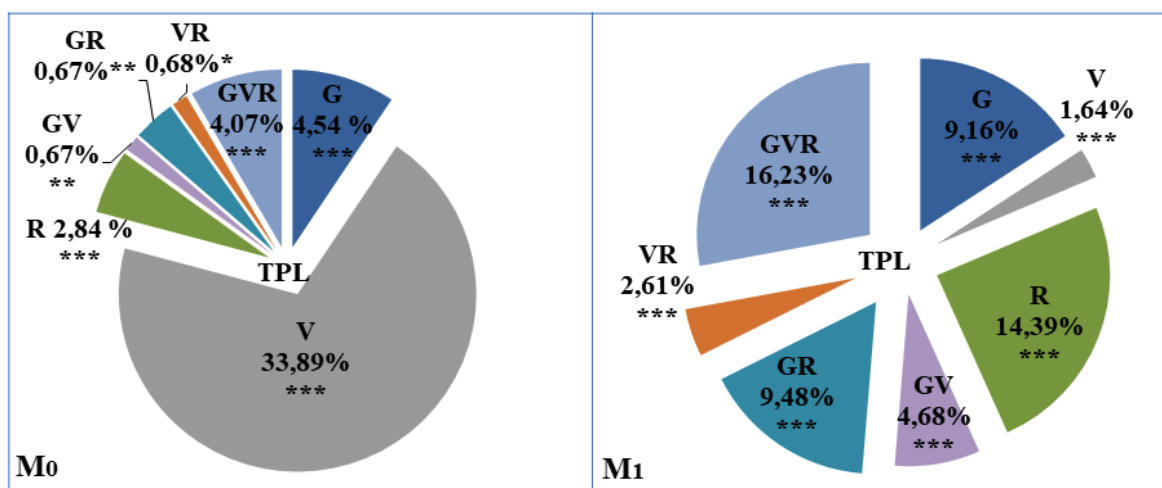


Fig. 5.3 Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a TPL în generațiile M₀-M₂: V – virus, G – genotip, R – radiație; *, **, *** – diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.

Interacțiunea dintre toți factorii analizați a influențat semnificativ asupra 4 caractere din 6 și a atins valori de 1,09% (LSP) – 4,07% (TPL) în generația M₀ și 3 caractere cu valori de 1,39% (LSP) – 16,23 (TPL) în M₁ (Figurile 5.3-5.6).

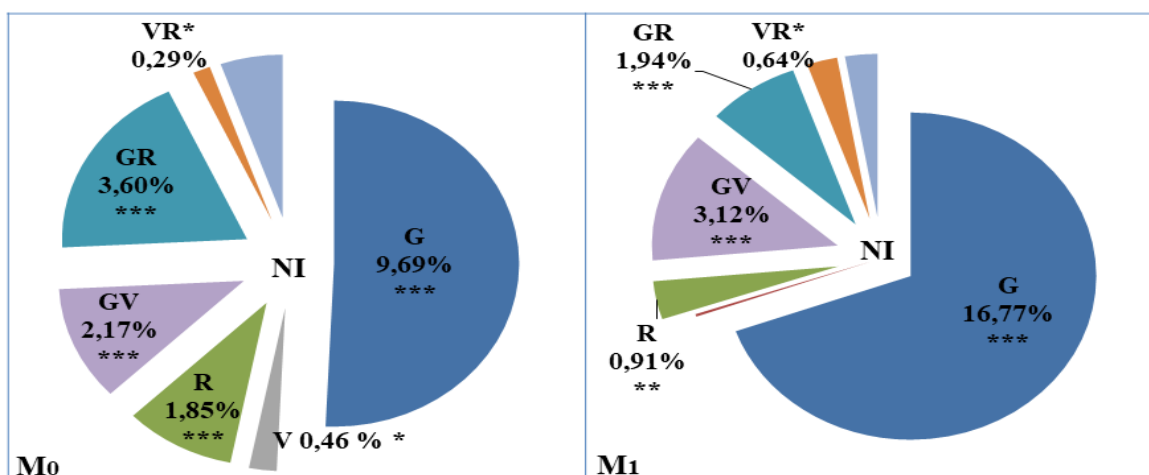


Fig. 5.4. Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a NI în generațiile M₀-M₂: V – virus, G – genotip, R – radiație; *, **, *** - diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.

Este necesar de menționat că asupra caracterelor TPL și NBSP în generația M₁ un impact semnificativ a avut toți factorii analizați. În plus, acțiunea razelor gama, interacțiunea tandemică *genotip x virus*, *genotip x radiație*, *virus x radiație*, dar și trilaterală au avut un impact mai mare în generația M₁ comparativ cu generația M₀ asupra caracterului TPL. Astfel, pentru acest caracter impactul factorilor menționați s-a majorat de la 3,83 ori (*virus x radiație*) până la 14,14 ori (*genotip x radiație*). De remarcat, că influența virusului s-a micșorat asupra caracterului TPL în M₁. Totaodată s-a evidențiat majorarea influenței VMDO asupra NBSP, unde puterea de

influența a crescut de 1,81 ori. Iar interacțiunea *genotip x virus* a atins valoarea de 6,65%, deși în M_0 nu a influențat semnificativ (Figura 5.5).

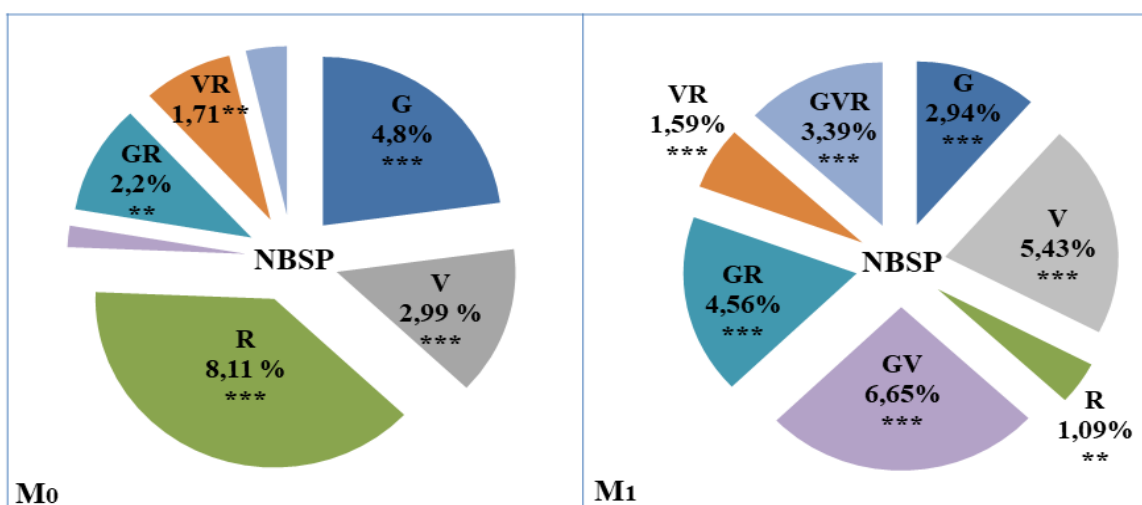


Fig. 5.5. Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a NBSP în generațiile M_0 - M_2 : V – virus, G – genotip, R – radiație; *, **, * - diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; 0,01; 0,001.**

Gradul de intensificare a acțiunii factorilor analizați asupra variației caracterelor agromorfologice în M_1 a fost dependent de caracter și factorul analizat. Astfel, pentru LSP, impactul interacțiunii *genotip x virus* a fost nesemnificativ în M_0 și în M_1 a constituit 4,07%, iar cel al interacțiunii *genotip x virus x radiație* - 1,39% (Figura 5.6).

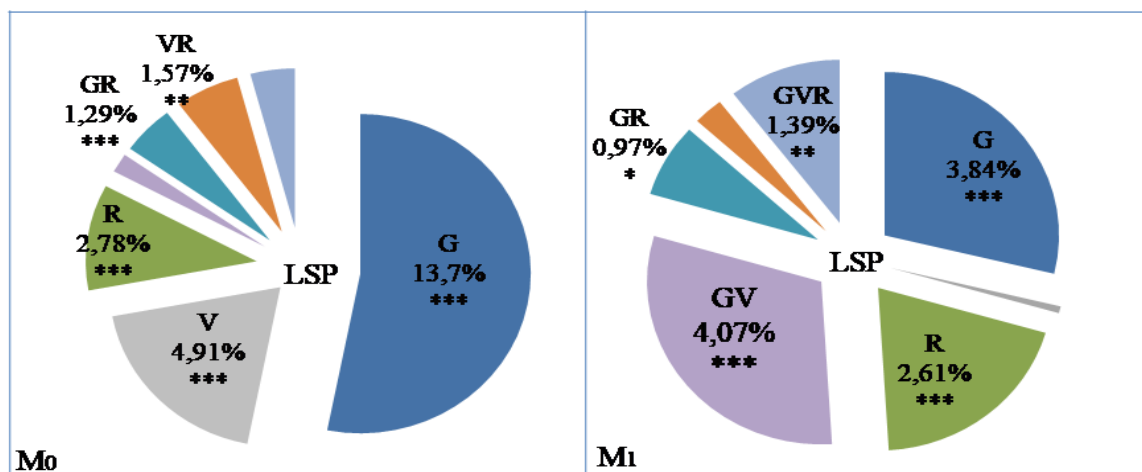


Fig. 5.6 Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a LSP în generațiile M_0 - M_2 : V – virus, G – genotip, R – radiație; *, **, * - diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; 0,01; 0,001.**

Prin urmare, putem afirma că în dependență de caracter, acțiune separată sau comună, infecția virală și razele gama, precum și interacțiunea cu genotipul au prezentat un efect intergenerațional.

În ceea ce privește, caracterele NFF și LUI, nu au fost atestate valori mai mari ale puterii de influență a factorilor analizați în generația M₁ comparativ cu M₀. Deși contribuția infecției virale, interacțiunilor *genotip x virus* (LUI) și *genotip x radiație* (NFF) s-a micșorat, totuși a rămas semnificativă la nivel de 95 - 99,9% (Figurile 5.7, 5.8).

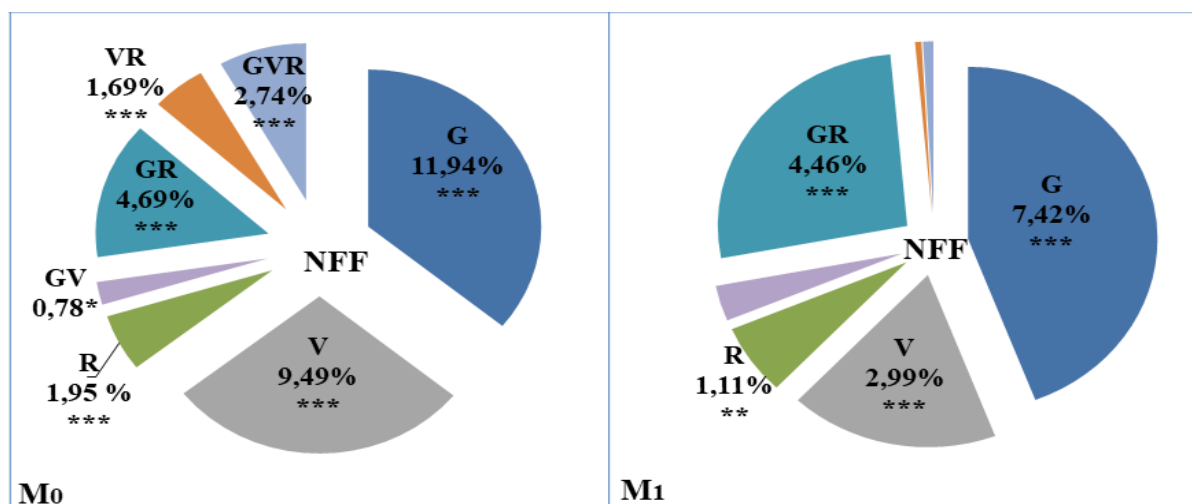


Fig. 5.7. Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a NFF în generațiile M₀-M₂: V – virus, G – genotip, R – radiație; *, **, * - diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.**

În generațiile analizate genotipul a manifestat acțiune maximă pentru 5 din 6 caractere, cu excepție pentru TPL, unde influență maximă a manifestat infecția virală (PI = 33,89%). Puterea de influență a genotipului a atins valori de la 4,54% (TPL) - 13,75% (LSP) în generația M₀ și 2,94% (NBSP) – 20,73% (LUI) în M₁. Este important de menționat că influența genotipului a scăzut în generația M₁ comparativ cu M₀ pentru caracterele NBSP, LSP, NFF și a crescut pentru TPL, NI, LUI.

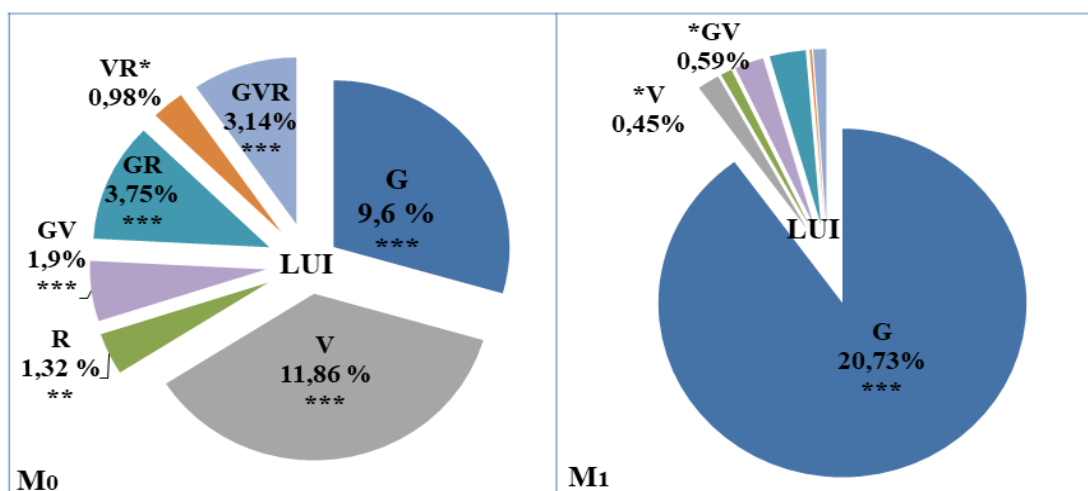


Fig. 5.8. Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a LUI în generațiile M₀ - M₂: V – virus, G – genotip, R – radiație; *, **, * - diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.**

De asemenea în cazul caracterelor TPL, NBSP, LSP (M_1) contribuția genotipului asupra variației valorilor medii a atins valori mai mici comparativ cu influența celorlalți factori, ceea ce denotă creșterea influenței factorilor respectivi.

5.2. Evaluarea caracterelor biomorfologice la formele mutante de orz (*calcaroides*) obținute din semințele iradiate cu razele gama (250 Gy) și plante infectate cu VMDO

În cadrul cercetărilor orientate spre lărgirea spectrului de variații la orzul de primăvară în populația s. Sonor infectat cu VMDO a fost obținută forma mutantă la care lema (bracteea florală) poartă o structură neomorfă organizată în formă de sac (Figura 5.9). Această mutație a fost descrisă la descendenți pe parcursul celor 7 generații analizate. Forme mutante asemănătoare au fost obținute de către Gustaffson (1947), în rezultatul iradierii gama a s. Ymer, care le-a numit *calcaroides*. Acest nume derivă din asemănarea lemei mutante cu un călcâi (din lat. *calcar*). Ulterior, mutații *calcaroides* (*cal*) au fost obținuți de Lundqvist (Svalov, Suedia) prin mutagenază cu agenți fizici sau chimici în fondurile genetice ale soiurilor Bonus, Foma, Kristina, Semira. Toți mutații *cal* (cu excepția *cal* 23) au fost atribuiți la locusurile: *cal a* (cu alelele *a1*, *a3*, *a5*, *a6*, *a7*, *a8*, *a16*, *a17*, *a20*); *cal b* (cu alelele *b2* și *b19*); *cal c* (cu alela *C15*) și *cal d* (cu alelele *d4*, *d14*, *d22*) [166]. Mai târziu, Pozzi et al. [217] au confirmat că mutația *cal* este determinată de mai multe gene recesive, cu excepția genei dominante *cal C15*, poziționate în diferiți loci separați și care generează același organ neomorf.

În rezultatul analizei comparative a aspectului morfologic al lemei mutante la forma obținută de noi, și mutațiilor *cal*, înregistrați în baza de date pentru genele și fondul genetic al orzului (NordGen), precum și descrierii alelelor mutante *cal* de către Pozzi et al. [217], am stabilit că genele potențiale care codifică mutația respectivă sunt *cal a* (*a5*, *a8*) sau *cal C15*.

Conform datelor din baza de date NordGen, BGS 62 (*sbk1*, *cal a*) și BGS 62 (*cal c*), au fost obținute atât linii mutante cu indici mici a caracterelor ce determină productivitatea (BW767, 766, 105), cât și linii mai viguroase, față de forma inițială Bowman (BW103) [119].

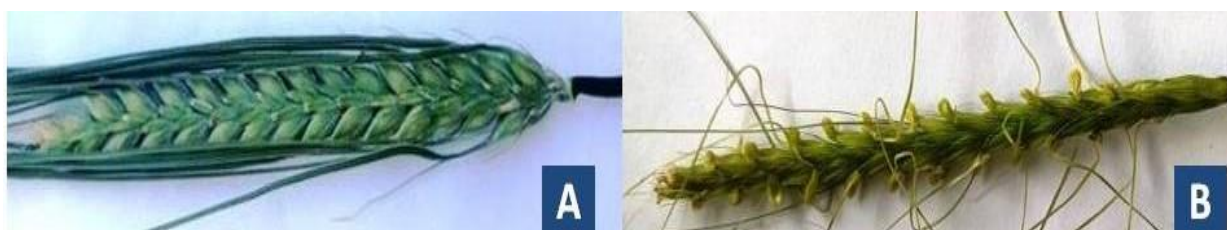


Fig. 5.9. Aspectul morfologic al spicului mutant *calcaroides* de orz de primăvară, s. Sonor : A - Martor; B - Forma mutantă *calcaroides*.

Totodată, nu au fost atestate informații disponibile despre datele biometrice a caracterelor biomorfologice la această formă mutantă. Prin urmare, prezintă interes evaluarea caracterelor biomorfologice la descendenții formei mutante *calcaroides* și evidențierea asocierii cu însușirile valoroase.

În rezultatul evaluării statistice a indicilor morfometrici la descendenții mutantului morfologic de orz de primăvară, pe parcursul a cinci generații, s-a estimat variația semnificativă a valorilor medii în dependență de generație, genotip și caracterul analizat. Prin urmare, media caracterului LSP a variat între 7,7 - 10,5 cm pentru formele mutante și de la 7,90 - 11,55 cm pentru varianta martor.

Coeficientul de variație (CV,%) a acestui indice a constituit 6,12 - 10,54% la mutații morfologice și 5,31 - 14,55% la plantele martor, ceea ce corespunde unui nivel mic și mediu de variabilitate (Tabelul 5.3).

Tabelul 5.3. Variația caracterelor biomorfologice la forma mutantă *cal* în M₃-M₇

Variantă	TPL, cm	LSP, cm	LUI, cm	NFF	NSP	NBSP
	$\bar{x} \pm Es$ CV,%	$\bar{x} \pm Es$ CV,%	$\bar{x} \pm Es$ CV,%	$\bar{x} \pm Es$ CV,%	$\bar{x} \pm Es$ CV,%	$\bar{x} \pm Es$ CV,%
Martor (G ₃)	85,91±0,85 12,39	11,55±0,08 9,12	36,06±0,56 19,39	8,89±0,29 40,36	30,87±0,16 6,31	20,89±0,35 20,72
<i>cal</i> (M ₃)	87,69±1,23 12,37	10,49±0,12 a 10,54	42,19±0,59 a 12,36	6,17±0,28a 39,93	29,05±0,31a 9,38	16,81±0,42a 21,87
Martor (G ₄)	92,28±1,37 10,51	11,32±0,17 10,51	32,78±0,69 15,06	2,58±0,21 57,77	29,36±0,27 6,63	20,12±0,39 13,86
<i>cal</i> (M ₄)	106,31±0,49a 3,23	10,01±0,14 a 10,12	42,84±0,37 a 6,05	0,51±0,08a 106,77	26,55±0,32a 8,67	12,61±0,36a 19,81
Martor (G ₅)	72,24±2,1 11,53	7,9±0,2 10,20	22,73±0,93 15,94	2,2±0,22 39,18	24,13±0,53 8,56	20,47±0,48 9,03
<i>cal</i> (M ₅)	72,36±2,26 12,09	7,7±0,2 10,06	19,6±1,24 24,69	1,87±0,26 53,06	23,3±0,71 11,88	18,4±0,85c 17,88
Martor (G ₆)	78,67±1,23 8,30	10,36±0,28 14,55	30,56±0,81 14,08	2,21±0,24 58,12	29,61±0,31 5,62	25,32±0,49 10,31
<i>cal</i> (M ₆)	85,98±2,01b 8,08	10,47±0,23 7,76	37,14±1,24 a 11,57	0,83±0,24 b 100,18	28,58±0,71 8,63	21,08±0,91a 14,93
Martor (G ₇)	109,73±0,75 3,75	10,79±0,10 5,31	39,77±0,68 9,44	4,27±0,28 6,38	31,77±0,45 7,82	26,07±0,52 11,03
<i>cal</i> (M ₇)	109,08±1,88 8,09	9,74±0,13a 6,12	40,29±1,77 20,63	2,18±0,26a 55,93	27,23±0,36a 6,20	12,90±0,69a 25,40

a, b, c – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001, în comparație cu martorul.

Similar, pentru caracterul NSP s-a stabilit un grad mic de variație (5,62 - 8,63%) la generațiile analizate, pentru ambele variante, cu excepția generației M₅ (CV - 11,88%). Valoarea

medie a acestui parametru a reprezentat 23,30 - 29,05 (varianta mutantă) și 24,13 - 31,77 (varianta martor).

În ceea ce privește, caracterul NBSP s-a evidențiat variația medie și puternică a acestui indice, atât la varianta martor (10,31 - 20,72%), cât și la forma mutată (14,93 - 25,40%), în toate generațiile, cu excepția generației G₅. Media acestui caracter a atins valori de 20,12 - 26,07 pentru varianta martor și 12,61 - 21,08 pentru descendenții mutantului morfologic.

Evaluarea gradului de variabilitate a indicelui NFF a atestat o variație puternică (36,38 - 106,7%) a acestui caracter la ambele variante. Valorile medii au fluctuat de la 2,21 până la 8,89 la varianta martor și de la 0,51 până la 6,17 în dependență de generație (ani diferiți a cercetării).

Pe parcursul a cinci generații, pentru caracterele TPL și LUI s-au estimat valori mici și medii ale CV (3,23 - 19,39%), la ambele variante, cu excepția M₅ și M₇ (LUI).

Astfel, pentru parametrii LSP, NSP, NBSP și NFF, s-au înregistrat valori medii mai mici (de 1,06 - 2,66 ori) în comparație cu varianta martor. Cea mai mare diferență dintre variante s-a stabilit pentru NFF (de 5,05 ori) în M₄. Diferențele dintre variante sunt statistic semnificative în toate generațiile analizate doar pentru NBSP (Tabelul 5.3). Similar, conform informației din baza de date NordGen, micșorarea indicilor ce determină productivitatea a fost relatată la majoritatea liniilor soiului Bowman ce dețin mutația lemei determinată de genele alele *cal-a*, *cal-c* [120].

În același timp, pentru TPL și LUI (în generațiile M₃, M₄, M₆) s-a evidențiat majorarea semnificativă a valorii medii de 1,1 - 1,2 ori (99 - 99,9%) față de mator, contrar rezultatelor obținute de alți cercetători [120].

De asemenea, este necesar de menționat că variația mică sau medie a caracterelor NSP, TPL, LSP și medie sau puternică a NBSP și NFF la plantele de orz, în dependență de genotip și generație a fost confirmată și de alți cercetători [127, 302].

Analiza datelor experimentale prin aplicarea testului ANOVA denotă că generația, genotipul și interacțiunea *genotip* x *an* au influențat statistic semnificativ varianța caracterelor cantitative, la plantele de orz în generațiile M₃-M₇ (Tabelul 5.4).

Acțiune maximă au manifestat condițiile climatice ale anului de studiu pentru toate caracterele analizate, cu excepția NBSP. Puterea de influență a generației în dependență de condiții a atins valori de 30,31 - 46,96%, în dependență de caracterul biomorfologic analizat. Variația caracterului NBSP a fost determinată de genotip (20,55%) și condițiile de an (10,59%).

Tabelul 5.4. Analiza varianței indicilor biomorfologici la forma mutantă *cal* (ANOVA)

Sursa variației	GL	SP	F	PI, %
TPL				
Genotip	1	1287,06	15,22***	1,48
Condiții de an	4	40578,5	119,97***	46,96
Genotip - Condiții de an	4	3183,69	9,41***	3,68
Total	452	86414,2		
LSP				
Genotip	1	31,5735	28,80***	3,43
Condiții de an	4	279,22	63,66***	30,31
Genotip - Condiții de an	4	17,6073	4,01**	1,91
Total	452	921,041		
LUI				
Genotip	1	1040,15	32,52***	3,69
Condiții de an	4	9302,1	72,72***	33,07
Genotip - Condiții de an	4	1410,66	11,03***	5,01
Total	452	28131,9		
NFF				
Genotip	1	189,137	30,61***	2,58
Condiții de an	4	3308,08	133,85***	45,08
Genotip - Condiții de an	4	46,8367	1,90	6,38
Total	452	7337,7		
NSP				
Genotip	1	316,588	65,54 ***	7,66
Condiții de an	4	1162,24	60,15 ***	28,12
Genotip - Condiții de an	4	109,512	5,67 ***	2,65
Total	452	4133,67		
NBSP				
Genotip	1	2466,74	197,03***	20,55
Condiții de an	4	1272,14	25,40***	10,59
Genotip - Condiții de an	4	1036,82	20,70***	8,64
Total	452	12002,3		

*, **, *** - diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$;

SP – suma pătratică; GL – grad de libertate; F – test Fisher.

La caracterul NBSP a fost înregistrată manifestare maximă a interacțiunii *genotip x an* (8,64%). Date similare privind variația caracterelor agromorfologice în dependență de anul cercetării au fost relatate la orzul de toamnă și grâu [183, 302].

5.3. Heritabilitatea și corelația caracterelor agromorfologice la orzul de primăvară cu mutația spic ramificat

În rezultatul cercetărilor orientate spre extinderea variabilității și diversității orzului de primăvară au fost obținute forme mutante de orz cu spic ramificat (Figura 5.10).

Mutația spic ramificata fost observată la descendenții (SC_1) a somaclonelor regenerate din embrioni imaturi prelevați de la plantele donor, s. Unirea, iradiate cu raze gama (100 Gy) cu o frecvență de 95,2%. Forme mutante similare, cu diferite grade de ramificare a spicului cu două

rânduri de boabe, au fost obținute prin mutageneza chimică și fizică la soiurile de orz *Foma* și *Donaria* (BGS 473, Com1) [120].



Fig. 5.10. Aspectul morfologic al somaclonelor cu spic ramificat s. Unirea în diferite generații.

În urma analizei descendenților plantelor cu spic ramificat în generațiile SC₂-SC₃ a fost evidențiată instabilitatea acestei mutații care s-a exprimat cu o frecvență de 47,14% în generația SC₂ (2014) și nu a fost remarcată în generația SC₃ (2015). Ulterior, în rezultatul evaluării mai multor generații în aceiași ani (2020-2022) am stabilit că acest caracter s-a exprimat fenotipic în 2020 (40-48%) și 2022 (26,19 - 30,28%), indiferent de generație și morfologia spicului de la care s-au prelevat boabele (spic ramificat sau neramificat).

În rezultatul estimării frecvenței caracterului spic ramificat timp de 6 ani am presupus că acest indice variază în dependență de condițiile climaterice, fapt menționat și de alți cercetători (Tabelul 5.5).

Tabelul 5.5. Frecvența mutației spic ramificat la somaclonele de orz de primăvară Unirea 100 Gy

Varianta	Anul	Generație	Numărul plantelor evaluate cu spic			Frecvența (%) plantelor cu spic	
			Total	ramificat	neramificat	ramificat	neramificat
SC-623	2014	SC ₂	140	66	74	47,14	52,86
	2015	SC ₃	60	0	60	0,00	100,00
	2020	SC ₂	52	25	27	48,07	51,92
		SC ₃	20	10	10	50,00	50,00
		SC ₄	25	15	10	40,00	60,00
	2021	SC ₄	139	0	139	0,00	100,00
		SC ₅	170	0	170	0,00	100,00
	2022	SC ₃	42	11	31	26,19	73,81
		SC ₄	49	19	30	38,77	61,22
SC ₅		175	53	122	30,28	69,71	

Conform datelor din literatură fenotipul spic ramificat este determinat de genele mutante recesive *spic compus* (*compositum*, *com2*, *com1*). De asemenea, este cunoscut că,

expresia genelor *Com1-2*, implicate în stabilirea identității meristemei și reglarea ramificării inflorescenței la orz, este influențată de condițiile mediului și variază în diferite fondaluri genetice [215, 216]. În plus, recent, Li G., et al. (2021), au demonstrat că frecvența și gradul de expresie al caracterului respectiv este dependent de temperatura mediului și se exprimă când plantulele sunt supuse temperaturilor înalte (20 - 28°C ziua și 15 - 23°C noaptea) începând cu stadiul W₁ (inițierea meristemei inflorescenței) până la W₇ (finalizarea morfogenezei spicului), ce corespunde cu fazele de vegetație: înfrățire, Z 29 până la faza de vegetație, înspicat, Z 49 [129,156]. Astfel, în rezultatul evaluării comparative a aspectului morfologic al formelor cu spic ramificat obținute de noi și informației din baza de date pentru genele și fondul genetic al orzului (NordGen), precum și analiza expresiei fenotipice a acestei mutații, în diferite condiții ale mediului [256], am constatat că aspectul ramificat al spicului este determinată de genele recesive *spic compus* (*compositum*, *com2*, *com1*), care determină identitatea meristemei spiculețelor și sunt implicate în termoreglarea morfologiei spicului de orz. Acest fapt a fost confirmat în urma evaluării comparative a temperaturii în perioada de dezvoltare a inflorescenței formelor mutante de orz în dependență de condițiile de an în care s-au efectuat cercetările (Figura 5.11).

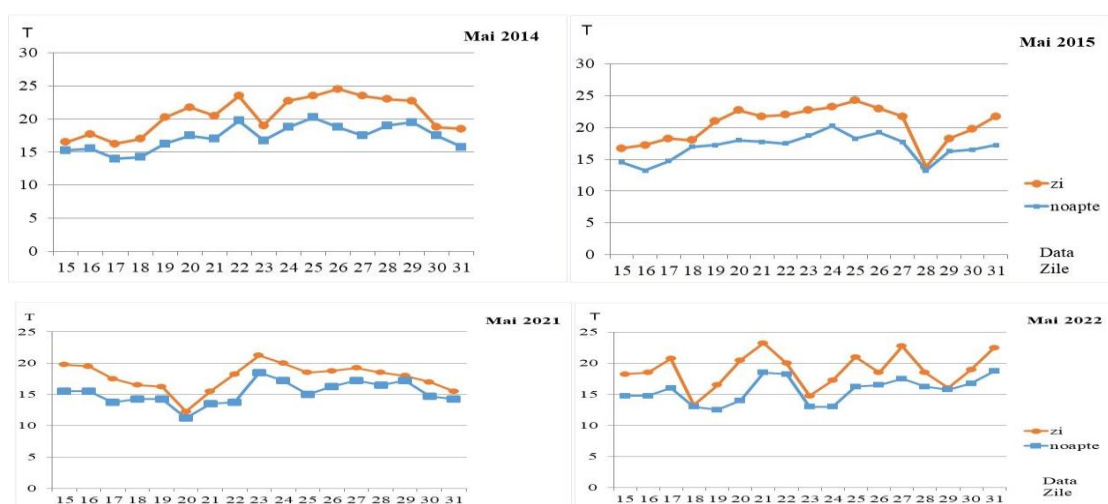


Fig. 5.11. Temperatura aerului în lunile mai-iunie în fazele de vegetație a orzului Înfrățire Z 29 – Înspicare Z 49.

Conform celor relatate anterior se conturează importanța științifică și practică a formei mutante *spic ramificat*. Pentru utilizarea eficientă a formelor respective în programele de diversificare și ameliorare a orzului de primăvară este necesară aprecierea potențialului genetic, naturii variabilității, factorilor majori ce contribuie la manifestarea fenotipică a caracterelor de interes și modalității de moștenire a diferitor elemente ale productivității, precum și

interrelațiilor dintre caracterele ce determină direct și indirect productivitatea boabelor în diferite condiții ale mediului. Prin urmare, estimarea varianței genotipice și fenotipice, coeficientului de variație genotipică și fenotipică, heritabilității, avantajului genetic, coeficientului de corelație va determina condițiile eficiente pentru ameliorarea și implementarea selecției caracterelor valoroase la orzul de primăvară.

În rezultatul analizei datelor experimentale prin aplicarea testului ANOVA s-a atestat că condițiile anului au influențat semnificativ asupra variației majorității caracterelor evaluate cu excepția TPL (SC₂-SC₄), NSP (SC₂-SC₄), LSP (SC₃,SC₄), NBSP (SC₂,SC₃), LUI (SC₃), NFF (SC₄), la formele cu spic ramificat (Tabelul 5.6).

Tabelul 5.6. Analiza varianței indicilor biomorfologici la somaclonele de orz de primăvară (SC₂₋₄) cu spic ramificat

Caractere	S ²	Rezidual	Total	GL	F
SC₂ (2014-2020)					
TPL,cm	151,208	85,0107	3891,68	1	1,78
LSP, cm	9,1359	1,61453	80,175	1	5,66*
LUI,cm	350,078	17,8648	1136,13	1	19,60***
NI	3,6739	0,25099	14,7174	1	14,64***
NFF	4,2609	0,36759	20,4348	1	11,59**
NSP	3,1304	332,834	14647,3	1	0,01
NBSP	2,6304	63,6838	2804,72	1	0,04
SC₃ (2020-2022)					
TPL,cm	25,992	111,844	2039,19	1	0,23
LSP, cm	0,722	2,46089	45,018	1	0,29
LUI,cm	42,9245	17,5992	359,709	1	2,44
NI	0,8	0,16667	3,8	1	4,80*
NFF	9,8	0,77778	23,8	1	12,60**
NSP	162,45	208,139	3908,95	1	0,78
NBSP	304,2	167,367	3316,8	1	1,82
NBPL	7604,61	526,546	17082,4	1	14,44**
GBSP	1,87885	0,14995	4,57786	1	0,23**
GBPL	15,6999	0,68322	27,9979	1	22,98***
MMB	1202,57	61,2058	2916,33	1	6,65*
SC₄ (2020-2022)					
TPL,cm	40,1363	74,3742	2122,61	1	0,54
LSP, cm	0,705333	1,00176	28,7547	1	0,70
LUI,cm	160,083	14,1293	555,703	1	11,33**
NI	2,13333	0,190476	7,46667	1	11,20**
NFF	0,833333	1,1381	32,7	1	0,73
NSP	7,5	77,1238	2166,97	1	0,10
NBSP	907,5	41,2429	2062,3	1	22,00***
NBPL	2358,53	536,024	17367,2	1	4,40*
GBSP	2,85208	0,0902195	5,37823	1	31,61***
GBPL	9,97633	0,736758	30,6055	1	13,54***
MMB	1202,57	61,2058	2916,33	1	19,65***

*, **, *** – diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; 0, 01; 0,001
S² – media pătratică; GL – grad de libertate; F – test Fisher.

Iar în cazul somaclonelor cu spic neramificat acțiunea condițiilor de an a dus la variația majorității caracterelor din generația SC₄, cu excepția LSP, LUI , NSP și la variația a 54,54 - 57,14% din caracterele formelor din generațiile SC₂, SC₃, cu excepția LSP, LUI, NSP pentru ambele generații. De asemenea, la formele cu spic neramificat, caracterele NBSP (SC₂) și TPL, MMB (SC₃) au variat ne semnificativ (Tabelul 5.7).

Tabelul 5.7. Analiza varianței indicilor biomorfologici la somaclonele (SC₂₋₄) de orz de primăvară cu spic neramificat

Caractere	S ²	Rezidual	Total	GL	F
SC₂ (2014-2020)					
TPL,cm	2031,36	96,2964	7038,77	1	21,09***
LSP, cm	0,003	2,17762	80,175	1	0,00
LUI,cm	3,12963	32,2328	1679,24	1	0,10
NI	1,85185	0,22365	13,4815	1	8,28**
NFF	39,1852	1,77208	131,333	1	22,11***
NSP	8,96296	11,2151	592,148	1	0,80
NBSP	42,6667	20,7721	1122,81	1	2,05
SC₃ (2020-2022)					
TPL,cm	46,5125	81,4476	1512,57	1	0,57
LSP, cm	0,032	2,46444	44,392	1	0,01
LUI,cm	0,392	16,0067	288,512	1	0,02
NI	0,45	0,18333	3,75	1	2,45
NFF	14,45	2,25	54,95	1	6,42*
NSP	1,8	11,7222	212,8	1	0,15
NBSP	344,45	15,85	629,75	1	21,73***
NBPL	15512,7	1141,63	36061,8	1	13,59**
GBSP	2,15168	0,05541	3,14422	1	39,02
GBPL	36,9376	2,23044	77,0856	1	16,56***
MMB	218,196	201,437	3844,07	1	1,08
SC₄ (2020-2022)					
TPL, cm	427,812	40,3221	1153,61	1	10,61**
LSP, cm	0,0845	1,42628	25,7575	1	0,06
LUI, cm	13,6125	10,3709	200,29	1	1,31
NI	3,2	0,2	6,8	1	16,00***
NFF	7,2	0,6444	18,8	1	11,17**
NSP	24,2	9,22222	190,2	1	2,62
NBSP	192,2	9,54444	364	1	20,14***
NBPL	6425	331,223	12087,2	1	18,49***
GBSP	1,59048	0,03124	2,15278	1	50,91***
GBPL	19,8005	0,63461	31,2235	1	31,20***
MMB	672,336	7,77503	812,287	1	86,47***

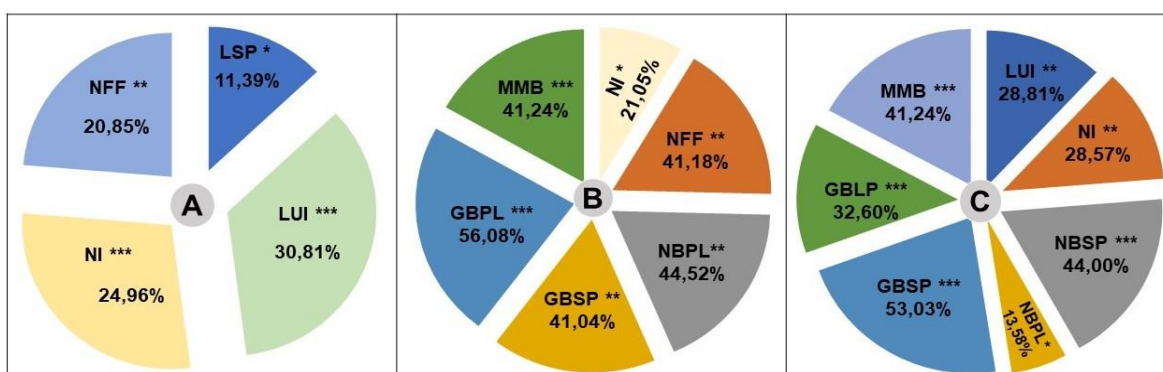
*, **, *** – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0, 01; 0,001
S² – media pătratică; GL – grad de libertate; F – test Fisher.

Este important de menționat că valorile ne semnificative indică despre stabilitatea caracterelor respective timp de 2-3 ani, iar indicele NSP, caracter ce reflectă direct mutația spicului ramificat, a variat ne semnificativ timp de 3 ani pentru ambele forme.

Date similare privind variația ne semnificativă a unor caractere ce determină arhitectura (TLP, LSP) și unii indici ai productivității plantei (GBSP, MMB) în diferiți ani de cercetare au fost relatate la diferite genotipuri de orz [27, 107], combinații hibride de grâu, forme mutante de grâu și orez [27, 38, 79, 208]. De asemenea, alți cercetători au raportat despre diferențe semnificative pentru caracterele ce determină arhitectura plantei (TLP, LSP, NSP) și unele elemente de productivitate (NFF, NBSP, GBSP, MMB) la diferite genotipuri de orz [27, 31, 82, 183], grâu și orez [38, 85, 262].

În același timp, conform datelor testului ANOVA, s-a remarcat că toate caracterele ce determină direct productivitatea (NBPL, GBSP, GBPL, MMB) au fost influențate semnificativ de condițiile anilor 2020-2022 indiferent de generație pentru ambele forme de orz, cu excepția indicelui MMB (spic neramificat SC₃).

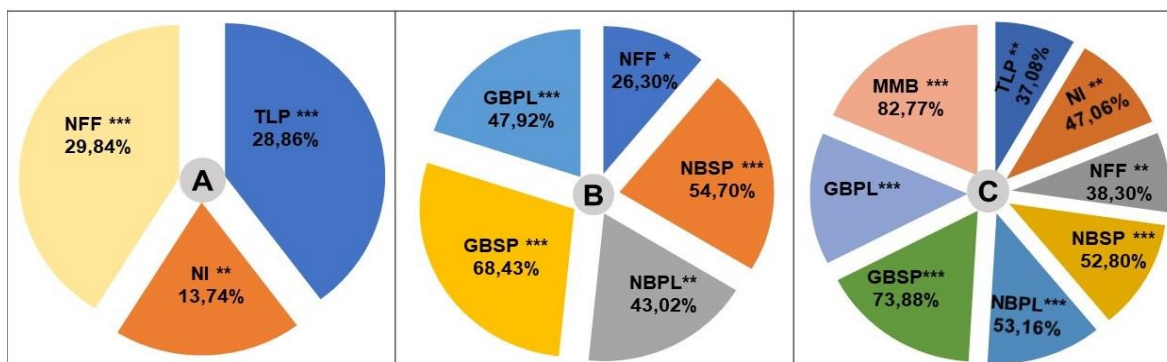
Puterea de influență (PI,%) a condițiilor de an a atins valori minime pentru caracterele LSP (11,39%, SC₂), NI (21,05%, SC₃), NBPL (13,58%, SC₄) și valori maxime pentru indicii LUI (30,81%, SC₂), GBPL (50,08%, SC₃), GBSP (53,03%, SC₄) la formele cu spic ramificat (Figura 5.12).



**Fig. 5.12. Puterea de influență a condițiilor de an asupra variației caracterelor agromorfologice la formele de orz cu spic ramificat: A – SC₂; B – SC₃; C – SC₄
*, **, *** – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0, 01; 0,001.**

Iar la somaclonele cu spic neramificat, condițiile de an au avut impact minim asupra caracterelor NI (13,74%, SC₂), NFF (26,30%, SC₃), TLP (37,08%, SC₄) și acțiune maximă asupra indicilor NFF (29,84%, SC₂), GBSP (68,43%, SC₃), MMB (82,77%, SC₄) (Figura 5.13). De asemenea, în rezultatul analizei comparative a valorilor PI asupra variabilității caracterelor de productivitate la formele cu spic ramificat cu cele ale somaclonelor cu spic neramificat în cadrul aceleiași generații, s-a atestat mărirea indicelui respectiv cu 1,20-3,91 ori, la somaclonele cu spic neramificat, cu excepția indicilor NFF, NBPL și GBPL, generația SC₃, indicând despre sensibilitatea mai accentuată a indicilor de productivitate la condițiile anului de cercetare pentru forma respectivă. Totodată, formele cu spic ramificat au prezentat valori semnificative pentru un

număr mai mare de caractere ce determină arhitectura plantei (TLP, LSP, LUI, NI), comparativ cu indicii respectivi la somaclonele cu spic neramificat (Figura 5.13)



**Fig. 5.13. Puterea de influență a condițiilor de an asupra variației caracterelor agromorfologice la formele de orz cu spic neramificat: A – SC₂; B – SC₃; C – SC₄
*, **, *** – diferența semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001.**

Determinarea naturii și magnitudinii variabilității, precum și factorilor esențiali ce contribuie la exprimarea fenotipică a caracterelor de interes la formele de orz de primăvară este indispensabilă pentru realizarea unui proces de ameliorare eficient. Este cunoscut faptul că varianța genotipică indică aportul factorilor genetici în manifestarea fenotipică a caracterului, iar varianța fenotipică - a factorilor de mediu. Astfel, evaluarea indicilor varianței caracterelor ce determină arhitectura și productivitatea la formele de orz crescute în diferite condiții, timp de 2-3 ani, denotă că, valorile varianței fenotipice (V_{ph}) au fost mai mari decât cele ale varianței genotipice (V_g), pentru toate caracterele, la ambele forme de orz. În același timp, diferența dintre valori este mică (1,01 - 1,33 ori) pentru toate caracterele la ambele forme indiferent de generație și anul cercetării, ceea ce denotă influența redusă a condițiilor de mediu asupra manifestării fenotipice a caracterelor studiate. Este necesar de relatat că pentru caracterele: LUI (SC₂), GBSP (SC₃), NBPS (SC₄), MMB (SC₃,SC₄) la formele cu spic ramificat și TPL (SC₂, SC₄), NFF (SC₂), NBSP (SC₃, SC₄), GBSP (SC₃), NBPL (SC₄), GBPL (SC₄), MMB (SC₄) la somaclonele cu spic neramificat s-au înregistrat valori foarte apropiate ale V_g cu cele ale V_{ph}, iar pentru indicele GBSP (SC₄, spic neramificat) valori egale, ceea ce indică despre contribuția semnificativă a genotipului asupra expresării fenotipice a caracterelor respective (Tabelele 5.8, 5.9). De asemenea, pentru aprecierea mărimii variabilității caracterelor evaluate este necesar de stabilit valorile coeficientului de variație genotipică (CVG) și a coeficientului de variație fenotipică (CVF), care indică despre gradul de variație a caracterelor în dependență de variația genotipului sau a mediului. Prin urmare, evaluarea gradului de variabilitate a caracterelor agromorfologice a atestat cele mai mici valori pentru parametrul: NI, la formele cu spic

ramificat (CVG – 4,13%; CVF – 4,46%, SC₃) și la formele de orz cu spic neramificat (CVG – 4,48%; CVF – 4,78%, SC₂, iar pentru caracterul NFF (SC₂) cel mai înalt grad de variație genotipică (CVG – 118,29%; 132,56%) și fenotipică (CVF – 123,74%; 135,66%), la ambele forme de orz.

Tabelul 5.8. Variația genotipică și fenotipică pentru caracterele agromorfologice la formele de orz cu spic ramificat (SC₂ - SC₃) în dependență de ani

Caracter	An	Min-Max	$\bar{x} \pm Es$	V _g	V _{ph}	Ve	CVG%	CVF%
Spic ramificat SC₂								
LSP, cm	2014 2020	7,00-14,00 10,50-14,00	11,75±0,20	0,33	0,40	1,61	4,87	5,36
LUI, cm	2014 2020	10,00-24,00 14,20-31,50	17,61±0,74	14,44	15,22	17,86	21,59	22,16
NI	2014 2020	4,00-6,00 5,00-6,00	5,37±0,08	0,15	0,16	0,25	7,18	7,44
NFF	2014 2020	0,00-1,00 0,00-3,00	0,35±0,10	0,17	0,19	0,37	118,29	123,74
SC₃								
NI	2020 2022	5,00-6,00 6,00-7,00	6,10±0,10	0,06	0,08	0,17	4,13	4,64
NFF	2020 2022	0,00-2,00 1,00-4,00	1,10±0,25	0,90	0,98	0,78	86,35	90,00
GBSP	2020 2022	0,18-1,59 0,88-1,62	0,98±0,11	1,50	1,57	526,55	71,00	72,60
GBPL	2020 2022	0,25-2,25 2,00-5,25	1,73±0,27	0,17	0,19	0,15	42,28	44,07
NBPL	2020 2022	10,00-70,00 53,00-131,00	51,30±6,70	707,81	760,46	0,68	51,86	53,75
MMB	2020 2022	13,89-53,00 29,22-40,08	32,16±2,13	114,14	120,26	61,21	33,56	34,44
SC₄								
LUI, cm	2020 2022	12,30-27,00 12,20-21,00	17,57±0,80	9,73	10,67	14,13	17,75	18,59
NI	2020 2022	5,00-6,00 6,00-7,00	6,13±0,09	0,13	0,14	0,19	5,87	6,15
NBSP	2020 2022	10,00-37,00 28,00-45,00	31,70±1,54	57,75	60,50	41,24	23,97	24,54
NBPL	2020 2022	10,00-128,00 32,00-90,00	52,40±4,47	121,50	157,24	536,02	21,04	23,93
GBSP	2020 2022	0,08-1,32 1,01-1,62	1,07±0,08	0,18	0,19	0,09	40,22	40,87
GRBPL	2020 2022	0,08-4,21 1,34-3,48	1,76±0,19	0,62	0,67	0,74	44,48	46,21
MMB	2020 2022	4,44-38,79 28,91-42,67	31,84±1,83	76,09	80,17	61,21	27,40	28,12

r =23 (SC₂, spic ramificat); r =10 (SC₃, spic ramificat); r =15 (SC₄, spic ramificat),
unde r – numărul de observații per variantă

În plus, conform clasificării valorilor CVG și CVF menționate în compartimentul materiale și metode (anterior), caracterele NFF, (ambele forme) și LUI (spic ramificat), generația SC₂ și

toate caracterele de productivitate evaluate din generațiile SC₃, SC₄, cu excepția NBSP (SC₄), au fost atribuite grupei cu valori înalte (> 20%) a indicilor respectivi. Iar caracterele LUI (SC₄) la somaclonele cu spic ramificat și TLP (SC₂), NBPL (SC₄) la formele cuspic neramificat au fost incluse în clasa cu valori medii (10 - 20%) ale coeficientului de variație. Grad mic de variație (< 10%) a prezentat parametrii: LSP (SC₂, spic ramificat), TPL (SC₄, spic neramificat) și caracterul NI (SC₂-SC₄) la ambele forme de orz (Tabelele 5.8 și 5.9).

Tabelul 5.9. Variația genotipică și fenotipică pentru caracterele agromorfologice la formele de orz cu spic neramificat (SC₂-SC₃) în dependență de ani

Caracter	An	Min-Max	$\bar{x} \pm Es$	Vg	Vph	Ve	CVG %	CVF %
Spic neramificat SC₂								
TPL, cm	2014 2020	68,00-97,00 54,00-93,00	78,64±1,57	71,67	75,24	96,30	10,76	11,03
NI	2014 2020	5,00-6,00 5,00-6,00	5,48±0,07	0,06	0,07	0,22	4,48	4,78
NFF	2014 2020	0,00-1,00 0,00-7,00	0,88±0,21	1,39	1,45	1,77	132,56	135,66
SC₃								
NFF	2020 2022	0,00-3,00 1,00-7,00	2,05±0,38	1,22	1,45	2,25	53,88	58,64
NBSP	2020 2022	13,00-27,00 24,00-34,00	24,25±1,29	32,86	34,45	15,85	23,64	24,20
GRSP	2020 2022	0,35-0,98 0,92-1,70	0,97±0,09	0,21	0,22	141,63	47,06	47,67
NBPL	2020 2022	13,00-78,00 44,00-184,0	63,75±9,74	1437,1	1551,3	0,06	59,47	61,78
GRBP	2020 2022	0,35-2,24 1,49-8,01	2,57±0,45	3,47	3,69	2,23	72,49	74,78
SC₄								
TPL, cm	2020 2022	55,50-79,00 71,50-80,60	72,29±1,74	38,75	42,78	40,32	8,61	9,05
NI	2020 2022	6,00-6,00 6,00-8,00	6,40±0,13	0,30	0,32	0,20	8,56	8,84
NFF	2020 2022	0,00-2,00 1,00-3,00	1,40±0,22	0,66	0,72	0,64	57,83	60,61
NBSP	2020 2022	20,00-29,00 23,00-33,00	27,00±0,98	18,27	19,22	9,54	15,83	16,24
NBPL	2020 2022	20,00-56,00 48,00-107,00	57,20±5,64	609,4	642,5	331,22	43,16	44,31
GRSP	2020 2022	0,54-1,06 0,96-1,58	1,11±0,08	0,16	0,16	0,03	35,54	35,90
GRBPL	2020 2022	0,54-1,82 2,12-4,98	2,74±0,29	1,92	1,98	0,63	60,88	61,88
MMB	2020 2022	27,00-37,69 39,63-46,54	37,80±1,46	66,46	67,23	7,78	21,56	21,69

r =27 (SC₂, spic neramificat); r =10 (SC₃, spic neramificat); r =10 (SC₄, spic neramificat),
unde r – numărul de observații per variantă

Rezultate asemănătoare au fost comunicate de mai mulți cercetători atât la diferite soiuri, forme locale și linii mutante de orz cât și linii mutante de orez și grâu [31, 38, 97, 83, 84, 175, 208]. Astfel, la ambele forme analizate caracterele ce țin de arhitectura plantei (TLP, LUI, LSP, NI) au prezentat un grad mic sau mediu de variație genotipică și fenotipică, cu excepția LUI (SC₂). Iar caracterele ce determină productivitatea (NFF, NBSP, NBPL, GBSP, GBPL, MMB) au variat puternic, cu excepția NBSP (SC₄, spic neramificat).

De asemenea, este important de relevat că deși valorile CVF sunt mai înalte decât cele ale CVG, diferențele sunt mici (1,01 - 1,14 ori) pentru toate caracterele, la ambele forme de orz, indiferent de generație și anul cercetării. Acest fapt indică despre efectul redus al variației condițiilor mediului asupra variabilității caracterelor analizate sau sensibilitatea mică a formelor de orz la factorii mediului. Pe de altă parte, se evidențiază rolul major al factorilor de genotip asupra variației caracterelor. Similar, diferențele mici între CVF și CVG pentru caracterele cantitative au fost obținute la diferite forme mutante de orz [84], orez [25], linii mutante de grâu [38], genotipuri de orez [262].

În același timp, alți cercetători menționează despre diferențe mari între acești indici, pentru toate caracterele evaluate la diferite genotipuri de orz și porumb [31, 95, 97, 175, 194]. Conform datelor din literatură, valorile CVF sunt întotdeauna mai mari decât cele ale CVG pentru caracterele respective, ceea ce sugerează despre aportul variației condițiilor mediului, fapt confirmat și de rezultatele noastre.

În scopul aprecierii naturii variabilității (ereditară sau neereditară) caracterelor agromorfologice evaluate a fost stabilită heritabilitatea în sens larg, parametru ce reprezintă cota variației fenotipice ereditare, ce se datorează variației genotipului pentru caracterul respectiv [66]. Heritabilitatea (h^2) caracterelor analizate la formele cu spic ramificat a variat de la 77,27% (NBPL, SC₄) până la 96,84% (GBSP, SC₄), iar la formele cu spic neramificat de la 84,43% (NFF) până la 98,84% (MMB). Conform clasificării indicelui heritabilității, în trei categorii, menționat în compartimentul materiale și metode, toate caracterele au prezentat la ambele forme valori înalte (>60%) a coeficientului de heritabilitate (Figurile 5.14, 5.15).

Despre heritabilitatea înaltă pentru caracterele TLP, LSP, NSP, NFF, NBSP, GBSP, GBPL, MMB s-a relatat la diferite genotipuri și linii mutante de orz [26, 78, 79, 90, 168], precum și la diferite forme locale, linii mutante de grâu și orez [38, 68, 208].

Valorile înalte ale heritabilității la caracterele analizate la ambele forme de orz de primăvară indică despre contribuția majoră a variației genotipului asupra variației fenotipice, stabilitatea exprimării fenotipice în diferite condiții ale mediului și răspunsul așteptat la selecție a indicilor respectivi.

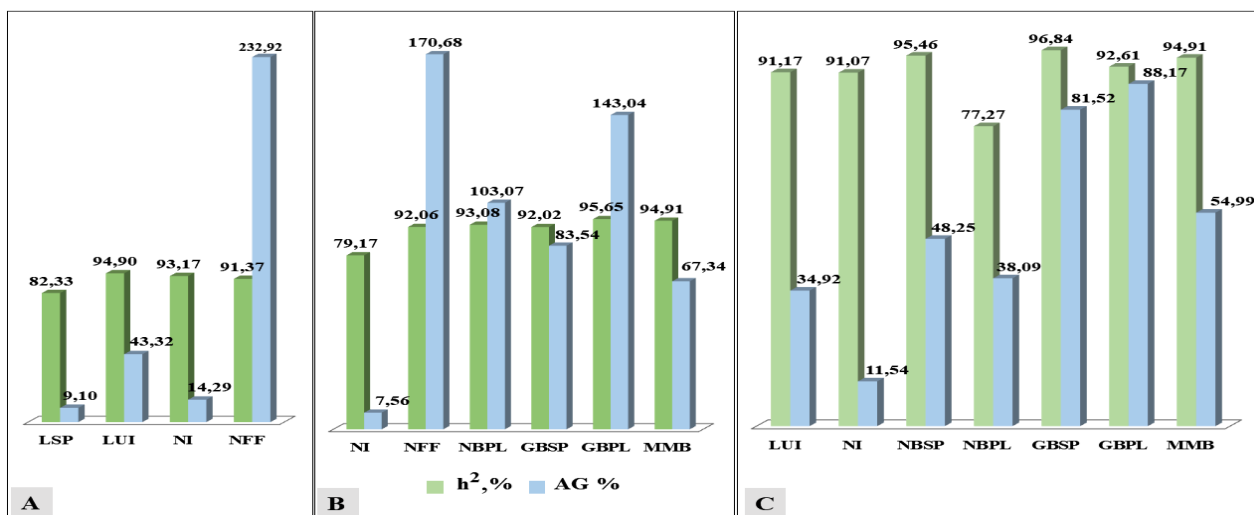


Fig. 5.14. Heritabilitatea în sens larg (h², %) și avantajul genetic (AG, %) la formele de orz cu spic ramificat: A – SC₂; B – SC₃; C – SC₄.

De asemenea, este un indicator despre fiabilitatea înaltă a valorii fenotipice a caracterelor și posibilitatea selectării eficiente a plantelor în baza acestei valori [79, 208, 255]. Cu toate acestea, heritabilitatea ridicată a caracterelor evaluate nu oferă o imagine completă asupra progresului așteptat ca răspuns la selecția întreprinsă [84, 208]. În scopul precizării efectului final al selecției este necesar de determinat relația directă dintre indicii de heritabilități și răspunsul la selecție, care se referă la avantajul genetic al caracterelor respective. Prin urmare, avantajul genetic reprezintă un indicator important al progresului genetic așteptat ca rezultat al selecției aplicate asupra caracterelor analizate și contribuie la sporirea utilității valorii de heritabilități. În plus, aprecierea valorii de heritabilități în combinație cu indicii de avantajul genetic menționează despre efectele aditive sau neaditive a genelor în controlul caracterelor poligene [82].

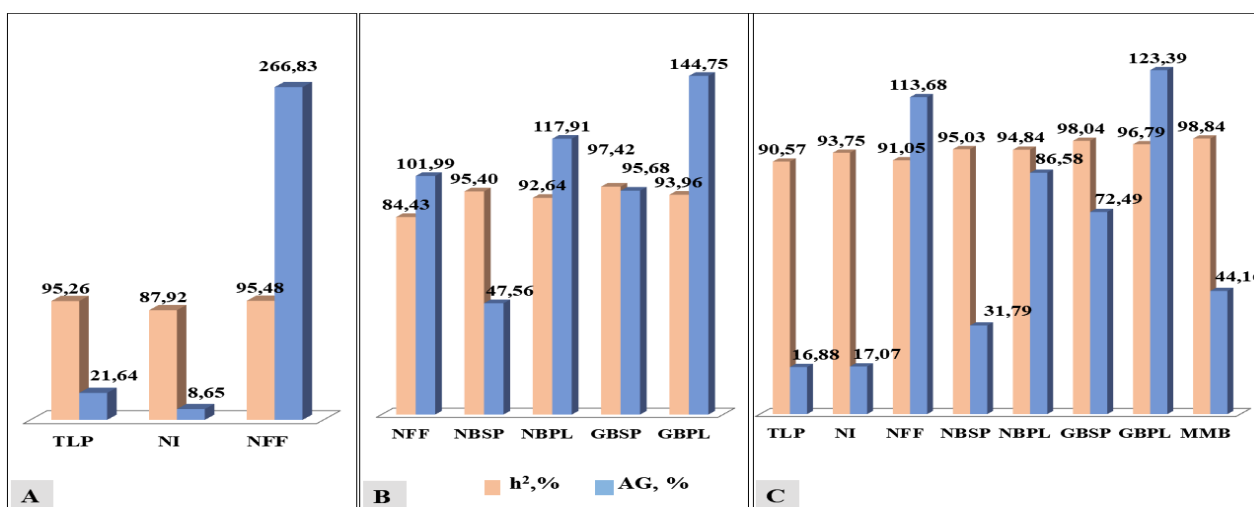


Fig. 5.15. Heritabilitatea în sens larg (h², %) și avantajul genetic (AG, %) la formele de orz cu spic neramificat: A – SC₂; B – SC₃; C – SC₄.

Heritabilitatea înaltă cuplată cu avantajul genetic ridicat ($AG > 20\%$) a fost atestată pentru toate caracterele ce determină direct productivitatea: NFF (SC_2 - SC_4), NBSP, NBPL, GBSP, GBPL, MMB la ambele forme de orz în generațiile SC_3 , SC_4 (2020-2022) și indicele LUI (SC_2) la formele cu spic ramificat (Figura 5.14). Valori similare ale parametrilor genetici pentru majoritatea din caracterele respective au fost relatate și de alți cercetători la diferite soiuri de orz [21, 107, 175], linii mutante de grâu și orez [38, 208]. Totodată, în alte lucrări științifice cercetătorii menționează despre heritabilitatea înaltă sau medie asociată cu un avantaj genetic moderat sau scăzut, pentru unele din caracterele ce țin de productivitate precum sunt GBSP și MMB la diferite soiuri, forme mutante de orz [84, 97, 107, 194] și forme locale, mutante de grâu [38, 68]. De asemenea, în cercetările realizate de noi, pentru caracterul TLP (SC_2 , SC_4 , spic neramificat), valorile avantajului genetic au variat de la înalte spre moderate ($AG = 10 - 20\%$), corelând cu heritabilitatea înaltă. Prin urmare, aceste caractere sunt guvernate de efectele aditive ale genelor și selecția pentru acești indici poate fi eficientă și avantajoasă. Rezultate similare pentru caracterul TLP au fost remarcate la soiuri [95, 107], linii mutante de grâu [38] și orez [208]. Din contra, alți cercetători au obținut valori moderate a heritabilității asociată cu avantajul genetic moderat sau scăzut pentru acest indice la diferite genotipuri de orz [107, 175, 194] și forme de grâu [68]. În ceea ce privește indicele NI (SC_2 - SC_4 , ambele forme), valorile avantajului genetic au variat de la moderate spre joase ($AG < 10\%$). Iar caracterul LSP (SC_2 , spic ramificat) a prezentat heritabilitate înaltă cuplată cu un avantaj genetic scăzut (Figurile 5.14, 5.15). Similar rezultatelor obținute de noi, valori înalte ale heritabilității combinate cu valori moderate și joase ale avantajului genetic pentru caracterele LSP [38, 68] și NI [23], au fost relatate la diferite forme locale, mutante de grâu și linii dubluhaploide de orz. În același timp, unii cercetători comunică despre valorile înalte ale indicilor genetici respectivi pentru caracterul LSP la diferite soiuri, linii mutante, forme locale de orz [84, 107, 175], alți autori menționează despre valori moderate ale heritabilității asociate cu valori moderate sau joase ale avantajului genetic pentru acest caracter la orez [194], grâu [38], orez [208]. Astfel, putem presupune că în manifestarea acestor caractere sunt implicate efectele genice neaditive (dominante și epistatice) și selecția poate fi dificilă. Cu toate acestea, indicii respectivi pot fi luați în considerare în ameliorarea orzului de primăvară.

Dacă heritabilitatea cuplată cu avantajul genetic reprezintă parametri utili pentru a prezice răspunsul la o anumită presiune de selecție și progresul genetic așteptat pe parcursul mai multor cicluri de selecție, atunci coeficientul de corelare a diferitelor caractere agromorfologice de interes este un alt indice important care ajută la luarea deciziei în cadrul selecției directe sau indirecte [69, 197, 281]. De asemenea, analiza corelațională dintre componentele ce determină

direct și indirect productivitatea plantei este necesară pentru a obține informații despre relațiile dintre diferite combinații de caractere și pentru a determina răspunsul așteptat a altor caractere când selecția este orientată spre obținerea unui caracter valoros. În plus, informația despre natura și magnitudinea coeficientului de corelație contribuie la precizarea criteriilor de selecție pentru ameliorarea simultană a diferitelor caractere, asociate productivității plantei și selectării combinațiilor dorite [86, 267].

În rezultatul estimării coeficientului de corelație Pearson (r) pentru nouă combinații de caractere la formele de orz de primăvară s-a atestat asocierea semnificativă, pozitivă medie ($r = 0,3 - 0,7$) și puternică ($r > 0,7$) atât între caracterele ce determină arhitectura plantei, și cu cele ale productivității, cât și între componentele productivității, în dependență de forma, generația analizată și anul cercetării, cu excepția corelațiilor TPL-NFF ($r = -0,36^{***}$, SC₂, 2014), TPL-NI ($r = 0,19^*$, SC₃, 2020), NBSP-MMB ($r = -0,49^*$ SC₄, 2022) la forma cu spic ramificat (Tabelul A 3.1, 3.2). Ulterior, vor fi analizate și menționate doar interrelațiile caracterelor agromorfologice semnificative pe parcursul a doi ani de cercetare pentru fiecare formă și generație în parte, care prezintă interes deosebit. Totodată, precizăm că pentru generația SC₂ (2014), a fost evaluată corelația dintre caracterele ce țin de arhitectura plantelor și NBSP, din cauza lipsei de date primare pentru celelalte caractere de productivitate.

Prin urmare, indicele TPL, caracter ce determină arhitectura plantei a prezentat o corelație semnificativă ($P \leq 0,05 - 0,001$) cu LUI, pe parcursul a 2 ani de cercetare, la ambele forme. Valorile coeficientului de corelație între acești indici a variat de la medii ($r = 0,34^* \div 0,67^{***}$, SC₂, 2014; SC₄, 2020) la puternice ($r = 0,74^{**} \div 0,91^{***}$; SC₃₋₄, 2020, 2022). Aceste rezultate sugerează despre interrelația genetică a caracterelor respective, deoarece este exclusă influența condițiilor de mediu. Într-adevăr, la liniile dubluhaploide de orz, au fost identificate un număr mare de loci QTLs pe cromozomul 3H (626,22 - 633,07 Mb) ce țin de trăsăturile TPL printre care și LUI [295]. În plus, a fost demonstrată corelația semnificativă dintre rezistența la polignire, înălțimea plantei, tipul spicului și componența peretelui celular și rezistența paiului [141, 237, 297]. Deci, genele ce determină TPL, LUI și caracterele ce conferă rezistență la polignire sunt localizate aproape pe același cromozom și reprezintă un interes major fiind unul din obiectivele principale în ameliorarea cerealelor. Desigur, este necesar de luat în considerare faptul că genele ce determină TPL joasă (de ex: *sdw1/denso*) prezintă efect pleiotrop asupra mărimii și productivității boabelor precum și NFF [149]. Ceea ce a fost confirmat de corelația pozitivă a acestui indice cu elementele productivității la somaclonele mutante de orz de primăvară evaluate. Astfel, pe parcursul a doi ani de cercetare, la ambele forme (SC₄, 2020, 2022) s-a stabilit un grad pozitiv de corelație care a variat de la moderat la puternic între TPL-

GBSP ($r = 0,46^{**} \div 0,86^{**}$) și TPL-MMB ($r = 0,54^* ; 0,75^{**}$, SC₃, spic ramificat) în perioada aceluiași ani, în dependență de generație și condițiile de an. Despre asocierea semnificativă, medie pozitivă a TPL cu productivitatea boabelor și elementele productivității a fost relatat și de alți cercetători la formele locale, liniile de orz cu 2 rânduri de boabe [97, 170, 183], orzul golaș cu 6 rânduri de boabe [83] și mutanții de orez [153]. Este important de relatat că recent au fost descoperiți 17 loci SNPs (loci ai caracterelor cantitative) ce conferă efect pleiotrop asupra TPL și MMB, implicând gene ce determină dezvoltarea și creșterea plantelor. Aceste gene sunt strâns linkate pe cromozom și conduc la moștenirea comună a indicilor respectivi, contribuind la corelația pozitivă între aceste caractere la orz [111]. Prin urmare, caracterul LUI, parte componentă a TPL, de asemenea a prezentat o corelație pozitivă medie și puternică, înalt semnificativă cu caracterele GBSP ($r = 0,54^{**}; 0,84^{**}$, SC₃; spic ramificat), GBPL ($r = 0,61^{***}; 0,72^{**}$, SC₄; spic neramificat) și MMB ($r = 0,69^{***}; 0,86^{***}$, SC₃; spic ramificat), în perioada anilor 2020, 2022. Este de menționat că, interrelația pozitivă între aceste caractere este susținută de cercetările recente la populațiile dubluhaploide de orz, ce au rezultat în identificarea locilor QTLs (0,43-13,28 Mb) pe cromozomul 5H și 7H (166,04 – 214,88 Mb) ce codifică atât trăsăturile paiului, cât și cele ale spicului sau cotei de umplere a boabelor, care la rândul lor determină mărimea și greutatea boabelor [81, 269, 295]. Astfel, s-a constatat asocierea pozitivă semnificativă între TPL și LSP, pentru ambele forme de somaclone de orz. Indicii coeficientului de corelație a variat de la moderat ($r = 0,51^{***} \div 0,62^{***}$, SC₂₋₃, spic ramificat, 2020, 2022; $r = 0,36^{**}$, SC₂, spic neramificat, 2014) la înalt ($r = 0,80^{**} \div 0,85^{***}$, SC₂₋₃, 2020,2022, spic neramificat), în dependență de forma, generația analizată și anul cercetării. La fel, corelații medii și înalte s-au înregistrat între caracterele LSP și LUI atât pentru formele cu spic neramificat ($r = 0,38^{**}; 0,78^{***}$) cât și pentru somaclonele cu spic ramificat ($r = 0,67^{***}; 0,72^*$), pe parcursul anilor 2014, 2020, 2022, dar în generații diferite (SC₂, SC₃). Similar, s-a remarcat corelația medie, înalt semnificativă între TPL-NSP ($r = 0,37^{**}; 0,58^{**}$, SC₂; 2014, 2020) și asocieri moderate și puternice foarte semnificative ($r = 0,59^{***} - 0,89^{***}$, SC₂, SC₄; 2014, 2020, 2022) între LSP-NSP doar la forma cu spic neramificat. Despre corelația semnificativă pozitivă între indicii TPL-LSP și LSP-NSP a fost menționată și de alți cercetători, la diferite forme de orz, grâu și linii mutante de orez [22, 47, 97, 153, 160]. În același timp, alți cercetători relatează despre interrelația nesemnificativă a TPL-NSP la orz și grâu [47, 83, 219] și asocierea puternică între LSP-NSP la grâu [219] sau nesemnificativă la formele de orz golaș cu 6 rânduri de boabe, pe parcursul a 2 ani de cercetare [83]. Aceste date sugerează despre influența genotipului și condițiilor de mediu asupra interrelațiilor date. În plus, de remarcat că analiza comparativă a corelației dintre LSP-NSP la formele cu spic neramificat și cele cu spic ramificat

a evidențiat deosebiri relevante în dependență de forma spicului. Prin urmare, la somaclonele cu spic ramificat, asocierea între aceste caractere este ne semnificativă pentru toate generațiile analizate și anii de cercetare. Acest fapt este condiționat de genele mutante ce determină pierderea identității meristemului spiculețelor și formarea ramurilor, ceea ce duce la mărirea NSP și ulterior NBSP, fără a modifica LSP, spre deosebire de spicul formelor neramificate, cu 2 rânduri de spiculețe fertile. În plus, este important de menționat despre discrepanțele observate în rezultatul evaluării comparative a interrelației dintre LSP și NSP cu parametrii productivității boabelor în dependență de forma de orz analizată, care evident sunt cauzate de expresia caracterului *spic ramificat*. Astfel, s-a remarcat că, acești parametri au prezentat o asociere pozitivă semnificativă cu mai multe caractere de productivitate la formele cu spic neramificat (LSP, SC₂₋₄; NSP, SC₃₋₄) față de somaclonele cu spic ramificat (LSP, SC₂₋₃; NSP, SC₃₋₄) (Tabelul A 3.1, 3.2). Prin urmare, evaluarea corelației caracterului LSP cu elementele de productivitate a scos în evidență un grad de asociere mediu și puternic cu NBSP ($r = 0,78^{**}$; $0,81^{***}$, SC₃; 2020, 2022) și cu GBSP ($r = 0,43^{*}$; $0,89^{***}$, SC₃₋₄; 2020, 2022) la forma cu spic neramificat (Tabelul A 3.2). Iar pentru formele cu spic ramificat valorile coeficientului de corelație este ne semnificativ în SC₃₋₄; 2020, 2022 (Tabelul A 3.1). Similar, la forma cu spic neramificat (SC₄; 2020, 2022) s-a constatat un grad de asociere înalt semnificativ între indicii NSP-NBSP ($r = 0,51^{**}$; $0,89^{***}$) și NSP-GBSP ($r = 0,56^{**}$; $0,90^{***}$), iar la somaclonele cu spic ramificat nu au fost înregistrate valori semnificative ale indicelui de corelație între caracterele menționate anterior pe parcursul a două generații, SC₂ și SC₃, cu excepția corelației semnificative moderate și înaltă între NSP-NBSP (SC₃₋₄) și NSP-GBSP (SC₄) doar pentru anul 2022 (Tabelul A 3.1). Conform cercetărilor recente [261], în rezultatul evaluării asocierii componentelor ce determină NBSP cu tipul spicului după numărul de rânduri de boabe per spic (2 sau 6 rânduri) la orz, s-au evidențiat diferențe semnificative. Astfel, s-a demonstrat că NBSP la spicul cu 2 rânduri este determinat de variația capacității de inițiere a spiculețelor, în faza de inițiere a spiculețelor, prin NSP, iar la spicul cu 6 rânduri numărul boabelor este asociat puternic cu potențialul de supravețuire a spiculețelor, în faza de creștere a spiculețelor. Prin urmare, în faza de setare a boabelor, la spicul cu 2 rânduri, competiția între spiculețele fertile pentru asimilații stocați în preanțeză este mică și cantitatea de asimilați este suficientă pentru umplerea boabelor determinând corelația pozitivă între NSP-NBSP [261]. Luând în considerare cele relatate, putem afirma că formarea spiculețelor și ramurilor suplimentare contribuie la concurența mare a spiculețelor fertile pentru asimilați, ceea ce duce la corelația ne semnificativă între NSP-NBSP și majoritatea indicilor de productivitate. În plus s-a demonstrat că potențialul maxim de primordii ale spiculețelor este determinat de genotip și răspunsul la condițiile

mediului. Prin urmare și avortarea spiculețelor și boabelor este influențată de condițiile mediului, precum temperatura înaltă [29], factorul principal în expresia mutației *spic ramificat*.

Este cunoscut că, caracterul numărul de frați fertili per plantă reprezintă atât un indice ce determină arhitectura plantei cât și un parametru agronomic asociat puternic cu productivitatea boabelor per plantă, fapt confirmat în rezultatul analizei corelaționale, în acest studiu. Astfel, între indicii NFF-NBPL ($r = 0,84^{***} \div 0,93^{***}$) și NFF-GBPL ($0,76^* \div 0,86^{***}$) s-au stabilit corelații semnificative foarte puternice la forma cu spic neramificat, pentru toate generațiile (2020-2022). Iar la forma cu spic ramificat, valorile coeficientului de corelație între acești indici a variat de la mediu - puternic (NFF-NBPL, $r = 0,63^{**} \div 0,88^{***}$; NFF-GBPL, $r = 0,49^* \div 0,84^{***}$), pentru anii 2020-2022, în dependență de generație și condițiile mediului. Prin urmare, este esențial de concluzionat că prin valorile pozitive semnificative, medii și puternice ale coeficientului de corelație între caracterele ce determină arhitectura plantei (TPL-LSP, TPL-LUI, TPL-NSP, LSP-LUI, LSP-NSP) și elementele de productivitate a boabelor (TPL-GBSP, TPL-MMB, LSP-NBSP, LSP-GBSP, LUI-GBSP, LUI-GBPL, LUI-MMB, NSP-NBSP, NSP-GBSP, NFF-NBPL, NFF-GBPL), pe parcursul a doi ani de cercetare în aceeași generație, pentru diferite generații, se confirmă interdependența complexă a elementelor ce determină indirect productivitatea boabelor la plantele de orz (Figura 5.20) și importanța acestor componente în procesul de ameliorare, selecție indirectă și simultană a caracterelor de interes.

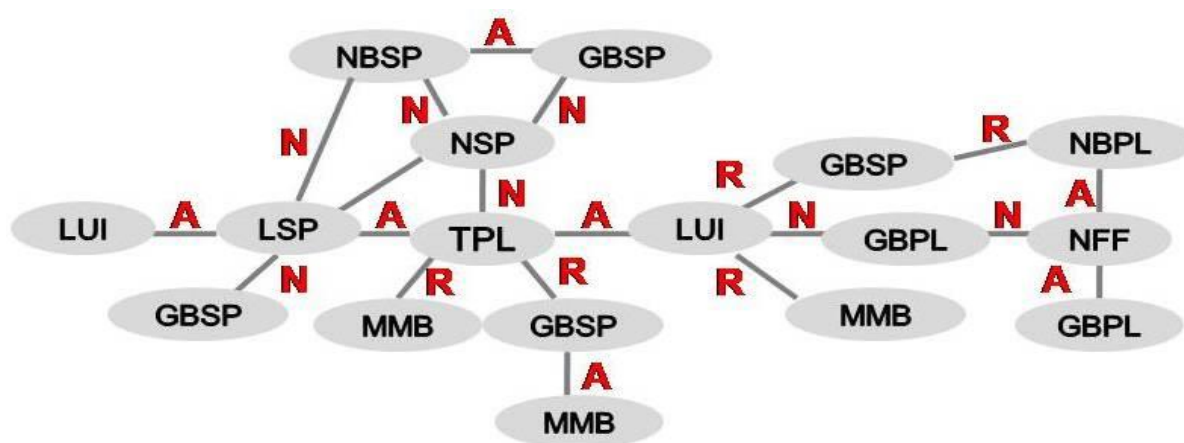


Fig. 5.16. Interrelațiile între elementele productivității în aspect transgenerațional: A – ambele forme; N – spic neramificat; R – spic ramificat.

Corelații semnificative pozitive medii între caracterele ce determină arhitectura plantei și elementele de productivitate a boabelor au fost relatate la diferite genotipuri de orz de mai mulți autori [22, 47, 83, 97,187, 297].

Privitor la corelația între elementele productivității de boabe s-a determinat un grad de asociere semnificativ mediu și puternic între NBSP și GBSP la toate generațiile și anii de

cercetare, atât pentru formele cu spic neramificat ($r = 0,52^{**} \div 0,88^{***}$), cât și pentru somaclonele cu spic ramificat ($r = 0,66^* \div 0,87^{***}$). Iar între caracterele NBPL și GBPL s-au înregistrat ocorelație înalt semnificativă, puternică ($r = 0,77^{**} \div 0,97^{***}$), pe parcursul a doi ani (2020, 2022) în aceeași generație (SC₃) pentru ambele forme. De asemenea, s-a atestat asocierea moderată a caracterelor GBSP și NBPL pentru doi ani de cercetare (2020-2022) doar pentru forma cu spic ramificat ($r = 0,55^* \div 0,66^{***}$, SC₃). De menționat, că corelația dintre aceste două caractere este una indirectă, cauzată de influența caracterului NBSP, parte componentă a caracterului NBPL.

Conform datelor din literatură, caracterele NBSP și GBSP sunt elementele principale ale productivității spicului care influențează semnificativ indicele MMB și respectiv productivitatea boabelor [27, 84, 135, 295, 292]. Astfel, rezultatele evaluării coeficientului de corelație între parametrii GBSP-MMB, confirmă asocierea semnificativă a acestora, atât la forma cu spic neramificat ($r = 0,53^{**} \div 0,88^{***}$, SC₄), cât și la somaclonele cu spic ramificat ($r = 0,66^* \div 0,69^{***}$, SC₃), în anii 2020, 2022. Similar, valori înalte și medii pozitive semnificative ale coeficientului de corelație între elementele productivității au fost relate la liniile de orz timp de doi ani consecutivi [84] și mutații de orez pe parcursul a 4 generații [153].

Este important de relatat că MMB reprezintă unul din componentii esențiali ai productivității, dar și indice relevant al mărimii și calității boabelor, vigorii și productivității generației ulterioare de plante [277], ceea ce determină interesul pentru estimarea impactului elementelor agronomice asupra acestui parametru și componentelor principale (NBSP, GBSP), exprimat prin coeficientul de determinare ($r-r^2$).

În conformitate cu coeficientul de determinare constatăm că variația valorilor NBSP, timp de 2 ani de cercetare în aceeași generație este determinată semnificativ de variația caracterelor LSP ($r^2 = 60,84\% ; 65,61\%$, spic neramificat), NSP ($r^2 = 26,01\% ; 79,21\%$, spic neramificat), iar a valorilor GBSP de caracterele NBSP ($r^2 = 27,04 \div 77,44\%$, spic neramificat; $r^2 = 43,56 \div 75,69\%$, spic ramificat), TPL ($r^2 = 21,16\% \div 73,96\%$, spic ramificat), LSP ($r^2 = 18,49\% \div 79,21\%$ spic neramificat), LUI ($r^2 = 29,16\% ; 70,56\%$; spic ramificat), NSP ($r^2 = 31,36\% ; 81,00\%$, spic neramificat). În ceea ce privește, variația valorilor MMB, pe parcursul a doi ani, a fost influențată semnificativ de variația caracterelor: GBSP ($r^2 = 28,09 \div 77,44\%$, spic neramificat; $r^2 = 43,56 \div 47,61\%$, spic ramificat), LUI ($r^2 = 47,61 \div 73,96\%$, spic ramificat), TPL ($r^2 = 29,16 \div 56,25\%$, spic ramificat). De asemenea, este necesar de menționat că la forma cu spic ramificat 86,49% din variația NBPL a contribuit la variația MMB, dar relația dintre acești indici este semnificativă doar pentru anul 2020 (SC₄). De evidențiat, că variația contribuției indicilor menționați anterior asupra variației valorilor NBSP, GBSP, MMB s-a

diferențiat în dependență de forma evaluată, generația analizată și efectul condițiilor mediului din cei doi ani de experiență.

Totalizând cele expuse putem relata că expresia caracterelor TPL, NSP (spic ramificat) și LSP, LUI, NSP (spic neramificat) timp de trei ani de cercetare, precum și valorile înalte ale coeficientului de heritabilitate pentru celelalte caractere, și valorile pozitive medii și înalte al coeficientului de corelație între indicii ce determină arhitectura plantei și elementele productivității demonstrează stabilitatea caracterelor la aceste forme și pot fi luate în considerare în procesul de selecție indirectă și ameliorarea orzului de primăvară. În plus, această formă mutantă poate fi utilizată în dezvăluirea mecanismelor implicate în genetica arhitecturii spicului și elementelor ce determină indirect productivitatea boabelor în condiții de temperaturi înalte.

Concluzii la Capitolul 5

➤ S-a evidențiat o variație considerabilă a valorilor caracterelor cantitative la plantele de orz în dependență de genotip, caracterul studiat, sursa de variație și anul cercetării. Infecția virală a diminuat valorile medii ale indicilor studiați în comparație cu varianta martor, la toate soiurile evaluate, dar cu diferit grad de manifestare. Radiația a contribuit la mărirea sau scăderea valorii medii în dependență de caracter, iar în asociere cu infecția virală a fost înregistrat un efect mai atenuat, decât cel produs la virus.

➤ În rezultatul analizei comparative a acțiunii factorilor evaluați pe parcursul generațiilor M_0 - M_2 a indicilor valorii medii s-au atestat aceleași tendințe de micșorare a valorii medii de către infecția virală, în cazul radiației gama solitare s-a înregistrat tendința de majorarea a valorilor caracterelor analizate, fiind stabilit un efect dependent de doză. Modificările produse de infecția virală în asociere cu razele gama s-au manifestat inter – și transgenerațional.

➤ Aplicarea testului ANOVA asupra varianței indicilor respectivi a demonstrat că, din cele trei surse de variație (*genotip*, *virus*, *radiație*) și interacțiunea acestora, o influență semnificativă au avut-o virusul, *genotipul*, *radiația* și interacțiunea lor, la nivel de 99,9%. Interacțiunea factorilor *genotip x virus*, *genotip x radiație*, *virus x radiație*, *genotip x virus x radiație* este semnificativă la nivel de 99 și 95% în dependență de caracterul analizat și generație.

➤ Acțiunea razelor gama, interacțiunile *genotip x virus*, *genotip x radiație*, *virus x radiație* și a celor trei factori au avut un impact mai mare în generația M_1 comparativ cu generația M_0 asupra caracterului TPL. Astfel pentru acest caracter, impactul factorilor menționați s-a majorat de la 3,83 ori (*virus x radiație*) până la 14,14 ori (*genotip x radiație*). De asemenea, s-a evidențiat majorarea influenței VMDO asupra NBSP, unde puterea de influență a crescut de 1,81

ori în M₁. Interacțiunea dintre *genotip* x *virus* a atins valoarea de 6,65%, deși în M₀ nu a influențat semnificativ.

➤ Impactul radiației gama este dependent de doza radiației și genotip. La doza de 250 Gy la s. Sonor, infectat cu VMDO a fost obținută forma cu mutația lemei (*cal*), caracter evidentiat în M₂ care s-a transmis stabil în generațiile ulterioare. Pentru această formă mutantă au fost stabilite variații ale valorilor medii pentru caracterelor ce determină productivitatea și arhitectura plantei.

➤ În rezultatul evaluării comparative s-au atestat valori mai mici ale caracterelor ce țin direct de productivitate la forma mutantă față de soiul inițial Sonor. Cu toate acestea, acest mutant morfologic prezintă interes științific și poate fi antrenat în cercetări ce țin de elucidarea mecanismelor de interacțiune și transmitere a genelor implicate în determinarea morfologiei lemei. Din punct de vedere practic, mutantul *cal* poate fi utilizat în programe de extindere a diversității la orz prin metoda hibridării.

➤ În rezultatul evaluării formei mutante cu spic ramificat s-a constatat că expresia caracterelor TPL, NSP (spic ramificat) și LSP, LUI, NSP (spic neramificat), precum și valorile înalte ale coeficientului de eritabilitate, valorile pozitive medii și înalte al coeficientului de corelație între indicii ce determină arhitectura plantei și elementele productivității demonstrează stabilitatea caracterelor la aceste forme și posibilitatea realizării procesului în baza acestor caractere în scopul ameliorării orzului de primăvară. Totodată, mutația *spic ramificat* prezintă interes științific în stabilirea mecanismelor implicate în genetica arhitecturii spicului și elementelor ce determină indirect productivitatea boabelor în condiții de temperaturi înalte.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

CONCLUZII GENERALE

1. Evaluarea diversității genetice prin metode ale geneticii cantitative, biomorfologice, citogenetice a permis demonstrarea efectului destabilizator al razelor gama și infecției virale asupra calusogenezei, morfogenezei și regenerării *in vitro*, ce a condus la suplinirea variabilității somaclonale la orz confirmate prin modificări morfologice, precum și devieri semnificative ale varianței genotipică și fenotipică, coeficientului de heritabilitate în sens larg, avantajului genetic al caracterelor cantitative pe parcursul mai multor generații.
2. Prin selectarea mediilor nutritive și optimizarea schemei de regenerare au fost stabilite condițiile de sporire a variabilității obținute prin morfogeneză indirectă din embrioni imaturi de orz în dependență de doza radiației gama, infecția virală, genotip, condiționate de modificări citogenetice ale proceselor proliferative (cap. 3, [8, 18]).
3. VMDO solitar a redus frecvența calusogenezei, morfogenezei, potențialul de regenerare și fertilitatea regeneranților. Puterea de influență asupra calusogenezei și morfogenezei a constituit 14,74% și respectiv 5,99%. Razele gama au modificat valorile indicilor analizați în ambele direcții și au influențat în dependență de genotip și doza iradierii. Contribuția procentuală a radiației gama asupra calusogenezei a atins valori de 7,57% și asupra morfogenezei 9,29%. Infecția virală în asociere cu razele gama au contribuit la reducerea efectului separat asupra frecvenței calusogenezei și intensificarea morfogenezei în dependență de genotip (cap. 3, [18]).
4. Complementarea radiației gama prin infecția virală a sporit puterea de influență asupra procesului de regenerare, atingând valori de 23,96% ($P \leq 0,001$), efect similar fiind înregistrat și asupra fertilității somaclonelor. Infecția virală și radiația gama solitar au redus numărul de somaclone cu spice fertile, la toate soiurile evaluate, dar cu diferite grade de manifestare (cap. 3, [18]).
5. Evaluarea a 570 de somaclone (SC_0) fertile obținute de la donori iradiați cu razele gamma (100, 150, 250 Gy) și infectați cu VMDO, analizați pe parcursul a trei generații (SC_1 - SC_3) a evidențiat majorarea coeficientului de variație, expresia unui spectru larg de schimbări morfologice în structura paiului, frunzelor și spicului în comparație cu varianta martor, precum și apariția plantelor cu caractere mutante, precum mutația morfologică *spic ramificat* (Unirea 100 Gy), caracter determinat de factori de mediu, prioritar de temperatură (cap. 4, [19, 256])

6. În rezultatul analizei varianței s-au stabilit variații semnificative ale parametrilor cantitativi la regeneranții (SC_0) și descendenții (SC_1 - SC_2) de orz în dependență de genotip, caracter, generație, precum și interacțiunea genotipului cu factorii studiați. Genotipul a avut contribuție majoră ($PI = 12,50 - 49,70\%$), asupra variației caracterelor analizate în toate generațiile, cu excepția caracterelor LSP, NSP, NBSP, NI (SC_2) pentru care influența razelor gama ($PI = 12,17 - 12,38\%$) și interacțiunea *genotip x raze gama* ($P = 15,97 - 19,25\%$) au avut o acțiune mai puternică (cap. 4, [20]).
7. Puterea de influență a razelor gama și infecției virale s-a intensificat la somaclonele (SC_2) pentru unele caractere și a atins valori de 3,52 (TPL) - 4,96% (NBSP) comparativ cu 2,30-3,12% (SC_1), iar interacțiunea dintre *virus x genotip* a atins valoarea de 10,90%. Aceasta indică despre efectul inter- și transgenerațional al infecției virale și razelor gama în dependență de caracter. Efect similar a fost stabilit și la descendenții a generațiilor M_0 - M_2 , demonstrând variabilitatea indusă *in vivo* (cap. 4, 5, [103]).
8. Acțiunea razelor gama și interacțiunea factorilor analizați au avut un impact mai mare în generația M_1 comparativ cu generația M_0 , astfel asupra caracterului TPL puterea de influență a crescut de 1,8 ori, precum și pentru NBSP de la 3,8 ori (*virus x radiație*) până la 14,1 ori (*genotip x radiație*). În generația M_2 radiația și virusul au condiționat expresia unei game largi de mutații. În cadrul populației s. Sonor, varianta VMDO + 250 Gy, a fost selectată forma de orz cu mutația lemei (*cal*) (cap. 5, [15, 19, 299]).
9. Evaluarea componentelor varianței genotipice a scos în evidență valori ale heritabilității moderate sau înalte asociate cu avantaj genetic ridicat ($AG > 20\%$) pentru caractere importante, precum cele ce determină direct productivitatea: NFF, NBSP, NBPL, GBSP, GBPL, MMB, date ce confirmă impactul culturii *in vitro*, radiațiilor gama și infecției virale în inducerea variabilității genetice și demonstrează eficiența selectării genotipurilor de interes (cap. 5).

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Schema de obținere a regeneranților de orz de primăvară pe calea morfogenezei indirecte din embrioni imaturi, ce include mediile nutritive, etapa ontogenetică pentru prelevarea probelor, condițiile ce asigură desfășurarea eficientă a calusogenezei, morfogenezei și regenerării pentru explante derivate de la plante infectate cu virus și semințe iradiate, poate fi utilizată pentru obținerea regeneranților fertili pentru orzul de primăvară, cunoscut printr-un spectru restrâns de variații.
2. Cultura de calus din embrioni imaturi a plantelor infectate cu virus și/sau semințe iradiate poate constitui o sursă importantă de modificare a variabilității caracterelor cantitative de interes agronomic, precum și de inducere a variațiilor morfologice la orz.
3. Spectrele polimorfe ale peroxidazelor pot fi utilizate în aprecierea potențialului morfogen al calusului de orz, evidențiat prin prezența benzilor cu mobilitate mare (0,842; 0,886).
4. Mutantul *cal*, descris în cadrul populației s. Sonor, varianta VMDO +250 Gy, prezintă importanță științifică și poate fi utilizat în cercetări genetice ce țin de elucidarea mecanismelor de interacțiune și transmitere a genelor implicate în determinarea formei lemei.
5. Formele mutante: forma cu mutația lemei *calcaroides* (*cal*, S-V-250 Gy) și linia mutantă cu *spic ramificat* (SC-U100 Gy) se recomandă în calitate de surse de germoplasmă în elucidarea mecanismelor implicate în dezvoltarea și morfologia spicului, precum și în scopul extinderii diversității genetice a genotipurilor de orz de primăvară. Linia mutantă *spic ramificat* se recomandă pentru includere în procesul ameliorativ fiind considerată de perspectivă.

BIBLIOGRAFIE

surse în limba română

1. ANDRONIC, L. *Bazele citogenetice ale variabilității genetice la plantele de cultură în condiții de patogeneză virală*. Chișinău: Tipografia . Print Caro. 2020, 236 p. ISBN: 978-9975-56-762-6
2. ANDRONIC, L. Evidence of meiotic recombination in virus infected tomato. In: *Buletinul AȘM*, 2010 b, nr. 2 (311), pp. 8-15. ISSN: 1857-064X
3. ANDRONIC, L., JACOTĂ, A. Evidența schimburilor între cromatidele surori la orz (*Hordeum vulgare* L.) în cazul infecției virale. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*. In: *Științele vieții*. 2009 a., nr.2 (308), p.57-63. ISSN:1857-064X
4. ANDRONIC, L., RUDACOVA, A., ROTARI, A. Polimorfismul proteinelor de rezervă în populațiile orzului de primăvară (*Hordeum vulgare* L.) obținute on condiții de infecție virală. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*. *Științele vieții*. 2011, nr.1 (313), pp.73-78. ISSN: 1857-064X.
5. ANDRONIC, L, JACOTA, A., **GRIGOROV, T.** et al. Studiul dividerilor mitotic în meristemele radiculare la orz în diverse condiții de infecții virale. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*. *Științele vieții*. 2009, nr. 3(309), pp. 74-81. ISSN: 1857-064X.
6. ANTOCI, L. Caracteristica soiurilor și hibrizilor omologați. Institutul de Cercetări pentru Culturile de Câmp ”Selecția”, AȘM, Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare, mun. Bălți. 2013, p.6., 30 p.
7. BADEA, E., SĂNDULESCU, D. *Biotehnologii vegetale*. București: Fundația Biotech, 2001. 295 p. ISBN: 973-9334-70-9.
8. **GRIGOROV, T.** Influența infecției virale și a radiației gama asupra calusogenezei la orzul de primăvară. In: *Conservarea diversității plantelor* Ediția 1, Simpozionul științific internațional consacrat aniversării a 60-a de la fondarea Grădinii Botanice (Institut) a Academiei de Științe a Moldovei, 7-9 octombrie 2010, Chișinău, 2010, pp. 69-74. ISBN: 978-9975-42-2.
9. **GRIGOROV, Tatiana.** Influența infecției virale și radiației gama asupra indicilor biomorfologici la orzul de primăvară. In: *Congresul al IX Național cu participare internațională al Geneticienilor și Amelioratorilor*, 21-22 octombrie 2010. Chișinău: „Editerra Prim” SRL, 2010, p.107. ISBN 978-9975-4126-1-2.
10. **GRIGOROV, Tatiana.** Influența infecției virale și a radiației gama asupra regenerării *in vitro* la orzul de primăvară. In: *International Conference of Young Researchers*. Ediția 8, 11-

- 12 noiembrie, 2010, Chișinău. Chișinău: Tipogr. Simbol-NP SRL, 2010, p. 22. ISBN 978-9975-9898-4-8.
11. **GRIGOROV, Tatiana.** Inducerea morfogenezei calusului la orzul de primăvară supus acțiunii infecției virale și radiației gama. In: *Genetica și fiziologia rezistenței plantelor*, Conferința științifică în memoria academicianului Anatolie Jacotă, 21 iunie 2011, Chișinău, Ch.: Tipografia Centrală, 2011, p. 137. ISBN 978-9975-78-994-3.
 12. **GRIGOROV, T.** Impactul solitar al virusului mozaicului dungat al orzului și în complex cu radiația gama asupra caracterelor biomorfologice la *Hordeum vulgare* L. în generațiile M₀-M₂. In: *Protecția plantelor – probleme și perspective*, Simpozionul științific internațional 30-31 octombrie 2012, Chișinău, pp. 457-460. ISBN: 978-9975-56-069-6
 13. **GRIGOROV, T.** Aspectul morfologic al somaclonelor (SC₀-SC₂) de orz de primăvara regenerate de la donatorii supuși acțiunii infecției virale și radiației gama. In: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective*, Simpozionul științific național cu participare internațională. Ediția III-a, 24-25 octombrie 2013, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: Tipografia Academiei de Științe a Moldovei, 2013, p. 19. ISBN: 978-9975-56-111-2.
 14. **GRIGOROV, Tatiana.** Efectul radiației gama și infecției virale asupra unor caractere de interes agronomic la somaclonele (SC₀) de orz de primăvară. In: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective*, Simpozionul științific național cu participare internațională, Ediția V-a, 21-22 octombrie 2019, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: Tipografia "Print-Caro", 2019, p.40. ISBN.978-9975-56-695-7
 15. **GRIGOROV, T.** Variabilitatea caracterelor biomorfologice la mutantul Calcaroides de orz de primăvară în generațiile M3-M7. In: *Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor*, Conferința științifică internațională (ediția a VII-a), 4-5 octombrie 2021, Chișinău. Chișinău: Tipogr. "PrintCaro", 2021, pp. 149-152. ISBN:978-9975-56-912-5.
 16. **GRIGOROV, Tatiana; ARTEMI, Cristina.** Evaluarea indicilor citogenetici la celulele calusale obținute din embrionii imaturi de orz de primăvară. In: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective*. Simpozionul științific național cu participare internațională. Ediția III-a, 24-25 octombrie 2013, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: Tipografia Academiei de Științe a Moldovei, 2013, p. 20.
 17. **GRIGOROV, T., SMEREA, S.** Particularitățile acțiunii radiației gama și infecției virale la etapele de obținere a somaclonelor de orz prin morfogeneză indirectă. In: *Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor*, Conferința științifică internațională, Ediția 5, 23-24 octombrie 2014, Chișinău. 2014, pp. 204-208. ISBN:978-9975-56-194-5.

18. **GRIGOROV, T SMEREA, S.** Obținerea regeneranților din embrioni imaturi prin morfogeneză indirectă la orzul de primăvară. In: *100 ani de la nașterea a distinsului savant și om de stat Mihail Sidorov*, Simpozionul științific internațional, 30-31 octombrie 2014, Chișinău. *Lucrări științifice. Agronomie*. Ch: CE UASM, 2014, vol. 41. pp. 302-305. ISBN: 978-9975-64-263
19. **GRIGOROV, T., SMEREA, S., ANDRONIC, L., et al.** Variabilitatea caracterelor cantitative la orz în generațiile M₀-M₃ la plantele supuse acțiunii infecției virale. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2013, nr. 3 (321), pp.83-89. ISSN 1857-064X.
20. **GRIGOROV, T., SMEREA, S., ANDRONIC, L.,** Variabilitatea caracterelor agromorfologice la somaclonele de orz (SC₀) indusă de radiația gama și infecția virală. In: *Realizări științifice în ameliorare și tehnologii inovative la culturile cerealiere în contextul schimbărilor climaterice*, Conferința științifico-practică cu participare internațională, 4-5 septembrie 2020, Pașcani. Chișinău: 2020, pp. 153-161. ISBN: 978-9975-56-177-8.
21. Pop, V. *Virusurile Plantelor și Combaterea lor*. ed. Ceris, București. 1986, p.25-27.
22. SMEREA, S., ANDRONIC, L. Studiul varianței genotipice și fenotipice a caracterelor de productivitate la descendenții dubluhaploizilor de orz de primăvară. In: *Știința în Nordul Republicii Moldova: realizări, probleme, perspective*, 21-22 iunie 2019, Bălți. Republic of Moldova: Tipogr. „Indigou Color”. Ediția 3, pp. 194 - 198. ISBN: 978-9975-3316-1-6.

Surse în limba engleză

23. AFZAL, A, SJOERD ,W., DUIKER, WATSON J. E. Leaf thickness to predict plant water status. Bio systems. In: *Engineering*. 2017. vol.156, pp.148-156. ISSN: 15375129.
24. AGUILAR, E., CUTRONA, C., DEL. Virulence determines beneficial trade-offs in the response of virus-infected plants to drought via induction of salicylic acid. In: *Plant Cell Environ*. 2017, vol.40, pp. 2909-2930. ISSN:1365-3040
25. AHLOOWALIA, B.S., MALUSZYNSKI, M., NICTERLEIN, K. Global impact of mutation-derived varieties. In: *Euphytica*. 2004, vol.135, pp. 187-204. ISSN: 573-5060
26. AGUILAR, E., CUTRONA, C., DELTORO, F. Virulence determines beneficial trade-offs in the response of virus-infected plants to drought via induction of salicylic acid. In: *Plant Cell Environ*. 2017, vol.40, pp. 2909–2930. ISSN: 0140-7791.

27. AKGUN, N. Genetic Variability and Correlation Studies in Yield and Yield Related Characters of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes. In: *Selcuk J. Agr Food Sci.* 2016, vol. 30(2), pp. 88-95. ISSN: 2458-8377.
28. ALLARD, R.W., et al. *Principles of Plant Breeding.* 1960, 1st Edn., John Wileyand Sons Inc., New York. 485p. ISBN: 10: 0471023108.
29. ALQUDAH, A., SHARMA, R., BÖRNER, A. Insight into the genetic contribution of maximum yield potential, spikelet development and abortion in barley. In: *Plants People Planet.* 2021, vol.3 (1), pp. 721-736. ISSN: 2572-2611.
30. ALQUDAH, A.M, YOUSSEF H.M, GRANER A., et al. Natural variation and genetic make-up of leaf blade area in spring barley. In: *Theor Appl Genet.* 2018, vol.131, pp. 873-886 ISSN: 1432-2242.
31. AL-TABBAL, J.A., AL-FRAIHAT, A.H., Genetic Variation, Heritability, Phenotypic and Genotypic Correlation Studies for Yield and Yield Components in Promising Barley Genotypes. In: *Journal of Agriculture Science.* 2012, vol. 4 (3), pp. 193-210. ISSN: 1916-9760.
32. ANDRONIC, L. Evidence of meiotic recombination in virus infected tomato. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii,* 2010, nr. 2 (311), pp. 8-15. ISSN: 1857-064X.
33. ANDRONIC, L. Viruses as triggers of DNA rearrangements in host plants. In: *Can. J. Plant Sci.* 2012, vol.92, pp.1083–1091. ISSN: 0008-4220.
34. ANDRONIC L., JACOTA, A., BUJOREANU, V., **GRIGOROV, T.** Genotoxicity of barley stripe mosaic virus in infected host plants. In: *Central European Journal of Biology.* 2010 a, vol. 5 (5), pp. 633-640. ISSN:1644-3632.
35. AOE, S., ICHINOSE, Y., KOHYAMA, N., et al. Effects of High β -glucan Barley on Visceral Fat Obesity in Japanese Individuals: A Randomized, Double-BlindStudy. In: *Nutrition.* 2017, vol. 42, pp.1–6. ISSN: 0899-9007.
36. ASHMAWY, H., AZZAM, C., FATEH, H. Variability, heritability and expected genetic advance in barley genotypes irradiated with gamma rays in M3, M4 and M5 generations. In: *Egypt. J. Plant breed.* 2016, vol.20 (3), pp. 653-669. ISSN: 2735-3885
37. ATANASSOV, A., TODAROUSKA, E., TRIFONOVA, A., et al. Investigation of the somaclonal and mutagen-in- duced variability in barley by application of protein and DNA markers. In: *International Atomic Energy Agency TECDOC 1010.* 1998, pp. 21-31. ISSN:1011–4289.

38. BALKAN, A. Genetic variability, heritability and genetic advance for yield and quality traits in m2-4 generations of bread wheat (*triticumaestivum* l.) genotypes. In: *Turk J. Field Crops*. 2018, vol. 23(2), p. 173-179. ISSN:1301-1111.
39. BAOJIAN, G., JIANG, Q., DONGFANG, L. Genetic analysis and gene mapping of a dwarf and liguleless mutation in barley. In: *The Crop Journal* 2022, vol. 10, pp. 1094–1102. ISSN: 2214-5141
40. BARANEK, M., ČECHOVA, J., KOVACS, T., et al. Use of combined MSAP and NGS techniques to identify differentially methylated regions in somaclones: a case study of two stable somatic wheat mutants. In: *PLoS ONE*. 2016, vol. 11(10), pp.1-21. ISSN:19326203
41. BARRO, F., MARTIN, A., LAZZERI, P. A., et al. Medium optimization for efficient somatic embryogenesis and plant regeneration from immature inflorescences and immature scutella of elite cultivars of wheat, barley and tritordeum. In: *Euphytica*. 1999, vol.108, pp. 161-167. ISSN:1573-5060
42. BASTOS, C., AZZINI, L., GALLO, P. et al. Improvement of rice through somaculture and induced mutations in São Paulo State. Induced mutations in connection with biotechnology for crop improvement in Latin America. In: *International Atomic Energy Agency IAEA-TECDOC-1216*, 1998, pp. 25-36. ISSN:1011-4289.
43. BEDNAREK P., ORŁOWSKA R., KOEBNER R. et al. Quantification of the tissue-culture induced variation in barley (*Hordeum vulgare* L.). In: *BMC Plant Biol.*, 2007, vol. 7(10) pp.1-9. ISSN: 1471-2229.
44. BEDNAREK, P., ORŁOWSKA, R. Plant tissue culture environment as a switch key of (epi)genetic changes. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* . 2020, vol.140, pp. 245-257. ISSN: 1573-5044.
45. BHOJWANI, S., DANTU, P., Somaclonal Variation, ch. 12. , pp. 141-154. In: *Plant Tissue Culture: An Introductory Text*, Springer India. 2013, 309 p., pp.142. ISSN: 2321-3086.
46. BLEIDERE, M., ILZE, I. Hordein diversity in spring barley genotypes related to crude protein content. In: *LLU Raksti*. 2009, vol. 22 (317), pp. 89-99. ISSN: 0908-6692
47. BOUZIANE, H., BERKANI S., MERDAS, S., et al. Genetic diversity of traditional genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.) in Algeria by pheno-morphological and agronomic traits. In: *Afr. J. Agric. Res.* 2015, vol. 10 (31), pp. 3041-3048. ISSN:1991-637X.
48. BOYKO, A., KOVALCHUK, I. Genetic and epigenetic effects of plant–pathogen interactions: An evolutionary perspective. In: *Molecular Plant*, 2011, pp.1-10. ISSN: 1674-2052.

49. BOYKO, A., KATHIRIA, P., ZEMP, F.J., et al. Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen-infected plants: (virus-induced plant genome instability). In: *Nucleic Acids Res.* 2007, vol.35 (5), pp.1714-725. ISSN: 0305-1048.
50. BRAKKE, M. Mutations, the aberrant ratio phenomenon, and virus infection of maize. In: *Ann. Rev. Phytopathol.* 1984, vol. 22, pp.77- 94. ISSN:1545-2107.
51. BRAR, D., JAIN M. In: *Somaclonal Variation: Mechanism and Applications in Crop Improvement* . 1998. Ch. 2, p.15-37. In: JAIN, M., D.S. BRAR. D., AHLOOWALIA B. (eds). *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement*. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Plant Breeding and Genetics Section. Vienna, Austria . 1998, p. 603. ISBN: 0-7923-4162-1.
52. BREGITZER, P. Plant regeneration and callus type in barley: Effect of genotype and culture media. In: *Crop Sci.* 1992, vol.32, pp.1108- 1112. ISSN: 1435-065.
53. BREGITZER, P., RABOY, V., OBERT, D., et al. Registration of *Clearwater* Low-Phytate Hulless Spring Barley. In: *Journal of Plant Registrations.* 2008, vol. 2, no. 1, 4 p. ISSN: 1940-3496.
54. BREIMAN, A., D. ROTEM-ABARBANELL., KARP, A. et al. Heritable somaclonal variation in wild barley, *Hordeum spontaneum*. In: *Theor Appl Genet.* vol. 71: pp. 637-643. ISSN:1432-2242
55. BULL, H., CASAO, M.C, ZWIREK, M. et al. Barley SIX ROWED SPIKE3 encodes a putative Jumonji C-type H3K9me2/me3demethylase that represses lateral spikelet fertility. In: *Nature Communications.* 2017, vol.8, pp.1–9. ISSN: 2041-1723.
56. CASTILLO, A.M., EGAÑA, B., SANZ, J.M. Somatic embryogenesis and plant regeneration from barley cultivars grown in Spain. In: *Plant Cell Rep.* 1998, vol. 17, pp. 902-906. ISSN: 0721-7714.
57. CHANDLER, P., MARION-POLL, A, ELLIS M, et al. Mutants at the Slender1 locus of barley cv Himalaya. Molecular and physiological characterization. In: *Plant Physiol.* 2002, vol.129 (1), pp.181-90. ISSN: 0032-0889.
58. CHAUHAN, M., KOTHARI, S.L. Optimization of nutrient levels in the medium increases the efficiency of callus induction and plant regeneration in recalcitrant indian barley (*hordeum vulgare* L.) *in vitro*. In: *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant.* 2004, vol.40 (5), pp. 520-527. ISSN: 1054-5476.
59. CHENG, J., HILL, C., SHABALA, S., et al. Manipulating GA-Related Genes for Cereal Crop Improvement. In: *Int. J. Mol. Sci.* 2022, vol.23, pp.1-18. ISSN:1422-0067.

60. CHIRIAC, Gh., ANDRONIC, L., BUJOREANU, V., et.al. Features of crossing-over in virus-infected tomato. In: *Cent. Eur. J. Biol.* 2006, vol.1, pp. 386-398. ISSN: 1644-3632.
61. CHISHOLM, S.T., COAKER, G., DAY, B., et al. Host – microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. In: *Cell.* 2006, vol. 124 (4) pp.803–814. ISSN: 1097-4172.
62. CHMIELEWSKA, B., JANIĄK, A., KARCIŃSKI, J., Morphological, genetic and molecular characteristics of barley root hair mutants. In: *J Appl Genet.* 2014, vol. 55 (4), pp.433-47. ISSN: 1234-1983.
63. CHONO, M., HONDA, I., ZENIYA, H., et al. A semidwarf phenotype of barley uzu results from a nucleotide substitution in the gene encoding a putative brassinosteroid receptor. In: *Plant Physiol.* 2003, vol.133, pp.1209-1219. ISSN:1532-2548
64. CIVÁN, P., BROWN, T., A novel mutation conferring the non brittle phenotype of cultivated barley. In: *New Phytol.* 2017, vol. 214 (1), pp. 468–472. ISSN:1469-8137.
65. CLEWER, A., SCARISBRICK, D. *Practical statistics and experimental design for plant and crop science.* John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK. 2001. 332 p. ISBN: 0-471-89908-9
66. COVARRUBIAS-PAZARAN, G., Heritability: meaning and computation. In: *CGIAR Excellence in Breeding Platform (EiB). CIMMYT.* 2019, p. 1-19. Excellence in Breeding.org. ISSN:1916-9760.
67. DABBERT, T., OKAGAKI, R J, CHO, S., et al. The genetics of barley low-tillering mutants: Low number of tillers-1 (lnt1). In: *Theoretical and Applied Genetics*, 2010., vol. 121, pp. 705-715. ISSN: 1432-2242.
68. DAGNAW, T., MULUGETA, B., HAILESELASSIE, T. et al. Phenotypic Variability, Heritability and Associations of Agronomic and Quality Traits in Cultivated Ethiopian Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *Durum*, Desf.). In: *Agronomy.* 2022, vol. 12 (7), pp.1-15. ISSN:2073-4395.
69. DAHLEEN, L.S. Improved plant regeneration from barley callus cultures by increased copper levels. In: *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1995, vol. 43, p. 267–269. ISSN: 1573-5044
70. DAHLEEN, L., BREGITZER, P. An Improved media System for High Regeneration Rates from Barley Immature embryo- derived Callus Cultures of Comercial Cultivars. In: *Crop Science.* 2002, vol. 42, p. 934-938. ISSN:1435-0653.
71. DANG, V., HILL, C., ZHANG, X. et al. Genetic dissection of the interactions between semi-dwarfing genes *sdw1* and *ari-e* and their effects on agronomic traits in a barley MAGIC population. In: *Mol Breeding.* 2020, vol. 40, pp.1-14. ISSN: 1572-9788.

72. DASTOGEER, K. , LI, H., SIVASITHAMPARAM, K., et al. Fungal endophytes and a virus confer drought tolerance to *Nicotiana benthamiana* plants through modulating osmolytes, antioxidant enzymes and expression of host drought responsive genes. In: *Environ. Exp. Bot.* 2018, vol.149, pp. 95-108. ISSN: 1873-7307.
73. DE SOUZA MORAES, T., VAN, ES, SW., HERNÁNDEZ-PINZÓN, I. The TCP transcription factor HvTB2 heterodimerizes with VRS5 and controls spike architecture in barley. In: *Plant Reprod.* 2022, vol. 35 (3), pp. 205-220. ISSN: 2194-7961. doi: 10.1007/s00497-022-00441-8
74. DELLAPORTA, S., CHOMET, R., MOTTINGER, J., et al. Endogenous transposable elements associated with virus infection in maize. In: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1984, vol. 49, pp. 321-328. ISSN:1943-4456.
75. DESOUKY, O., DING, N., ZHOU, G. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. In: *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 2015, vol.8 (2), pp. 247-254 ISSN: 1687-8507
76. DOCKTER, C., GRUSZKA, D., BRAUMANN, I., et al. Induced variations in brassinosteroid genes define barley height and sturdiness, and expand the green revolution genetic tool kit. In: *Plant Physiol.* 2014, vol.166(4), pp.1912-27. ISSN: 0032-0889.
77. DODDS, P., LAWRENCE G., CATANZARITI, A. et al. Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. In: *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* 2006, vol. 103, pp. 8888-8893. ISSN:0027-8424
78. DOLL, H., ANDERSEN, B. Preparation of barley storage protein, hordein, for analytical sodium dodecyl sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis. In: *Analytical Biochemistry.* 1981, vol. 115, pp. 61-66. ISSN: 096-0309
79. DRAGOV, R., UHR, Z., DIMITROV, E. Genetic variability, heritability and genetic advance for important quantitative traits related to the productivity and quality in F2 generation of durum wheat: part II. In: *bulg. J. Agric. Sci.*, 2022, vol. 28 (4), pp.699-708. ISSN: 1310-0351.
80. DRUKA, A., FRANCKOWIAK, J.,UDDA, L. et al.Genetic dissection of barley morphology and development. In: *PlantPhysiol.* 2011, vol.155 (2), pp. 617–627. ISSN: 0176-1617.
81. DU, B., WANG, Q., SUN, G. et al. (2019b). Mapping dynamic QTL dissects the genetic architecture of grain size and grain filling rate at different grain-filling stages in barley. In: *Sci. Rep.* 9(1), pp.1-16. ISSN: 2045-2322 .
82. DYULGEROVA, B., VALCHEVA, D. Heritability, Variance Components and Genetic Advance of Yield and Some Yield Related Traits in Barley Doubled Haploid Lines. In:

- Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*.2014, vol.1, pp.614-617. ISSN: 2148-3647.
83. DYULGEROV, N., DYULGEROVA, B. Variability, heritability, and correlations among grain yield and related traits in hulless barley accessions. In: *Trakia Journal of Sciences*, 2020, vol. 18 (4), pp. 285-293. ISSN:1313-3551.
 84. DYULGEROVA, B., VALCHEVA, D. Yield and Yield-related Traits of Advanced Lines of Winter Barley. In: *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 2021, vol. 5(4), pp. 344-351. ISSN: 2602-4772.
 85. EL-GHAMERY A., EL-NAHAS A., MANSOUR M. The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *A. cepa* and *V.faba*. In: *Cytologia*. 2000, vol. 65, pp. 277-287. ISSN: 0011-4545.
 86. FALCONER, D.S. Introduction to quantitative genetics. 3th Ed. In: *Logman Scientific and Technical, Logman House, Burnt Mill, Harlow, Essex, England*. 1989, 438p. ISBN:0470211628.
 87. FALCONER, D.S., MACKAY, T.F. Introduction to quantitative genetics. In: *4th Ed*. 1996, *Benjamin Cummings, England*. 464 p. ISBN-10: 0582243025.
 88. FERREIRA, M., ROCHA, A., NASCIMENTO, F., et al. The Role of Somaclonal Variation, In: *Plant Genetic Improvement: A Systematic Review. Agronomy*. 2023, vol.13 (3), pp.1-30.
 89. FORSTER, B. P., SHU, Q.Y. In: *Plant Mutagenesis in Crop Improvement: Basic Terms and Applications*. Ch.1, p 9-20. In: Shu Q.Y., Forster B.P., Nakagawa H. (eds.), *Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Plant Breeding and Genetics Section*. In: *Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture*. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 2011, 595 p. ISBN: 9781780640853.
 90. FRANCKOWIAK, J.D., LUNDQVIST, U. Descriptions of barley genetic stocks. In: *BarleyGenetics Newsletter*. 2018, vol. 48, pp.1-189. ISSN: 1043-5174.
 91. FRANCKOWIAK, J. D., FOSTER, A. E., PEDERSONR. E. et al. Registration of 'Bowman' barley. In: *Crop Sci*.1985, vol. 5 (25),pp 883. ISSN: 1435-0653.
 92. FUSIA, R., ROSIGNOLIC,S., LOUA, H., ET. AL. Root angle is controlled by EGT1 in cereal crops employing an antigravitropic mechanism. In: *PNAS, Plant biology* . 2022, vol. 119 (31), pp.1-10. ISSN: 1091-6490.
 93. GAMBORG, O., MILLER, R., OZIMA, K., Plant cell culture. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. In: *Expt. Cell Res*. 1968, vol. 50, p.151-158. ISSN: 0014-4827.

94. GAULEY, A., BODEN, S. Genetic pathways controlling inflorescence architecture and development in wheat and barley. In: *Journal of Integrative Plant Biology*. 2019, vol.16 (3), pp. 296-309. ISSN: 1744-7909.
95. GEBRU, A., MEKBIB, F., LAKEW, B., Estimation of Genetic Variability of Malt Barley (*Hordeum vulgare* L.) Varieties for Yield, Yield Related Trait, North Eastern Ethiopia. In: *Int. J. Plant Biol.Res.* 2018, vol.6 (6), pp.1-6. ISSN: 2333-6668.
96. GERASIMOVA, S. , CHRISTIAN, H., KOROTKOVA, A. Conversion of hulled into naked barley by Cas endonuclease-mediated knockout of the NUD gene. In: *BMC PlantBiologyII*. 2020, vol. 20 (Suppl 1), p.1-12. ISSN: 1471-2229.
97. GHIMIRE, N. H., MAHAT, P. M., Variability, Heritability and Genetic Advance of Advanced Breeding Lines of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Under Mountain Environment of Nepal. In: *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 2019, vol. 6 (11), pp. 34-42. ISSN: 2348-8069.
98. GIEHL, R. F., VON WIRÉN, N. Root nutrient foraging. In: *Plant Physiol.* 2014, vol. 166, pp.509–517. ISSN: 1532-2548.
99. GRAFI, G. FLORENTIN, A., RANSBOTYN V., et al. The stem cell state in plant development and in response to stress// In: *Front. Plant Sci.*, 2011, vol.2, pp.1-10. ISSN: 1664-462X.
- 100.GRAUDA, D., LEGZDIŃA, L., RASHAL, I. Use of somaclonal variation for obtaining of barley breeding source material. In: *Agriculture*. 2007, vol. 94, No. 4, , pp. 105-110. ISSN:1392-3196.
- 101.**GRIGOROV, Tatiana**. Effect of gamma radiation on morphological traits of barley plants. Third International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research. Slovenska Plaza Budava. Montenegro. June 8-12. 2015, p. 420. ISBN 978-86-80300-00-9.
- 102.**GRIGOROV, Tatiana**. Effect of viral infection and gamma ray on regeneration capacity of barley embryo-derived callus. In: *Congresul Geneticienilor și Amelioratorilor*. 28 iunie - 1 iulie, 2015, Chișinău. Chisinau, Republic of Moldova: 2015, pp. 281-282. ISBN 978-9975-4126-1-2.
- 103.**GRIGOROV, T.**, ANDRONIC, L., SMEREA, S., TEMNICOV, E. Intergenerational analysis of virus and gamma rays effect on agronomic traits in barley regenerants. In: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective*, Simpozionul științific internațional, Editia a VI-a, 3-4 octombrie 2022, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: Centrul Editorial-Poligrafic al USM, 2022, pp. 53-55. ISBN: 978-9975-159-81-4.

104. **GRIGOROV, Tatiana;** ANDRONIC, Larisa. Mitotic instability in barley callus cells from gamma irradiated, virus infected and untreated immature embryos. In: *International 42nd Anniversary Symposium of the Institute of Cellular Biology and Pathology "Nicolae Simionescu" and 38th Annual Scientific Session of the Romanian Society for Cell Biology*. November 4-6, Timisoara, 2021, p. 20.
105. GRUSZKA, D., POCHIECHA, E., JURCZYK, B., et al. Insights into Metabolic Reactions of Semi-Dwarf, Barley Brassinosteroid Mutants to Drought. In: *Int J Mol Sci*. 2020, vol.21(14), pp.1-30. ISSN: 1422-0067.
106. HAANING, A., SMITH, K., BROWN-GUEDIRA, G. et al. Natural Genetic Variation Underlying Tiller Development in Barley (*Hordeum vulgare* L). In: G3 (Bethesda). 2020, vol.10 (4), pp.1197-1212. ISSN: 2160-1836.
107. HALIU, A, ALAMEREW, S, NIGUSSIE, M. et al. In: *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2016, vol. 24 (2), pp. 450-458, ISSN:1990-9233.
108. HAN, Z., CRISP, PA., STELPFLUG, S. Heritable epigenomic changes to the maize methylome resulting from tissue culture. In: *Genetics*. 2018, vol. 209, pp. 983–995. ISSN: 1943-2631.
109. HARSÁNYI, A., RYBERG, M., ANDERSSON, M. et al. Alterations of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase quantity and lipid composition in etiolated barley seedlings infected by Barley stripe mosaic virus (BSMV). In: *Molecular Plant Pathology*. 2006, vol.7 (6), pp. 533-541. ISSN: 1364-3703.
110. HARWOOD, W.A. An Introduction to Barley: The Crop and the Model. In: *Methods Mol Biol*. 2019, 1900, pp.1-5. ISSN: 1940-6029.
111. HE, T., ANGESSA, T., LI, C. Pleiotropy Structures Plant Height and Seed Weight Scaling in Barley despite Long History of Domestication and Breeding Selection. In: *Plant Phenomics*. 2023, vol 5, pp. ISSN: 2643-6515.
112. HEDDEN, P. The genes of the Green Revolution. In: *Trends Genet*, 2003, vol.19, pp. 5–9
113. HOLZBERG, S., BROSIO, P., GROSS, C., et al. Barley stripe mosaic virus-induced gene silencing in a monocot plant. In: *Plant J*. 2002, vol. 30, pp. 315-327. ISSN:1365-313X.
114. HOUSTON, K., MCKIM, S., COMADRAN, J. Variation in the interaction between alleles of HvAPETALA2 and microRNA172 determines the density of grains on the barley inflorescence. In: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013, vol. 110 (41), pp.16675-80. ISSN: 16675-6680.
115. <http://mvd.iaea.org/>, (vizitat 5.06.2023).
116. <http://www-naweb.iaea.org/nafa/news/pbg-barley-peru.html/>,(vizitat: 15.06.2018).

117. https://statistica.gov.md/ro/activitatea-agricola-in-ianuarie-iunie-2022-9515_59614.html
118. https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compndium_-_BARLEY.pdf (vizitat: 2023).
119. <https://bgs.nordgen.org> (vizitat: 2023).
120. [https://www.nordgen.org/bgs/BGS 62, 621/ BGS 473](https://www.nordgen.org/bgs/BGS_62_621/BGS_473) (vizitat: 25/08/2021).
121. <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg019.pdf> (vizitat: 14.07.2018)
122. <https://www.statista.com/statistics/271973/world-barley-production-since-2008>(vizitat 2023)
123. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. (vizitat: 2023)
124. HUANG, B., HUANG, D., HONG, Z. Genetic analysis reveals four interacting loci underlying awn trait diversity in barley (*Hordeum vulgare*). In: *Sci Rep.* 2020, vol.10 (1), pp.1-8. ISSN: 2045-2322.
125. HUANG, B., WU, W., HONG, Z. Genetic Interactions of Awnness Genes in Barley. In: *Genes.* 2021, vol.12, 606. ISSN: 2073-4425.
126. HUSSIEN, A., TAVAKOL, E., HORNER, D. S., Genetics of tillering in rice and barley. In: *The Plant Genome.* 2014. vol.7, pp.10–32. ISSN: 1940-3372.
127. IONESCU, N., GEORGESCU, M., PENESCU, A. *Variation of current morphological characters in winter barley, Hordeum vulgare L.* Scientific Papers. Series A. In: *Agronomy,* 2018, vol. 1(1), pp. 255-262. ISSN: 2073-4395.
128. JACKSON, A., LIM, H., BRAGG, J. et al. Hordeivirus Replication, Movement, and Pathogenesis. In: *Annual Review of Phytopathology.* 2009, vol. 47, p. 385-422. ISSN:0066-4286.
129. JACOTT, C., BODEN, S. Feeling the heat: developmental and molecular responses of wheat and barley to high ambient temperatures. In: *Journal of Experimental Botany.* 2020, vol.71(19), pp. 5740-5751. ISSN: 1460-2431.
130. JAIN, M., BRAR, D., VEILEUXE, R. In: *Somaclonal Variation in Crop Improvement.* Ch. 11, p. 203-219. In: JAIN, M., BRAR, D., AHLOOWALIA, B. (eds). *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement.* Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Plant Breeding and Genetics Section. Vienna, Austria. 1998, p. 603. ISBN: 0-7923-4162-1.
131. JANKOWICZ-CIESLAK, J. et al. Mutagenesis for Crop Breeding and Functional Genomics. Ch. 1, pp. 3-18, p.4. In: Jankowicz-Cieslak, Tai., T., H., Kumlehn, J., Till, B., J., (ed.), In: *Biotechnologies for Plant Mutation Breeding.* International Atomic Energy Agency. 2017, 340 p. ISBN: 978-3-319-45021-6.

132. JIA, Q., ZHANG, J., WESTCOTT, S. et al. GA-20 oxidase as a candidate for the semidwarf gene *sdw1/denso* in barley. In: *Funct Integr Genomic*. 2009, vol.9 (2), pp. 255-62. ISSN: 1438-7948.
133. JIA, Q., ZHANG, J., WESTCOTT, S. et al. Expression level of a gibberellin 20-oxidase gene is associated with multiple agronomic and quality traits in barley. In: *Theor Appl Genet*. 2011, vol.122 (8), pp. 1451-60. ISSN: 1432-2242.
134. JIA, Z., LIU, Y., GRUBER, B. Genetic Dissection of Root System Architectural Traits in Spring Barley. In: *Front. Plant Sci*. 2019, vol. 10 (400), pp. 1-14. ISSN: 1664-462X.
135. FENG, F., HAN, Y., WANG, S., et al. The Effect of Grain Position on Genetic Improvement of Grain Number and Thousand Grain Weight in Winter Wheat in North China. In: *Front. Plant Sci*. 2018, vol. 9, p.1-9. ISSN:1664-462X.
136. KACHHWAHA, S., VARSHNEY, A., KOTHARI, S. Somatic embryo genesis and long-term high plant regeneration from barley of (*Hordeum vulgare* L.) using picloram. In: *Cereal Res. Comm*. 1997, vol. 25, pp. 117-126 ISSN:1788-9170.
137. KAEPLER, S.,M., PHILLIPS, R.,L. DNA methylation and tissue culture induced variation in plants. In: *In Vitro Cell Dev Biol*. 1993, vol. 29: pp. 125-130. ISSN: 1054-5476
138. KATHIRIA, P., SIDLER C., GOLUBOV, A. Tobacco mosaic virus infection results in an increase in recombination frequency and resistance to viral, bacterial, and fungal pathogens in the progeny of infected tobacco plants. In: *Plant Physiol*. 2010, vol.153, pp. 1859-1870. ISSN: 0176-1617.
139. KENZHEBAYEVA, S., DOKTYRBAY., G., SARSU, F. *Mutant Resources of Spring Wheat to Improve Grain Quality and Morphology*. Ch. 9. In: Fahad S., Basir A, Adnan M. (eds). *Global Wheat Production*. 2018, 250 p.
140. KHARKWAL, M. C., SHU Q.Y. The Role of Induced Mutations in World Food Security, p. 33-38. In: Shu Q.Y. (ed.) *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2009, 441 p., p.35. ISBN:978-92-5-106324-8.
141. KHOBRA, R., SAREEN, S., MEENA, B. K. et al. Exploring the traits for lodging tolerance in wheat genotypes: a review. In: *Physiol. Mol. Biol. Pla*. 2019. vol. 25, pp. 589-600. ISSN: 0974-0430.
142. KIM, T., TAYLOR, F., HICKS, K. Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) pretreatment. In: *Bioresour Technol*. 2008 *Global Wheat Production*. 2018, vol. 99(13), pp. 5694-702. ISSN: 0960-8524.

143. KIRSCHNER, G., ROSIGNOLI, S., GUO, L., et al. *ENHANCED GRAVITROPISM 2* encodes a STERILE ALPHA MOTIF-containing protein that controls root growth angle in barley and wheat. In: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021, vol.118 (35), pp. 1-10. ISSN: 1091-6490.
144. KOPPOLU, R., ANWAR, N., SAKUMA, S. et al. Six-rowed spike4(Vrs4) controls spikelet determinacy and row-type in barley. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 2013, vol.110 (32), pp.13198 -13203. ISSN: 0027-8424.
145. KOSOVÁ, K., CHRPOVÁ, J., ŠÍP, V. Recent Advances in Breeding of Cereals for Resistance to Barley Yellow Dwarf Virus – a Review. In: *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2008, vol. 44, no.1, pp. 1-10. ISSN: 1805-9325.
146. KOSTOFF, D. Meiotic study in virus infected tobacco plants. In: *Genetica*. 1933, vol.15, pp.103–114. ISSN: 0016-6707.
147. KOVALCHUK, I., KOVALCHUK, O., KALCK V., et al. *Pathogen-induced systemic plant signal triggers DNA rearrangements*. In: *Nature (Lond.)*. 2003, vol. 423, pp. 460-462. ISSN: 1476-4687.
148. KOZGAR, M.I. Induced Mutagenesis. Ch.2, p.7-12. In: *Mutation Breeding in Chickpea: Perspectives and Prospects for Food Security*. 2014, 148 p. ISBN: 9788376560717.
149. KUCZYŃSKA, A. et al. Effects of the semi-dwarfing sdw1/denso gene in barley. In: *J Appl. Genetics*. 2013, vol. 54, pp. 381-390. p.383. ISSN: 2190-3883
150. KUCZYŃSKA, A., MIKOŁAJCZAK, K., CŹWIEK, H. et al. Pleiotropic effects of the sdw1 locus in barley populations representing different rounds of recombination. In: *Electron. J. Biotechn.* 2014, vol. 17, pp. 217 - 223. ISSN: 0717-3458.
151. KUROWSKA, M. et.al. Molecular analysis of point mutations in a barley genome exposed to MNU and gamma rays. In: *Mutation Research*. 2012, vol.738-739, pp. 52–70. ISSN: 0165-1218.
152. KWASNIEWSKA, J.J., BRODZIAK, L., MALUSZYŃSKA, J. FISH in analysis of gamma ray-induced micronuclei formation in barley. In: *J. Appl. Genetics*. 2011, vol.52 (1), pp.23-29. ISSN: 1234-1983.
153. LALITHA, R., MOTHILAL, A., ARUNACHALAM, P., et al. Genetic variability, correlation and path analysis of grain yield, grain quality and its associated traits in EMS derived M4 generation mutants of rice (*Oryza sativa* L.). In: *Electronic Journal Plant Breeding*. 2019, vol., 10 (3), pp. 1140-1147. ISSN: 0975-928X.

154. LARKIN, P., SCOWCROFT, W. Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. In: *Theor. Appl. Genet.* 1981, vol. 60, pp. 197-214. ISSN:1432-2242
155. LEE, K, SEO, P. Dynamic epigenetic changes during plant regeneration. In: *Trend. Plant. Sci.* 2018, vol.23, pp. 235-247. ISSN:1878-4372.
156. LI, G., KUIJER, H., YANG, X., et al. MADS1 maintains barley spike morphology at high ambient temperatures. In: *Nature Plants*, 2021, vol. 7, pp. 1093-1107. ISSN: 2055-0278.
157. LI, J., CHOO, T., HO, K., et al. Barley somaclones associated with high yield or resistance to powdery mildew. In: *Euphytica* . 2001, vol.121, pp 349-356. ISSN: 0014-2336.
158. LILLER, C., NEUHAUS, R., VON KORFF, M., et al. Mutations in barley row type genes have pleiotropic effects on shoot branching. In: *PLoS ONE* .2015, vol. 10, pp. 1-20. ISSN:1932-6203.
159. LINACERO, R., RUEDA, J., ESQUIVEL, E et.al. Genetic and epigenetic relationship in rye, *Secale cereale* L., somaclonal variation within somatic embryo-derived plants. In: *In Vitro Cell Dev Biol.-Plant.* 2011, vol. 47: pp. 618–628. ISSN: 1475-2689.
160. LIU, H., SHI Z., MA F., et al. Identification and validation of plant height, spike length and spike compactness loci in common wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *BMC Plant Biology.* 2022, vol. 22 (568), pp. 1-17. ISSN: 1471-2229.
161. LIU, C., ZHOU, X., CHEN, D., et al. Natural variation of leaf thickness and its association to yield traits in indica rice. In: *J. Integr Agric.* 2014, 13 (2), pp. 316-325. ISSN: 2095-3119.
162. LU, Q., DOCKTER, C., SIRIJOVSKI, N., et al. Analysis of barley mutants ert-c.1 and ert-d.7 reveals two loci with additive effect on plant architecture. In: *Planta.* 2021, vol. 254 (9), p 1-15. ISSN: 1432-2048.
163. LUCHT, J., MAUCH-MANI, B., STEINER, H., et al. Pathogen stress increase somatic recombination frequency in Arabidopsis. In: *Nat. Genet.* 2002, vol. 30, pp.311–314. ISSN: 1546-1718.
164. LUNDQVIST, A. Induced intermedium mutants in barley: origin, morphology and inheritance. In: *Hereditas.* 1988, vol.108(1), pp. 13–26. ISSN:1601-5223.
165. LUNDQVIST, U. Coordinator's report: Ear morphology genes. In: *Barley Genet. Newsl.* 1993. vol. 22, pp. 137-139. ISSN: 1043-5174.
166. LUNDQVIST, U. The Swedish collection of barley mutants held at the Nordic Genebank. In: *Barley Genet. Newslett.* 2005, vol. 35, pp.150–154. ISSN: 1435-232X.
167. LUNDQVIST, U. Mutation research in barley. PhD thesis. Department of Plant Breeding Research. The Swedish University of Agricultural Sciences. Svalof. 1992, 115 p., p.20.

168. LUNDQVIST, U. Scandinavian mutation research in barley – a historical review. In: *Hereditas*. 2014, vol. 151, pp.123–131, ISSN: 1601-5223.
169. MACHCZYŃSKA, J., ZIMNY, J., BEDNAREK, P. Tissue culture-induced genetic and epigenetic variation in triticale (\times *Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927) regenerants. In: *Plant Mol Biol*. 2015, vol. 89: pp. 279–292. ISSN: 1573-5028.
170. MADIĆ, M., KNEŽEVIĆ, D., ĐUROVIĆ, D. et al. Assessment of the correlation between grain yield and its components in spring barley on an acidic soil. In: *Acta Agriculturae Serbica*. 2019, vol. 24, (47), pp. 41-49. ISSN: 2560-3140.
171. MALUSZYŃSKA J., JUCHIMIUK J. Plant genotoxicity: a molecular cytogenetic approach in plant bioassays. In: *Arh. Hig. Rada Toksikol.*, 2005, vol. 56, pp.177-184. ISSN: 1848-6312
172. MALUSZYŃSKI, M., SZAREJKO, I. Induced mutations in the Green and Gene Revolutions. In: Tuberosa R., Phillips R.L., Gale M. (eds.), Proceedings of the International Congress “In the Wake of the Double Helix: From the Green Revolution to the Gene Revolution”, Bologna, Italy. 27-31 May, 2005, pp. 403-425. ISSN: 1095-8290.
173. MARIJ, L., CHIRIAC, GH. The role of viral infection in inducing variability in virus-free progeny in tomato. In: *J. Int. Plant Biol*. 2009, vol. 51. pp. 476-488. ISSN: 1672-9072.
174. MASCHER, M., JOST, M., KUON, J.,. Mapping-by-sequencing accelerates forward genetics in barley. In: *Genome Biology*. 2014. vol.15, pp. 1–15. ISSN:1474-760X.
175. MATIN, M.Q.I., AMIRUZZAMAN, M., BILLAH, M., et al. Genetic Variability and Path Analysis Studies in Barley (*Hordeum vulgare* L.). In: *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, 2019, vol 7(2), pp.243-247. ISSN: 2091-2609.
176. MAYER, K.F., WAUGH, R, BROWN, J.W. et. al. International Barley Sequencing Consortium (IBSC). A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. In: *Nature*.2012, 491(7426), pp.711–6. ISSN: 1476-4687.
177. MBA, C., SHU. Q., Gamma Irradiation. Ch 8. pp. 91-98. In: Shu, Q.Y., Forster, B.,P., Nakagawa, H. (eds.), *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Plant Breeding and Genetics Section. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 2011, 595 p. ISBN: 978-92-5-105000-0.
178. MBA, CH. In: *Induced Mutations Unleash the Potentials of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture Agronomy*. In: *Agronomy*. 2013, vol. 3 (1), pp. 200-231, p.207. ISSN: 2073-4395.

179. MCGARRY, R., KLOCKO, A., PANG, M., et al. Virus-induced flowering: an application of reproductive biology to benefit plant research and breeding. In: *Plant Physiol.*, 2017, vol. 173, pp. 47-55. ISSN: 0176-1617.
180. MEKSEM, K., KAHL, G. Applications in Plant Breeding. Part IV, p. 215-229. In: *The Handbook of Plant Mutation Screening: Mining of Natural and Induced Alleles*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2010, 460 p. ISBN: 978-3-527-62940-4
181. MIFLIN, B. J., SHEWRY, P. R. An introduction to the extraction and characterization of barley and maize proteins. In: *Techniques for the separation of barley and maize proteins*. Miflin B. J.; Shewry P. R (Ed.). Luxembourg: Commission of the European Communities, 1977. p. 13-25.
182. MILOMIRKA, M., KNEŽEVIĆ, D., PAUNOVIĆ, P. Plant height and internode length as components of lodging resistance in barley. In: *Acta Agriculturae Serbica*, 2016, vol. 21 (42), pp.99-106. ISSN: 2560-3140.
183. MIROSAVLJEVIĆ, M., ČANAK, P., MOMČILOVIĆ, V., et al., Relationship between grain yield and agronomic traits in winter and barley. In: *Ratar. Povrt.*, 2015, vol. 52 (2), pp. 74-79. doi: 10.5937/ratpov52-7860, ISSN: 1821-3944.
184. MIURA, A., YONEBAYASHI, S., WATANABE, K., et al. Mobilization of transposons by a mutation abolishing full DNA methylation in Arabidopsis. In: *Nature*, 2001, vol. 411, pp. 212- 214. ISSN: 1476-4687.
185. MOLINIER, J., RIES, G., ZIPFEL, C., HOHN, B. Transgenerational memory of stress in plants. In: *Nature*. 2006, vol. 442, pp.1046–1049. ISSN: 1476-4687.
186. MOODY, D. Breeding for imidazolinone tolerant barley varieties: industry issues and concerns. In: *Grain Research & Development Corporation*, 2015, 4 p.
187. MORGAN, W.F., SOWA, M. B. Effects of ionizing radiation in non irradiated cells. In: *PNAS. The National Academy of Sciences of the USA*. 2005, vol. 102 , no. 40, pp.14127-14128. ISSN: 1091-6490.
188. MOTTINGER, J., DELLAPORTA, S., KELLER, P. Stable and unstable mutation in aberrant ratio stocks of maize. In: *Genetics*. 1984, vol. 106, pp. 751-767.
189. MOTTINGER, J., JOHNS, M., FREELING, M. Mutations of the Adh1 gene in maize following infection with barley stripe mosaic virus. In: *Molecular and General Genetics MGG*. 1984, vol. 195, pp.367-369. ISSN: 1432-1874
190. MULLINS, E., BRESSON, J-L., DALMAY, T. *In vivo* and *in vitro* random mutagenesis techniques in plants. In: *EFSA Journal*. 2021, vol.19, (11), pp.1-30.. ISSN:1831-4732.

191. MUÑOZ-AMATRIAIN, M., CUESTA-MARCOS, A, HAYES, P.M, et. al. Barley genetic variation: implications for crop improvement. In: *Brief Funct Genomics*. 2014, vol.13 (4), pp.341-50.
192. MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. In: *Physiology Plant*. Bd. 1962, vol.15, p.473-497. ISSN: 0176-1617.
193. NAJAR, A., KUMARI, S., GHANEM, H., et al. New Tunisian barley variety “Imen” selected for resistance to *Barley yellow dwarf virus-PAV* and adapted to semi-arid conditions. In: *Phytopathologia Mediterranea*.2015, vol. 54, no.1, pp.140–196. ISSN: 0031-9465.
194. NEGASH, G., LULE, D, JALATA, Z., Estimation of genetic variability, heritability and genetic advance among Ethiopian food barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces for yield and yield related traits. In: *IJAAS*. 2021, vol. 6(3), pp. 185-192. ISSN: 1712-3496
195. NELSON, O. A reexamination of the aberrant ratio phenomenon in maize. In: *Maydica*.1981, vol. 26, pp. 119–131. ISSN: 0025-6153
196. NEWTON, A.C.; FLAVELL, A.J.; GEORGE, T.S. et al. Crops that feed the world 4. Barley: A resilient crop. Strengths and weaknesses in the context of food security. In: *Food Secur*. 2011, vol.3, pp.141–178. ISSN: 1876-4525.
197. NEYHART, J.L.; LORENZ, A.J.; SMITH, K.P. Multi-Trait Improvement by Predicting Genetic Correlations in Breeding Crosses. In: *G3 GenesGenomes Genet*. 2019, vol. 9, pp.3153–3165. ISSN: 2160-1836.
198. NIEHL, A., STEINMÖLLER, S. Express PRA for Barley stripe mosaic virus. *Julius Kühn Institute, Institute for National and International Plant Health*. 2017, pp.1-5.
199. NUTTER, F.W., PEDERSON, V.D., TIMIAN R.G. Relationship between seed infection by barley stripe mosaic virus and yield loss // In: *Phytopathology*. 1984, vol.74, nr.3, pp.363–366. ISSN:1439-0434.
200. OKAGAKI, R., J., CHO, S., KRUGER, W., et al. The barley *uniculm2* gene resides in a centromeric region and may be associated with signaling and stress responses. *Functional & Integrative Genomics*. 2013, vol. 13, pp. 33–41.
201. OKAGAKI, R., HAANING, A. , BILGIC, H. et al. ELIGULUM-A regulates lateral branch and leaf development in barley. In: *Plant Physiol*. 2018, vol. 176, pp. 2750–2760. ISSN: 1532-2548.
202. OLADOSU, Y. et. al. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. In: *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2016, vol. 30, no. 1, pp.1-16. ISSN:1314-3530.

203. ORŁOWSKA, R., MACHCZYŃSKA, J., OLESZCZUK, S. DNA methylation changes and TE activity induced in tissue cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). In: *J Biol Res* (Thessalon). 2016, vol.23 (19), pp.1-12. ISSN: 2241-5793.
204. ORŁOWSKA, R. Barley somatic embryogenesis-an attempt to modify variation induced in tissue culture. In: *J. Biol. Res.* 2021, vol. 28, pp. 1–12. ISSN: 2241-5793.
205. ORŁOWSKA, R., BEDNAREK, P.T. Precise evaluation of tissue culture-induced variation during optimisation of in vitro regeneration regime in barley. In: *Plant Mol. Biol.* 2020, vol. 103, pp. 33–50. ISSN:1573-5028.
206. ORTON, T. J. Chromosomal variability in tissue cultures and regenerated plants of *Hordeum* In: *Theor. Appl. Genet.* 1980, vol. 56: pp. 101-112. ISSN: 1432-2242.
207. OSSOWSKI, S. SCHNEEBERGER, K., LUCAS-LLEDO, J. et al. The rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in *Arabidopsis thaliana*. In: *Science.* 2010, vol. 327, pp. 92–94. ISSN: 0036-8075.
208. PATEL, S.R., SHARMA, D., DAS, B. K., et.al. Study of coefficient of variation (GCV & PCV), heritability and genetic advance in advanced generation mutant line of rice (*Oryza sativa* L.) In: *The Pharma Innovation Journal*, 2021, vol. 10 (10), pp.784-787. ISSN: 2277-7695.
209. PAUDEL, D., SANFAÇON, H. Exploring the Diversity of Mechanisms Associated With Plant Tolerance to Virus Infection In: *Front. Plant Sci.* 2018, vol.9, pp. 1-20. ISSN: 1664-462X
210. PAYNTER, B. Barley variety sowing guide for Western Australia. In: *Bulletin 4860, Department of Agriculture and Food*, 2015, 52 p. ISSN: 1833-7366.
211. PM 7/126 (1) Electron microscopy in diagnosis of plant viruses. Buletin OEPP/EPPO, 2015, vol. 45 (3), 450–453. ISSN:
212. POORTER, H., NIINEMETS, Ü., POORTER, L., WRIGHT, IJ., VILLAR, R. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. In: *New Phytol* 2009, vol. 182: pp. 565–588.
213. POPLAWSKI, T., J. BŁASIAK. DNA repair in mammalian cells through homologous recombination. Postepy. In: *Biochem.* 2006, vol.52, pp.180– 193. (In Polish). ISSN: 0974-7427.
214. POURKHEIRANDISH, M., HENSEL, G., KILIAN, B. et. al. Evolution of the Grain Dispersal System in Barley. In: *Cell.* 2015, vol.162 (3), pp. 527-5. ISSN: 2073-4409.

215. POURSAREBANI, N., SEIDEN STICKER, T., KOPPOLU, R. et al. The genetic basis of composite spike form in barley and 'Miracle-Wheat'. In: *Genetics*. 2015, vol. 201(1), pp. 155-65. ISSN: 2329-6887.
216. POURSAREBANI, N., TRAUTIEWIG, C., MELZER. COMPOSITUM 1 contributes to the architectural simplification of barley inflorescence via meristem identity signals. In: *Nat Commun.*, 2020, vol.11 (1), pp.119-124. ISSN: 0300-8746
217. POZZI, C., FACCIOLI, P., TERZI, V., et al. Genetics of mutations affecting the development of a barley floral bract. In: *Genetics*. 2000. vol. 154. pp.335-1346. ISSN: 1943-2631.
218. PRZETAKIEWIEZ, A., OREZYK, W., NADOLSKA-OREZYK, A. The effect of auxin on plant regeneration of wheat, barley and triticale. In: *Plant Cell, Tissue and Organ culture*. 2003, vol.73, p.245-256. ISSN: 1573-5044.
219. PU-YANG, D., ZI-QIANG, M., HUA-PING, M. et al. A major and stable QTL for wheat spikelet number per spike validated in different genetic backgrounds. In: *Journal of Integrative Agriculture*. 2022, vol. 21(6), pp. 1551-1562. ISSN: 2352-3425
220. QIONGXIAN, L., DOCKTER, CHR., SIRIJOVSKI, N., et al. Analysis of barley mutants *ertc.1* and *ertd.7* reveals two loci with additive effect on plant architecture. In: *Planta* (2021) 254:9, p 1-15. ISSN: 1432-2048.
221. RABOY, V. Induced Mutation-facilitated Genetic Studies of Seed Phosphorus, pp.157-161. In: Shu Q.Y. (ed.), *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2009, 441 p. ISBN: 978-92-5-106324-8
222. RAMEGOWDA, V., SENTHIL-KUMAR, M. *The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination*. In: *Journal of Plant Physiology*. 2014, vol. 176, pp.47-54. ISSN: 1618-1328
223. RAUD, M., ROCHA-MENESES, L., LANE, D.J., et al. Utilization of Barley Straw as Feedstock for the Production of Different Energy Vectors. In: *Processes*, 2021, vol 9, p.726.
224. RIAZ, A., ALQUDAH, A, KANWAL, F., et al. Advances in studies on the physiological and molecular regulation of barley tillering, In: *Journal of Integrative Agriculture*, 2023, vol. 22, (1), pp. 1-13. ISSN:2095-3119
225. RICHARDS, E. Inherited epigenetic variation: revisiting soft inheritance. In: *Nat. Rev. Genet*. 2006. vol. 7, no.5, pp. 395–401. ISSN: 1471-0064.
226. ROBINSON, H., HICKEY, L., RICHARD, C., et al. Genomic Regions Influencing Seminal Root Traits in Barley. In: *Plant Genome*. 2016, vol.9 (1). ISSN: 1940-3372.

227. ROMERO, L., GOMEZ, P. Barley Breeding in Peru. p. 34-38. In: Vivar, H.E., and A. McNab (eds.), *Breeding Barley in the New Millenium: Proceedings of an International Symposium*. Mexico, D.F.: CIMMYT. 2001, 82p. ISBN: 970-648-078-1.
228. ROSSINI, L., VECCHIETTI, A., NICOLOSO, N., et. al. Candidate genes for barley mutants involved in plant architecture: An in silico approach. In: *Theor Appl Genet*. 2006, vol.112, pp.1073-1085. ISSN: 1432-2242
229. SAKUMA, S., LUNDQVIST, U., KAKEI, Y. Extreme Suppression of Lateral Floret Development by a Single Amino Acid Change in the VRS1 Transcription Factor. In: *Plant Physiol*. 2017,vol. 175 (4), pp.1720-1731. ISSN: 1532-2548.
230. SALVI, S. et al. Induced Genetic Variation, TILLING and NGS-Based Cloning. Ch.15, p.287-310 In: J. Kumlehn J., Stein N. (eds.), *Biotechnological Approaches to Barley Improvement*. 2014. 426 p. ISBN: 978-3-662-44405.
231. SANDFAER J. Barley stripe mosaic virus and the frequency of triploids and aneuploids in barley. In: *Genetics*, 1973, vol.73, no.4, pp.597-603. ISSN:1943-2631
232. SATO, K. History and future perspectives of barley genomics. In: *DNA Res*. 2020, 27(4). ISSN: 1756-1663. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsaa023>.
233. SCHMALENBACH, I.; MARCH, T.J.; BRINGEZU, T. et al. High-Resolution Genotyping of Wild Barley Introgression Lines and Fine-Mapping of the Threshability Locus thresh-1 Using the Illumina Golden Gate Assay. In: *G3 Genes Genomes Genet*. 2011, vol.1 (3), pp.187-196. ISSN: 2160-1836.
234. SCHMITZ, S., BARRIOS, R., DEMPEWOLF, H. Crop diversity, its conservation and use for better food systems. The crop trust perspective. In: *United Nations Food Systems Summit*. 2021, pp.1-4.
235. SCOFIELD, S., NELSON, R. Resources for virus-induced gene silencing in the grasses. In: *Plant Physiol*. 2009, vol. 149, pp. 152–157. ISSN: 0176-1617
236. SHAAF, S. BRETANI, G. , BISWAS, A., et al. Genetics of barley tiller and leaf development, J. Integr. In: *Plant Biol*. 2019, vol. 61, pp. 226–256. ISSN: 1744-7909.
237. SHAH, A., TANVEER, M., REHMAN, A. U., et al. Lodging stress in cereal effects and management: an overview. In: *Environ. Sci. pollut. R. Int*. 2017, vol. 24, pp. 5222–5237. ISSN: 1614-7499.
238. SHANG, Y., YUAN, L., DI, Y., et al. A CYC/TB1 type TCP transcription factor controls spikelet meristem identity in barley (*Hordeum vulgare*L.). *Journal of Experimental Botany*. 2020, vol.71 (22), pp.7118–7131. ISSN: 1460-2431.

239. SHANG, Y., ZHU, J., HUA, W. Characterization and mapping of a *Prbs* gene controlling spike development in *Hordeum vulgare* L. In: *Genes Genome*. 2014, vol. 36 (3), p.275-282. ISSN: 2092-9293.
240. SHEN, L., LIU, Y., SUN, Z. Mining the potential of *VRS1-5* gene to raise barley grain yield. In: *bioRxiv-Developmental Biology*. 2020, pp.1-21.
241. SHEWRY, P., PRATT, H., FINCH, R., MIFLIN, B. The genetic analysis of hordein polypeptides from single seeds of barley. In: *Heredity*. 1978, vol. 40, pp. 463-466. ISSN: 0022-1503.
242. SHEWRY, P., MIFLIN, B. Seed storage proteins of economically important cereals. In: Pomeranz Y (ed.). *Advances in cereal science and technology*. Am. Assoc. In: *Cereal chem., St. Paul, MN*. 1985, vol.7, p1-84. ISSN:1460-2431
243. SHU, Q.Y., FORSTER, B.P., NAKAGAWA, H. Principles and Applications of Plant Mutation Breeding Ch.24, p.301-326. In: Shu Q.Y., Forster B.P., Nakagawa H. (eds.), *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Plant Breeding and Genetics Section. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 2011, 595 p. ISBN: 9789251070222.
244. SINGH, R., CHAUDHARY, B. Biometrical Methods in Quantitative Analysis. In: *Kalayani Publishers. New Delhi*. 1985, 304 p.
245. SIVASUBRAMANYAM, M., MENON, M., Path analysis for yield and yield components of rice. In: *Madras Agric. J.*, 1973, vol. 60 (9/12), pp. 1217–1221. ISSN: 2582-5321.
246. SPRAGUE, F., MCKINNEY, H., GREELEY, L. Virus as a mutagenic agent in maize. In: *Science*, 1963, vol. 141, pp.1052–1053. ISSN: 0036-8075.
247. SPRAGUE, G., MCKINNEY, H. Aberrant ratio, an anomaly in maize associated with virus infection In: *Genetics*. 1966, vol. 54, pp.1287–1296. ISSN: 1943-2631.
248. SPRAGUE, G., MCKINNEY, H. Further evidence on the genetic behavior of AR in maize. In: *Genetics*, 1971, vol. 67, pp.533. ISSN: 1943-2631.
249. STOILOV, L. et al. Karyotype reconstruction modulates the sensitivity of barley genome to radiation induced DNA and chromosomal damage. In: *Mutagenesis*. 2013, vol. 28, no. 2, pp. 153–160. ISSN: 0267-8357.
250. SUPRASANNA, P., MIRAJKAR, S., BHAGWAT, S. Induced Mutations and Crop Improvement Ch 23, p. 593-617. In: B. Bahadur et al. (eds.), *Plant Biology and Biotechnology: Plant Diversity, Organization, Function and Improvement*, India. 2015, vol.1, 595p. ISBN: 978-81-322-2286-6.

251. SWIECICKI, W., WOLKO, B., APISITWANICH, S., KRAJEWSKI, P. An analysis of isozymic loci polymorphism in the core collection of the Polish *Pisum* genebank. In: *Genet. Resour. and Crop Evol.* 2000, vol. 47, no. 6, pp. 583-589. ISSN: 0925-9864.
252. SZAREJKO, I. Creation of a TILLING Population in Barley after Chemical Mutagenesis with Sodium Azide and MNU. Ch. 6, pp.91-111 In: Jankowicz-Cieslak J. et al. (eds.), In: *Biotechnologies for Plant Mutation Breeding.* 2017. 340 p, p.92. ISBN: 978-3-319-45019-3.
253. TAKAI, T., ADACHI, S., TAGUCHI-SHIOBARA, F., et al. A natural variant of NAL1, selected in high-yield rice breeding programs, pleiotropically increases photosynthesis rate. In: *Scientific Reports.* 2013, vol. 3, pp. 21-49. ISSN: 2045-2322.
254. TAVAKOL, E., OKAGAKI, R., VERDERIO, G., et al. The barley *Uniculme 4* gene encodes a BLADE-ON-PETIOLE-like protein that controls tillering and leaf patterning. In: *Plant Physiol.* 2015, vol. 168, pp. 164-174.
255. TAZEEN, M., NADIA, K., FARZANA, N.N. Heritability, phenotypic correlation and path coefficient studies for some agronomic characters in synthetic elite lines of wheat. In: *J. Food. Agric. Environ.* 2009, vol.7 (3-4). pp. 278-282. ISSN: 1459-0255.
256. TEMNICOV, E., **GRIGOROV, T.**, ANDRONIC, L. et al. Evaluation of the morphological expression of the branched spike mutation in spring barley somaclones. In: *Natural sciences in the dialog of generations.* Scientific Association of Geneticists and Breeders of the Republic of Moldova, the VI th National conference with international participation: Chisinau, Republic of Moldova, 14-15 September 2023. pp.72.
257. TEPLYAKOVA, S, LEBEDEVA, M, IVANOVA, N, et. al. Impact of the 7-bp deletion in HvGA20ox2 gene on agronomic important traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). In: *BMC Plant Biol.* 2017, vol. 17, pp.100-55. ISSN: 1471-2229.
258. TERZI, V., TUMINO, G., PAGANI, D. et al. Barley Developmental Mutants: The High Road to Understand the Cereal Spike Morphology. In: *Diversity.* 2017, vol. 21 (9), pp.1-16. ISSN:1424-2818.
259. TIIDEMA, A., TRUVE, E. Efficient regeneration of fertile barley plants from callus cultures of several Nordic cultivars. In: *Hereditas.* 2004, vol. 140, p.171-176. ISSN: 1601-5223
260. THIRULOGACHANDAR V., ALQUDAH, A., KOPPOLU, R. et al. Leaf primordium size specifies leaf width and vein number among row-type classes in barley. In: *The Plant Journal.* 2017, vol. 91(4), pp. 601- 602. ISSN: 1365-313X

261. THIRULOGACHANDAR, V., KOPPOLU, R., SCHNURBUSCH T. Strategies of grain number determination to differentiate barley row types. In: *J. Exp. Bot.* 2021, vol. 72(22), pp. 7754-7768. ISSN:1460-2431.
262. TIWARI, D., TRIPATHI, S., TRIPATHI, M., Genetic Variability and Correlation Coefficients of Major Traits in Early Maturing Rice under Rainfed Lowland Environments of Nepal, In: *Advances in Agriculture, 2019*, vol.1, pp.1-9. ISSN: 2356-654X.
263. TODOROVSKA, E. et al. Molecular Variability in Barley Structural Mutants Produced by Gamma Irradiation. In: *Plant Mutation Reports.* 2013, vol. 3, no.1, pp.4-8. ISSN: 1011-260X.
264. VAN MÖLKEN, T., STUEFER, J. The potential of plant viruses to promote genotypic diversity via genotype X environment interactions. In: *Ann. Bot.* 2011, vol. 107, pp. 1391-1397 ISSN:1095-8290.
265. VERDERIO, G. *Genetic dissection of developmental traits in barley (Hordeum vulgare)*. PhD School in Plant Biology and Crop Production. Disciplinary sector: Agricultural Genetics (AGR/07). 2015, 148p.
266. VOSS-FELS, K., ROBINSON, H., MUDGE, S., et al. VERNALIZATION1 modulates root system architecture in wheat and barley. In: *Mol. Plant.* 2018. vol.11, pp.226–229. ISSN: 1752-9867.
267. WADAN, A. Correlation and regression analysis in barley. In: *World Essays J.* 2013, vol., 1 (3), pp. 88 -100. ISSN: 2310-1377.
268. WANG, X., CAO, A., YU, C., et al. Establishment of an effective virus induced gene silencing system with BSMV in *Haynaldia villosa*. In: *Mol. Biol. Rep.* 2010, vol. 37, pp. 967–972. ISSN:1573-4978.
269. WANG, Q., SUN, G., REN, X., et al. Dissecting the genetic basis of grain size and weight in barley (*Hordeum vulgare* L.) by QTL and comparative genetic analyses. In: *Front. Plant Sci.* 2019, pp. 1-18.10. ISSN: 1664-462X .
270. WANG, W., HE, J., et al. Construction of a high-density genetic map and fine mapping of a candidate gene locus for a novel branched-spike mutant in barley. In: *PLoS One.* 2020, vol.15(1). ISSN: 1932-6203.
271. WANG, X. et al., Tissue culture-induced genetic and epigenetic alterations in rice pure-lines, F1 hybrids and polyploids. In: *BMC Plant Biol.* 2013, vol. 13: pp. 77. ISSN: 1471-2229

272. WENDT, T., HOLME, I., DOCKTER, C., et al. HvDep1 is a positive regulator of culm elongation and grain size in barley and impacts yield in an environment-dependent manner. In: *PLoS One*, 2016, vol. 11(12), pp. 1-21. ISSN: 1932-6203.
273. WETTSTEIN, D. Mutants Pave the Way to Wheat and Barley for Celiac Patients and Dietary Health. p.168-171. In: Shu Q.Y. (ed.), *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2009, 441 p. ISBN: 978-92-5-106324-8
274. WIJERATHNA-YAPA, A., RAMTEKEY, V., RANAWAKA, B., et al. Culture Technologies in Breeding and Genetic Improvement of Wheat. In: *Plants*. 2022, vol.11, pp.1-26. ISSN: 2223-7747.
275. WILSON, D.M., THOMPSON, L. Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange. In: *Mutat. Res.*, 2007, vol.616, pp.11-23. ISSN: 0027-5107.
276. WRIGHT, S., I., AGRAWAL, N., BUREAU, T. Effects of recombination rate and gene density on transposable element distributions in *Arabidopsis thaliana*. In: *Genome Res.* 2003. vol. 13, pp. 1897-1903. ISSN: 1549-5469.
277. WU, W., ZHOU, L., CHEN J. et al. Gain TKW: A Measurement System of Thousand Kernel Weight Based n the Android Platform. In: *Agronomy*. 2018, vol. 8 (9), p. 1-15. ISSN: 2073-4395.
278. XU, Y., JIA, Q., ZHOU, G. et al. Characterization of the *sdw1* semi-dwarf gene in barley. *BMC Plant Biol.* 2017, vol. 17(11), pp.1-10. ISSN: 1471-2229.
279. XU P, CHENG F., MANNAS J., et al. Virus infection improves drought tolerance. In: *New Phytologist*. 2008, vol. 180, pp. 911-921. ISSN:1469-8137.
280. YAN, X., LI, J., FU, H., et al. Jittery, a low-copy, Mu-related transposon apparently mobilized by BSMV infection. In: *Maize Genetics Conference Abstracts*. 2000, no. 42, pp.159.
281. YADAV, S., SINGH, A., PANDEY, P., et al. Genetic Variability and Direct Selection Criterion for Seed Yield in Segregating Generations of Barley (*Hordeum Vulgare L.*). In: *Am. J. Plant Sci.* 2015, vol.6, pp.1543–1549. ISSN: 2158-2750.
282. YAMAGUCHI, H., NAGATOMI S., MORISHITA, T., et al. Mutation induced with ion-beam irradiation in rose. In: *Nucl Instr.Meth. Phys. Res.* 2003, vol. 206, p. 561-564. ISSN: 1872-9576
283. YAO, Y., KATHIRIA, P., KOVALCHUK, I. A systemic increase in the recombination frequency upon local infection of *Arabidopsis thaliana* plants with oilseed rape mosaic virus

- depends on plant age, the initial inoculum concentration and the time for virus replication. In: *Front. Plant Sci.* 2013, vol. 4, pp. 1-7. ISSN: 1664-462X.
284. YAO, Y., BILICHAK, A., GOLUBOV, A., et al. Local infection with oil seed rape mosaic virus promotes genetic rearrangements in systemic Arabidopsis tissue. In: *Mutat. Res.* 2011, vol. 709–710, pp.7–14. ISSN:1388-2139
285. YE, L., WANG, Y., LONG, L, LUO, H.. A trypsin family protein gene controls tillering and leaf shape in barley. *Plant Physiology*, 2019., vol.181, pp.701–713. ISSN: 1532-2548
286. YOSHIKAWA, T., TANAKA, S., MASUMOTO, Y., et al. Barley NARROW LEAFED DWARF1 encoding a WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 3 (WOX3) regulates the marginal development of lateral organs. In: *Breed Sci.* 2016, vol. 66 (3), pp.416-24. ISSN: 1347-3735 .
287. YOUSSEF, H., KOPPOLU, R., RUTTEN, T. Genetic mapping of the labile (lab) gene: A recessive locus causing irregular spikelet fertility in labile-barley (*Hordeum vulgare* convar.labile). In: *Theor. Appl. Genet.* 2014, vol.127, pp.1123–1131. ISSN: 1432-2242
288. YOUSSEF, H., EGGERT, K., KOPPOLU, R. et al. VRS2 regulates hormone-mediated inflorescence patterning in barley. In: *Nature Genetics.* 2017, vol. 49 (1), pp.157-161. ISSN: 1061-4036.
289. YU, X. et al., Tissue culture-induced genomic alteration in maize (*Zea mays*) inbred lines and F1 hybrids. In: *Ann Appl Biol.* 2011, vol. 158, pp. 237-247. ISSN: 1744-7348.
290. ZAKRZEWSKI, F., SCHMIDT, M., LIJSEBETTENS, M. et al. DNA methylation of retrotransposons, DNA transposons and genes in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). In: *Plant J. Cell Mol. Biol.* 2017, vol. 90, pp.1156–1175.
291. ZANG, Y, GONG Q, XU, Y, LIU H. et al. Production of Conjoined Transgenic and Edited Barley and Wheat Plants for Nud Genes Using the CRISPR/SpCas9 System. In: *Front. Genet.* 2022, vol. 13, pp.1-10. ISSN: 1664-8021. doi: 10.3389/fgene.2022.873850.
292. ZHANG, C.; ZHENG, B.; HE, Y. Improving Grain Yield via Promotion of Kernel Weight in High Yielding Winter Wheat Genotypes. In: *Biology* 2022, vol 11, pp. 42. ISSN: 2079-7737.
293. ZHANG, D. WANG , Z., WANG, N. et al. Tissue culture-induced heritable genomic variation in rice, and their phenotypic implications. In: *PLoS ONE* 2014, vol.9 (5). pp.1-10. ISSN: 1932-6203.
294. ZHANG, Y., XU, W. G., WANG, H. et al. Progress in genetic improvement of grain yield and related physiological traits of Chinese wheat in Henan Province. In: *Field Crop Res.* 2016. vol. 199, pp. 117-128. ISSN: 1872-6852.

295. ZHANG, A., ZHAO, T., HU, X., et al. Identification of QTL underlying the main stem related traits in a doubled haploid barley population. In: *Front. Plant Sci.* 2022, vol. 13. pp.1-13. ISSN:1664-462X.
296. ZHENG, Z., HU, H., GAO S, ZHOU, H., et al. Leaf thickness of barley: genetic dissection, candidate genes prediction and its relationship with yield-related traits. In: *Theor Appl Genet.* 2022, vol.135 (6), pp.1843-1854. ISSN: 1432-2242.
297. ZWIREK, M., WAUGH, R., MCKIM, S.M. Interaction between row-type genes in barley controls meristem determinacy and reveals novel routes to improved grain. In: *New Phytol.* 2019, vol. 221(4), pp. 1950-1965. ISSN: 1469-8137.

surse în limba rusă

298. ВОЛОДИН, В., КОЛОСЕНЦЕВА, Н., ЛИСОВСКАЯ, З., Генетика мутантов ячменя. In: «*Наука и техника*», Минск .1989, с.64–90.
299. ГРИГОРОВ, Т. Изменчивость количественных признаков ячменя под влияние вирусной инфекции отдельно или в сочетании с гамма-излучениями в M₀-M₂ поколениях. In: *Плодоводство и ягодоводство России.* Москва, 2012, vol. 46 (1), pp. 170 -177. ISSN: 2073-4948.
300. ГУЛЯЕВ, Г.В., ЛОСКУТОВ Н. Ф. Изменчивость количественных признаков озимой мягкой пшеницы. In: *Изв. ТСХА.* 1971. Вып.5, с.52–59.
301. ИЛЬИНСКИХ, Н.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. In: *Изд-во Томского ун-та,* Томск, 1992, 269 с.
302. ЛЫКОВА, Н. А. Изменчивость генетико-статистических признаков *Triticum aestivum* и *Hordeum vulgare* в онтогенезе. In: *Науч.ж. КубГАУ.* 2006. № 24 (8), с.1-8.
303. МАМОНТОВА, В.Н. Изменчивость количественных признаков у чистых линий яровой пшеницы. In: *Селекция и семеноводство яровой пшеницы. Избранные труды,* 1980, М.: Колос, с.9–54.
304. ПАУШЕВА, З. П. *Практикум по цитологии растений.* In: *Агропромиздат.* Москва. 1988. 270 с. ISBN: 5-10-000614-5.
305. ТАНАСИЕНКО, И, ЕМЕЦ, А., БЛЮМ Я. Оценка эффективности каллусообразования и регенерации яровых сортов ячменя, районированных на территории Украины. In: *Цитология и генетика.* 2009, № 4, p.12-19.

Anexa 1. Gene implicate în formarea caracterelor morfologice și expresia fenotipică a mutațiilor la orz

Tabelul A 1.1. Lista genelor ce codifică caracterele morfologice la orz (original)

Nr	Denumirea genei mutante	Simbol locus	Poziția pe cr.	Fenotip	Ereditare	Funcția genei	Nr. BGS	Referințe bibliografice
Morfologia și dezvoltarea sistemului radicular								
1	Puține rădăcini1 Few roots1	<i>fer1</i>	-	Plantele mutante formează până la trei rădăcini seminale la faza de 6 frunzulițe comparativ cu formele inițiale care au 9 rădăcini. Ulterior plantele nu dezvoltă sistem radicular secundar. Plantele sunt normale fenotipic, dar tulpinile sunt în poziție înclinată, cu tendință de polignire.	Monofactoriale recesivă	Reglează formarea sistemului radicular secundar. Reduce numărul rădăcinilor seminale.	453	Franckowiak, D. Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2016, vol. 46, p.12.
2	Rădăcini fără perișori 1 Root hairless1	<i>rhl1</i>	7H	Rădăcinele plantelor mutante sunt lipsite de perișori absorbantși.	Monofactoriale recesive, puternic linkate	Inhibă dezvoltarea perișorilor radiculari. Gena este epistatică cu toate genele implicate în dezvoltarea perișorilor radiculari	–	Chmielewska B., Janiak A., Karcz J.et al. In: <i>J Appl Genetics</i> .2014, vol.5. pp.433-447[62]
3	Primordiile perișorilor radiculari1 Root hair primordial1	<i>rhp1</i>	1H	Rădăcinele plantelor mutante au perisorii blocați în stadiul inițial de dezvoltare, cel al primordiilor.	Monofactoriale recesive, linkate	Inhibă dezvoltarea perișorilor la stadiul inițial de dezvoltare. Această genă este epistatică cu genele <i>rhs</i> .	–	[62]
4	Perișori radiculari scurți1 Root hair short1	<i>rhs1</i>	5H	Rădăcinele plantelor mutante au perisorii scurți, deoarece dezvoltarea lor este blocată în stadiul de elongare.	Monofactoriale recesive, linkate	Blochează dezvoltarea perișorilor în faza incipientă de elongare.	–	[62]
5	Perișori radiculari scurți2 Root hair short2	<i>rhs2</i>	6H	Rădăcinele plantelor mutante au perisorii radiculari scurți.	Monofactoriale recesive, linkate	Blochează dezvoltarea perișorilor în stadiu de elongare.	–	[62]
6	Perișori radiculari scurți3	<i>rhs3</i>	2H	Rădăcinele plantelor mutante au perisorii radiculari scurți.	Monofactoriale recesive,	Blochează dezvoltarea perișorilor în stadiu de	–	[62]

	Root hair short3				linkate	elongare.		
7	Perişori radicular neregulați1 Root hair irregular1	<i>rhi1</i>	6H	Rădăcinele plantelor mutante au puțini perişorii de diferită lungime, repartizați neuniform.	Monofactoriale recesive, linkate	Responsabilă pentru distribuirea iregulară a perişorilor radiculari. Această genă este epistatică cu genele <i>rhs</i>	–	[62]
8	Perişori radicular neregulați2 Root hair irregular2	<i>rhi2</i>	1H	Rădăcinele plantelor mutante au puțini perisorii de diferită lungime, repartizați neuniform.	Monofactoriale recesive, linkate	Responsabilă pentru distribuirea iregulară a perişorilor radiculari. Această genă este epistatică cu genele <i>rhs</i>	–	[62]
9	Gravitropism intensificat1 Enhanced gravitropism1	<i>egt1</i>	6H	Rădăcinele plantelor mutante cresc sub un unghi mai abrupt.	Recisivă	Controlează unghiul de creștere al rădăcinii prin reglarea rigidității peretelui celular în alungirea țesutului cortical al rădăcinii.	–	Fusia R. Rosignolic S., Loua H., PNAS, In: <i>Plant biology</i> . 2022, vol. 119, Nr. 31, pp. 1-10
Morfologia și dezvoltarea frunzelor, paiului și lăstarilor secundari								
10	Frunză lată 1 Broad leaf1	<i>blf1</i>	5HL	Plantele sunt de o culoare verde-mai deschis comparativ cu forma inițială. Limbul foliar al frunzelor este de două ori mai lat decât lățimea normală iar marginile lui sunt ondulate. Numărul de celule de-a lungul limbului foliar și cel al fasciculelor vasculare și stomatelor este mai mare. Lățimea lemei, paleii și a bobului este mai mare la forma mutantă.	Monofactoriale recesive.	Reglează dimensiunea frunzei prin sporirea proliferării celulare în direcția lățimii frunzei. Mărește lățimea frunzei, lemei, paleii și a bobului.	326	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2016, vol. 46, pp. 90-91.
11	Frunză lată 2 Broad leaf 2	<i>blf 2</i>	5HL	Lățimea frunzei este maimică cu 2/3 din lățimea normală a frunzei a formei inițiale.	Monofactoriale recesive.	Reglează dimensiunea frunzei prin restrângerea proliferării celulare în direcția lățimii frunzei.	337	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2011, vol.41, p.137.

12	Gigant 1 Gigas 1	<i>gig1</i>	2H	Lungimea și diametrul paiului, frunzele, spicele și glumele sunt mai mari comparativ cu forma inițială. Aristele sunt mai scurte, spicul este lax, frunzele de culoare verde-închis. Spicul, paiul și tecile frunzelor sunt acoperite cu un strat gros de ceară. Anterele sunt bine dezvoltate dar stigmatul are puțini perișori ceea ce duce la o fecundare slabă.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează mărimeafrunzei, paiului și unor componente ale spicului. Mărește dimensiunea spicelor și glumelor, lungimea și diametrul paiului.	463	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, p.164
13	Gigant 2 Gigas 2	<i>gig2</i>	4HL	Plantele mutante sunt înalte și robuste. Cele mai multe părți ale plantei sunt mai mari comparativ cu plantele normale. Spicul are mai multe spiculețe. Perioada de înflorire este întârziată întârziată și în condiții de camp plantele polignesc.	Monofactoria lă recesivă.	Regleazăsensibilitateaala fotoperioadă și micșorează perioada de înflorire. Sporește lungimea paiului, mărimea frunzelor și spicului.	612	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, p.191. Druka, A., Franckowiak J., Lundqvist U., In: <i>Plant Physiol</i> . 201, vol.155, pp. 617-627[80]
14	Pitic cu frunze înguste1 Narrow leafed dwarf 1	<i>nld1</i>	5HL	Plantele mutante au frunze înguste, de culoare verde-închis, care sunt erecte, cu nervuri mediane bine dezvoltate. Auriculele degenerază până la proiecții minuscule dar ligulele sunt de mărime normală. Internodurile paiului sunt scurte, iar cel superior curbat. Spiculețele sunt relativ înguste și mici, iar gradul de legare a boabelor e mic. Lățimea frunzei constituie cca 60% din lățimea normală, iar lema și paleea acoperă doar parțial cariopsa. Spicul	Monofactoria lă recesivă.	Reglează creșterea lățimii organelor și dezvoltarea țesuturilor și organelor laterale. Micșorează înălțimea plantelor, lățimea frunzelor, spiculețelor, lemei și paleei.	323	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2016, vol.46, pp.88-89

				de obicei iese din partea laterală a tecii înainte de anteză.				
15	Pitic cu frunze înguste1 Narrow leafed dwarf 1	<i>nld2</i>	5H/6H /7H	Plantele mutante au frunze înguste, de culoare verde-închis, care sunt erecte, cu nervuri mediane bine dezvoltate. Auriculele degenerază până la proiecții minuscule, dar ligulele sunt de mărime normală. Internodurile paiului sunt scurte, iar cel superior curbat. Spiculețele sunt relativ înguste și mici, iar gradul de legare a boabelor este mic.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează creșterea lățimii organelor și dezvoltarea țesuturilor și organelor laterale. Reduce înălțimea plantei, lățimea frunzelor și spiculețelor	660	Franckowiak J.D., Kleinhofs A. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol. 43. p.176.
16	Granum-a	<i>gra-a</i>	7H	Plantele formează numeroși lăstari cu frunzele înguste și internoduri scurte (1/2 din înălțimea normală a plantei). Lungimea spicelor este mai mică cu 1/2 din lungimea normală a spicului. Boabele sunt mici și șiștave. Spicele apar din teaca frunzei standard prematur, cu 4-7 zile înaintea de anteză.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică lățimea frunzelor, mărimea paiului și spicelor, numărul lăstarilor	131	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol.47, pp.79-80
17	Pitic cu multe noduri 1 Many-noded dwarf 1	<i>mnd1</i>	2HS	În condiții de câmp plantele sunt joase (1/2 din înălțimea normală), cu numeroși lăstari. Fiecare lăstar are 12-20 de frunze mici, înguste și spice cu mărimea redusă. La nodurile superioare se pot dezvolta lăstari suplimentari cu 4-7 frunze, dar aceste ramuri secundare și terțiare ale paiului se dezvoltă târziu și au spice foarte mici. În condiții de seră plantele sunt cu dezvoltare mai întârziată comparativ cu formele inițiale. Rata de inițiere a primordiilor este normală, dar dezvoltarea lor în frunze este mai rapidă.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează dezvoltarea frunzelor și mărimea lor. Modifică lungime paiului și altor organe.	519	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol.48, p.155

18	Pitic cu multe noduri 3 Many-noded dwarf 3	<i>mnd3</i>	4HS	Plantele sunt joase, cu 2/3-3/4 din înălțimea normală, iar numărul de internoduri este mai mare cu 1-2 comparativ cu plantele normale.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează mărimea segmentelor de tulpină a plantelor.	618	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, pp.194-195
	Pitic cu multe noduri 4 Many-noded dwarf 4	<i>mnd4</i>	5HL	Plantele sunt cu 3/4 mai joase comparativ cu plantele normale și cu 7-8 internoduri per lăstar. Plantele formează mulți lăstari. Spicele au rahisul cu 2/3-3/4 internoduri mai puține față de numărul normal.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează dezvoltarea frunzelor și altor organe, mărimea lor. Modifică lungime paiului și altor organe.	347	Franckowiak J.D. Lundqvist U. Barley In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, p.122-123
19	Pitic cu multe noduri 5 Many-noded dwarf 5	<i>mnd5</i>	7HL	Plantele sunt joase, 1/2 din înălțimea normală, cu numeroși lăstari. Fiecare lăstar are 12-20 de frunze mici, înguste și spice cu mărimea redusă cu 1/3. Perioada de înspicare este întârziată. Paiul formează lăstaricu 4-7 frunze, fiecare frunză se dezvoltă la nodul superior al paiului, dar aceste ramuri se dezvoltă târziu și au spice foarte mici. Fiecare pai poate avea de la 15-20 de internoduri.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează dezvoltarea frunzelor și altor organe, mărimea lor. Modifică lungimea paiului și altor organe.	632	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, p.202
20	Pitic cu multe noduri 6 Many-noded dwarf 6	<i>mnd6</i>	5HL	Plantele sunt mai joase cu 2/3 din lungimea normală și au multe (până la 20) internoduri. Boabele sunt șiștave. Spicele sunt scurte și au câte 17 spiculețe comparativ cu 21 spiculețe.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează dezvoltarea frunzelor și altor organe, mărimea lor. Modifică lungime paiului și altor organe.	633	Franckowiak J.D. Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, pp. 203-204 Druka, A., J. Franckowiak J. D., Lundqvist U. 2011, In:

								<i>Plant Physiol.</i> vol.155, pp. 617-627.
21	Pitic cu multe noduri 7 Many-noded dwarf 7	<i>mnd7</i>	-	Plantele sunt joase (1/2 din înălțimea normală) cu multe internoduri, frunze înguste și subțiri, cu spice foarte scurte. Fenotipic plantele mutante <i>mnd7.h</i> se aseamănă cu <i>mnd1.a</i> ; totuși nu se observă ramificarea paiului la nodul pedunculului.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează dezvoltarea frunzelor și altor organe. Modifică lungimea paiului și altor organe.	726	A. Kleinhofs, Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> .2013 , vol.43, p.221
22	Pitic 1 Uzu 1	<i>uzu1</i>	3HL	Plante sunt pitice cu coleoptilul, frunzele, paiul, internodul rahisului, ariste, glumele și boabele reduse în lungime și lățime. Uneori coleoptilul plantelor mutante prezintă o creștătură în formă de litera V. Reducerea lungimii paiului variază în dependență de temperatură cu mai puțin de 15% la temperature joase și peste 75% la temperature ridicate. La temperaturi joase plantele mutante sunt semipitice. Frunzele au unghiuri ascuțite, spicele sunt cu ariste scurte și cu spiculețele bazale dispuse compact. Marginile frunzelor și auriculelor sunt puțin ondulate. Numărul lastarilor secundari este redus.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează mărimea organelor plantei. Alelele mutante <i>uzu</i> cauzează reducerea înălțimii plantei și scăderea ușoară a numărului de lastari secundari. Gena <i>uzu1.a</i> are efect pleiotropic asupra lungimii coleoptilului, frunzei, paiului, internodului rahial, ariste, glume și mărimea boabelor.	102	Franckowiak. J.D., Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, pp.70-73
23	Semipitic – b Breviaristatum-b	<i>ari-b</i>		Plantele sunt semipitice cu viabilitatea și fertilitatea redusă; frunzele sunt late, dar scurte și de culoare verde mai deschis; și ariste au cu 3/4 din lungimea normal. Creșterea este întârziată semnificativ în perioada caldă a anotimpului și relativ bună în perioada rece.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează înălțimea și mărimea organelor plantei. Reduce înălțimea plantei lungimea frunzelor și aristelor. Afectează dezvoltarea organelor reproductive.	550	Lundqvist U., Franckowiak. J. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, pp.185.

				Dezvoltarea organelor reproductive este întârziată.				
24	Semipitic-e Breviaristatum-e	<i>ari-e</i>		Plantele sunt semipitice, înălțimea este cu 3/4 – 5/6 mai mică decât cea normală, urmare a reducerii lungimii internodurilor. Aristele au 2/3 din lungimea normală și boabele sunt șiștave. Alelele mutante la acest locus sunt asociate cu toleranța la salinitate, prezintă insensibilitate relativă la giberilină, susceptibilitate la diferiți agenți patogeni fungici.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează înălțimea și mărirea organelor. Reduce înălțimea plantei și lungimea aristelor.	328	Lundqvist U., Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol.47, pp.120-122., Verderio G., 2015,148 p. [258]
25	Semipitic1 Semidwarf 1	<i>sdw1</i>	3HL	Plante semipitice, cu 10-30% mai joase decât cele normale. Lungimea spicului este variabilă. Frunzele sunt mici. Înspicarea este întârziată. Mutanții sunt sensibili la giberilină.	Monofactoria lă recesivă.	Micșorează înălțimea plantei, lungimea spicului și are efect pleiotropic ce duce la mărirea numărului de lăstari secundari.	518	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol.47, p.168
26	Pitic semiminut 1 Semi-minute dwarf 1	<i>min1</i>	4HL	Înălțimea plantelor este cu 1/2 mai joasă ca forma inițială. Spicele și aristele sunt puțin mai scurte, Numărul de lăstari secundari, spiculețe per spic, boabe per spic este mai redus.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei, lungimea spicului, aristelor și numărul spiculețelor, boabelor per spic.	161	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, pp. 97-98.
27	Pai scurt Short culm	<i>hcm1</i>	2HL	Înălțimea plantelor homozigote pentru gena alelă <i>hcm1.a</i> este cu cca 10 cm mai mică decât la plantele normale. Densitatea spicului este puțin mai mare, din cauza micșorării lungimii internodurilor rahisului.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei și lungimea internodurilor rahisului spicului. Gena alelă <i>hcm1.a</i> este lincată cu gena <i>vrs1.a</i> .	77	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 1997. vol.26,p.115
28	Pitic zvelt 1 Slenderdwarf 1	<i>sld1</i>	3HL	Talia plantei este redusă cu 1/2 - 2/3 de la înălțimea normală. Dezvoltarea plantei este întârziată, iar plantele au o culoare galben-verzui deschisă. Numărul și greutatea boabelor per spic este redusă, producția de boabe	Monofactoria lă recesivă.	Reglează înălțimea și mărirea organelor. Micșorează înălțimea plantei, numărul și greutatea boabelor.	126	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2011, vol. 41,pp.103-104.

				este cu 30% mai mică. Distribuția frunzelor este modificată, având pedunculul relativ lung.				
29	Pitic zvelt 2 Slenderdwarf 2	<i>sld2</i>	2HS	Plantele mutante au un pai scurt și subțire, frunze înguste, spice scurte și laxe, boabe șiștave. Frecvența plantelor semipitice cu maturare târzie este scăzută.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce lungimea paiului, spicelor și boabelor. Gena alelă <i>sld2.b</i> este lincată cu gena <i>Eam1</i> (maturitate timpurie).	83	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44,p.74.
30	Pitic subțire 3 Slenderdwarf 3	<i>sld3</i>	4HS	Plantele sunt cu 3/4 mai joase decât forma inițială și prezintă vigoare redusă. Numărul spiculețelor per spic este cu 3/4 mai redus, iar boabele sunt mai mici. Internodurile rahisului pot fi puțin mai lungi și producția de boabe este cu 3/4 mai mică.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei, numărul și mărimea boabelor.	186	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2018, vol.48, pp.97-98.
31	Pitic subțire 4 Slenderdwarf 4	<i>sld4</i>	2HS	Plantele au vigoare redusă și sunt de culoare verde deschis în timpul stadiilor timpurii de creștere. Înălțimea variază de la 1/2 la 3/4 din cea normală. Perioada de înspicare poate fi întârziată cu 10 zile. Numărul spiculețelor fertile per spic este cu 2/3 mai mic. Aspectul boabelor variază de la șiștave la normal în dependență de gradul de întârziere a perioadei de înspicare.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei, numărul spiculețelor fertile, perioada de înspicare.	100	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol.43,pp.:72-73.
32	Pitic subțire 5 Slenderdwarf 5	<i>sld5</i>	3HS	Plantele prezintă vigoare redusă și au boabe șiștave. Înălțimea plantelor este cu 2/3 mai mică. Plantulele mutante sunt insensibile la tratamentul cu acidul gibirelic.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează înălțimea și mărimea organelor. Reduce înălțimea și vigoarea plantelor.	144	Franckowiak. J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, pp.90-91.
33	Pitic subțire 6 Slenderdwarf 6	<i>sld6</i>	1H	Înălțimea plantelor este redusă, funzele sunt foarte scurte și puțin mai înguste.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei, lațimea și lungimea frunzelor.	242	Franckowiak. J.D. 2018. In: <i>Barley Genetics</i>

								<i>Newsletter</i> . vol.48, pp.117-118.
34	Pitic subțire 7 Slenderdwarf 7	<i>sld7</i>	4HL	Înălțimea plantelor este redusă, se formează un număr mic de lăstari secundari.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei și numărul lăstarilor secundari.	194	Franckowiak. J.D. 2013. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . vol.43, pp.101.
35	Pitic subțire 8 Slenderdwarf 8	<i>sld8</i>	7HS/ 4HL	Plantele sunt cu 3/4 mai joase și au pedunculul spicului îndoit, care are o lungime cu 2/3 mai mică. Greutatea boabelor este redusă cu 10-15%.	Monofactoria lă recesivă.	Reduce înălțimea plantei, lungimea pedunculului spicului și greutatea boabelor.	49	Franckowiak. J.D. 2013. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . vol.43, pp.63.
36	Subțire1 Slender1	<i>sln1</i>		Plantele sunt pitice, cu frunze scurte din cauza nesensibilității la gibirilină.	Dominantă	Reduce înălțimea plantei și lungimea frunzelor.	–	Chandler et al., 2002 [57]
37	Unic2 Uniculm2	<i>cul2</i>	6HL	Plantele nu formează lăstari secundari, paiul este de obicei drept și are un diametru mai mare. Perioada de înspicare a formelor mutante are loc mai devreme. Boabele sunt mai lungi și mai late, au o greutate medie mai mare. Plantele inițiază meristeme axilare vegetative, dar lăstarii nu se dezvoltă.	Monofactoria lă recesivă.	Coordonarea căilor de semnalizare și răspunsul la stres și integrarea lor în dezvoltarea meristemelor axilare. Inhibarea formării lăstarilor secundari.	253	Franckowiak. J.D. 2013. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . vol.43,pp.112- 113. Okagaki et al., 2013, [200]
38	Unic 3 Uniculme3	<i>cul3</i>	3HL	Plantele au doar un lăstar secundar, care este mai mare și mai subțire comparativ cu cele ale plantelor normale. Spicele sunt laxe și malformate cu spiculete laterale suplimentare la unele noduri ale rahisului. Primul internod al rahisului bazal este uneori curbat.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează numărul de lăstari secundari și morfologia spicului. Inhibarea formării lăstarilor secundari.	616	Franckowiak. J.D. A. Kleinhofs. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol.43,p.161.
39	Unic 4 Uniculme4	<i>cul4</i>	3HL	Plantele produc de la 1 până la 4 lăstari secundari și au internodurile paiului ușor înclinate. Toți lăstarii	Monofactoria lă recesivă.	Controlează diferențierea mugurilor axilari, numărul de	617	Franckowiak. J.D. Lundqvist U. 2016. In:

				secundari sunt mai scurți decât lăstarul primar și au un aspect ondulat și deseori sunt prinși la bază de lăstarul principal.		lăstari secundari și morfologia spicului.		<i>Barley Genetics Newsletter</i> . 46:132-133.
Morfologia și dezvoltarea spicului								
1	Rahis nefragil 1 Non-brittle rachis 1 Rahis nefragil 2 Non-brittle rachis 2	<i>btr1</i> <i>btr2</i>	3HS	Rahisul spicului nefragil. Articulațiile de la nodurile spicului sunt dure, ceea ce previne dezarticularea rahisului înainte de maturitate.	Monofactorială recesivă, puternic linkată	Modifică compoziția peretelui celular	115 116	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol. 48, p. 78-79 Pourkheirandish M., Hensel G., Kilian B., et al, In: <i>Cell</i> . 2015, vol.162(3), p.527-39. [214]
2	Treabilitatea boabelor 1 Treshability-1	<i>thres</i> <i>h-1</i>	1HL	Boabe cu ariste și rahis greu de înlăturat.	Monofactorială recesivă	Reglează gradul de desprindere a aristelor și boabelor de la rahis. Modifică compoziția peretelui celular.	—	Schmalenbach I. March T.J., Bringezu, T.; et. al. In: <i>G3 Genes Genomes Genet</i> . 2011, vol.1, p. 187-196 [233].
3.	Spic cu șase rânduri 1 Six-rowed spike 1	<i>vrs1</i>	2HL	Spiculețele laterale bine dezvoltate	O serie alelică multiplă cu interacțiuni incomplete ale alelelor dominante.	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	6	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2007 vol.37, p.192-194
4.	Spic cu șase rânduri 1 Six-rowed spike 1	<i>vrs1</i> . <i>c</i>	2HL	Spiculețele centrale au ariste lungi. Spiculețele laterale au flori normale și fertilitate completă.	Dominantă incompletă în seria alelică multiplă a locusului	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor. Reduce aristele spiculețelor laterale.	58	Konishi T., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 1997

					<i>vrs1.</i>			, vol. 26, p. 94
5.	Spic cu două rânduri 1 Two-rowed spike 1	<i>Vrs1.d</i>	2HL	Spicul cu spiculețele laterale sterile, într-un număr mai mare în comparație cu <i>Vrs1.b</i>	Parțial dominantă în seria alelică multiplă a locusului <i>vrs1.</i>	Împiedică dezvoltarea ovulelor și aristelor în spiculețele laterale. Alela <i>Vrs1.d</i> interacționează cu alela <i>Int-c.</i>	66	Franckowiak J.D. Barley Genetics Newsletter.1997 , vol. 26, p.103
6.	Spic deficient 1 Deficiens 1	<i>Vrs1.t</i>	2HL	Spic cu 2 rânduri de spiculețe, spiculețele laterale extrem de reduse în mărime	Monofactoria lă incomplet dominantă	Suprimă dezvoltarea spiculețelor laterale	67	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017,vol. 47, p.57-58.
7.	Spic cu șase rânduri 2 Six-rowed spike 2	<i>vrs2</i>	5HL	Spicul cu 6 rânduri de spiculețe fertile, spiculețele laterale la vârful și baza spicului sunt reduse în mărime și mai mult sau mai puțin pedicelate. Aristele spiculețelor laterale sunt scurte sau lipsesc.	Monofactoria lă recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor. Codifică regulatorul transcripțional SHORT INTERNODES (<i>SHI</i>) și astfel contribuie la dezvoltarea lăstarilor și ainflorescențelor secundare.	314	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.113-114
8.	Spic cu șase rânduri 3 Six-rowed spike 3	<i>vrs3</i>	1HL	Jumătatea superioară a spicului are 6 rânduri, dar spiculețele în jumătatea inferioară sunt reduse în mărime. Partea bazală a spicului pare să fie cu 2 rânduri. Spiculețele laterale sunt fertile doar în jumătatea superioară a spicului. Aristele de lungime normală sunt prezente la spiculețele laterale din vârful spicului și lipsesc la bază. Spiculețele centrale deseori sunt dublu-aristate.	Monofactoria lă recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	315	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> , 2017, vol. 47, p.115-117
9.	Spic cu șase rânduri	<i>vrs4</i>	3HL	Jumătatea superioară a spicului are	Monofactoria	Sporește fertilitatea	124	Lundqvist U.,

	4 Six-rowed spike 4			spiculețe laterale mari fertile ce pot dezvolta boabe mai mici comparativ cu spiculețele centrale. Rahila poate fi parțial deformată de formarea unui spiculeț suplimentar	lă recesivă	spiculețelor laterale și formarea de spiculețe suplimentare de diferite grade de dezvoltare. Reglează expresia <i>vrs1</i> și determină numărul de rânduri. Această genă este implicată reglarea expresiei genei <i>compositum2</i> ,		Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.76-78, Poursarebani N. In: <i>Genetics</i> . 2015, vol.115, pp.155-165 [215].
10.	Spic intermediar-b Intermedium spike-b	<i>int-b</i>	5HL	Spicul se aseamănă cu spicul cu 6 rânduri, dar iregularitățile în dezvoltare apar de obicei în partea inferioară a spicului. Toate spiculețele laterale au dimensiune redusă, iar aristele sunt scurte.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor. Codifică regulatorul transcripțional SHORT INTERNODES (<i>SHI</i>) și astfel contribuie la dezvoltarea inflorescenței și a lăstarilor secundari. Gena mutantă <i>int-b</i> este alelă cu <i>vrs2</i> .	320	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.118-119
11.	Spic intermediar-c Intermedium spike-c	<i>int-c</i>	4HS	Vârful lemei spiculețelor laterale sunt rotunjite sau puțin rotunjite cu ariste scurte sau nearistate. Există o variabilitate în dezvoltarea spiculețelor laterale care sunt dependente de condițiile mediului. Spiculețele laterale de la baza spicului pot fi slab dezvoltate la unii mutați, în timp ce la alți mutați toate spiculețele laterale sunt fertile.	Monofactoria lă recesivă	Modifică mărimea spiculețelor laterale. Genele mutante <i>int-c</i> sunt gene alele cu <i>vrs5</i> .	178	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.91-92
12.	Spic intermediar-f Intermedium spike-f	<i>int-f</i>	2HS/ 3HL	Spicul se aseamănă cu spicul cu 6 rânduri, dar spiculețele laterale sunt mult mai mici, mai puțin din jumătate	Monofactoria lă recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	543	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley</i>

				din dimensiunea spiculețelor centrale. Spiculețele laterale sunt ascuțite și deseori au ariste scurte, boabe se formează în spiculețele laterale din partea superioară a spicului. Baza spicului are internodurile rahisului prescurtate și se aseamănă cu spicul erect.				<i>Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, p.178
13.	Spic intermediar-h Intermedium spike-h	<i>int-h</i>	5H	Spiculețele laterale sunt mărite și au un apex ascuțit, dar sunt sterile. Perioada de înspicare a plantelor mutante este timpurie și au un internod bazal alungit al rahisului. Spicul se aseamănă cu un spic lax, cu internodurile rahisului scurtate la baza.	Monofactoria la recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	544	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, p.179
14.	Spic intermediar-i	<i>int-i</i>	2HS	Spiculețele laterale sunt mărite și ușor ascuțite la vârf, sterile, iar spiculețele centrale semisterile. Vârful spicului are internodurile rahisului foarte scurte și spicul are aspectul unui spic dens sau fasciat.	Monofactoria la recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	545	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2011, vol. 41, p.181
15.	Spic intermediar-k Intermedium spike-k	<i>int-k</i>	7H	Spicul este scurt și dens. Spiculețele laterale sunt mărite cu vârful ascuțit, și ocazional aristate, sterile iar spiculețele centrale semisterile. Plantele au suprafață acoperită cu ceară.	Monofactoria la recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	546	J.D. Franckowiak and U. Lundqvist. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, p.180
16.	Spic intermediar-m Intermedium spike-m	<i>int-m</i>	5HL	Spicul este foarte scurt și are lungimea neregulată a internodurilor rahisului. Spiculețele laterale sunt mărite cu vârful ascuțit, sterile. La bază spicul are o densitate mărită a	Monofactoria la recesivă	Modifică dezvoltarea spiculețelor laterale și aristelor.	547	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> .

				spiculețelor. Înfrățirea plantelor <i>int-m</i> este mărită și perioada de înspicare mai timpurie. Internodurile rahisului de la vârful spicului sunt foarte scurte și spicul pare să aibă două sau trei spiculețe terminale alipite.				2014, vol. 44, p.181-182
17.	Spic labil 1 Labile1	<i>lab 1</i>	5HL	Dezvoltarea internodurilor rahisului spiculețelor este variabilă și se caracterizează prin lipsa boabelor sau un număr variabil de spiculețe fertile la fiecare nod al rahisului în spicul cu 6 rânduri. Spiculețele laterale lipsesc mai des ca cele centrale.	Monofactoria lă recesivă, dar pentru expresia acestei gene este necesară prezența alelei <i>vrs1.a</i>	Modifică dezvoltarea spiculețelor la nodul rahisului. Genele mutante <i>lab1.a</i> au alela <i>vrs1.a</i> la locusul spicul cu 6 rânduri 1.	730	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2016, vol. 46, p.137-138 Youssef, H.M.et al. In: <i>Theor. Appl. Genet.</i> 2014, vol.127, p.1123–1131[287]
18.	Spic ramificatcu multe rânduri Poly-row-and-branched spike	<i>prbs</i>	3H	Spic ramificat. Se dezvoltă meristeme noi, din care se formează ramificații	Monofactoria lă recesivă.	Modifica morfologia inflorescenței în două moduri: (i) determină conversia a spiculețelor laterale rudimentare specifice genotipurilor cu două rânduri în spiculețele fertile; (ii) determinarea dezvoltarea spiculețelor suplimentare în mijlocul spicului, rezultând într-un spic ramificat.	-	Shang Y., Zhu J., Hua W.In: <i>Genes Genom.</i> 2014, vol.36, p. 275–282 [239] Terzi V, Tumino G, Pagani D, et al., <i>Diversity</i> 2017; No.9, vol.21, p.1-16. [260]
19.	Spic ramificat 1 Compositum 1	<i>com1</i>	5HL	Spic ramificat în partea inferioară a spicului, de la 1-10 spiculețe. Ramurile sunt îndreptate în diferite direcții.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează ramificarea spicului. Expresia genei mutante este influențată de temperatura și	473	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics</i>

						condițiile mediului.		<i>Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.135-136
20.	Spic ramificat 2 Compositum 2	<i>com2</i>	2HS	Spic ramificat în partea bazală a spicului. Ramurile se formează din nodurile rahisului.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează ramificarea spicului. Expresia genei mutante este influențată de temperatură și condițiile mediului.	71	Franckowiak J.D. Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2015, vol. 45, p. 95-96
21	Spic dens 1 Dense spike 1	<i>dsp1</i>	7HS	Lungimea spicului este redusă deoarece internodurile rahisului sunt 2/3 mai scurte. Plantele sunt puțin mai joase. Greutatea boabelor cu 10% mai mica.	Monofactoria lă recesivă	Reglează lungimea internodurilor rahisului spicului. Gena <i>dsp1.a</i> are efect pleiotropic asupra lungimii coleoptilului, paiului și mărimii bobului.	9	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol. 43, p.50-53
22	Spic dens 10 Dense spike 10	<i>dsp10</i>	3HS	Spice cu lungimea internodurilor rahisului de 2,8-3,4 mm. Plantele sunt cu 5-16% mai joase. Numărul și greutatea boabelor similare cu cele ale plantelor martor.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează lungimea internodurilor rahisului spicului și astfel densitatea spicului. Are efect pleiotropic asupra lungimii coleoptilului, paiului și mărimii bobului.	111	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2018, vol. 48, p.84-85
23	Spic dens 11 Dense spike 11	<i>dsp11</i>	1HL	Plantele cu talie mai joasă cu spic compact, lungimea internodurilor rahiale variază între 3,5-4,6 mm. Boabele sunt mai scurte.	Monofactoria lă dominantă incomplet.	Reglează lungimea internodurilor rahisului spicului și astfel densitatea spicului. Are efect pleiotropic asupra lungimii coleoptilului, paiului și mărimii bobului.	244	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2011, vol. 41, p.121-122
24	Spic dens 9 Dense spike 9	<i>dsp9</i>	6HL	Spicul este foarte dens și se distinge ușor de plantele ce nu conțin această	Monofactoria lă recesivă.	Reglează lungimea internodurilor rahisului	258	Franckowiak J.D. In: <i>Barley</i>

				mutație. Internodurile rahisului sunt foarte scurte - 2.3 mm. Talia plantelor este cu 2/3 mai mică.		spicului și astfel densitatea spicului. Are efect pleiotropic asupra lungimii coleoptilului, paiului și mărimii bobului.		<i>Genetics Newsletter</i> .2017 , vol. 47,p.107-108
25	Spic dens-1 Zeocriton 1 (orz mic)	<i>Zeo1</i>	2HL	Spicul este foarte compact, cu boabe mari care are forma unei piramide, internodurile rahisului sunt foarte scurte-1,4-1,8 mm. Numărul boabelor este cu 2-4 boabe mai mare. Glumele exterioare, asociate cu spiculețele laterale, sunt mari(de 3-4 ori), cu ariste lungi și fertilitate redusă. Paiul este scurt. Spicul apare din partea laterală a tecii.	Monofactoria lă dominantă incomplet.	Reglează lungimea internodurilor rahisului spicului și astfel densitatea spicului. Este asociat cu locusul factorului de <i>APETALA2 (AP2) (HvAP2)</i> . Această mutație apare în ultimul intron al genei <i>HvAP2 (cly1)</i> , locul de legarea a Hv-miR172 și împiedică scindarea <i>ARNm HvAP2</i> .	82	Franckowiak J.D., Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017. vol. 47, p. 63-64.
26	Spic dens-2 Zeocriton 2	<i>Zeo2</i>	2HL	Spicele acestui mutant sunt compacte, au formă tipică celor cu 2 rânduri și cu 2-4 boabe mai mult în comparație cu plantele ce nu au această mutație.	Monofactoria lă semidominantă.	Nu au fost observate efecte secundare ale acestei gene asupra înălțimei plantei. Cleistogamia (înflorirea închisă) este asociată cu reducerea lungimii internodurilor rahisului.	614	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.177-180
27	Spic dens-3 Zeocriton 3	<i>Zeo3</i>	2HL	Spic dens cu vârful plat și internodurile rahisului scurte-3,3 mm. Gradul de reducere a internodurilor este mai mic în comparație cu mutații <i>Zeo1</i> și <i>Zeo2</i> .Spicele au cu 1- 2boabe mai mult în comparație cu plantele ce nu conțin această mutație.	Monofactoria lă dominantă.	Reglează lungimea internodurilor rahisului spicului și astfel densitatea spicului. La unii mutații s-a observat efectul asupra înălțimii plantei, numărului de lăstari	184	Franckowiak J.D. Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> .2017 , vol. 47, p. 95-97

						secundari, numărul și calitatea boabelor.		
28	Spic lax-a Laxatum-a	<i>lax-a</i>	5HL	Spic lax. Floarea are 5 stamine. Boabele sunt șiștave, iar cariopsele sunt expuse între lemă și palee. Aristele au o bază foarte lată, fără o delimitare strictă în regiunea de atasare a lemei. Lungimea internodurilor rahiali este cu aproximativ 15% mai mare decât forma inițială. Lăstarii secundari cresc sub unghi oblic și astfel îi conferă plantei un aspect de tufă.	Monofactoria lă recesivă.	Are efect pleiotropic asupra lungimii internodurilor rahisului, marimii lemei și lungimii aristelor. Contribuie la mărirea acestor indici. Modifică lodiculele în două stamine adiționale. Gena <i>HvLax-a</i> este paralog ² cu gena <i>HvCul4</i> care e implicată în reglarea primară a morfologiei spicului și numărului de lastari.	474	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2010, vol. 46, p.113-115
29	Spic lax-b Laxatum-b	<i>lax-b</i>	6HL	Plantele sunt subțiri și scurte (3/4 din înălțimea normală), spicile sunt laxe cu numărul redus de spiculețe per spic. Boabele sunt mici cu endospermul rugos(xenia), care este evidențiat în stare heterozigotă.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	268	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, p.113
	Spic lax-c Laxatum-c	<i>lax-c</i>	6HL	Boabele sunt subțiri și colșuroase, iar cariopsele sunt expuse între lemă și palee. Aristele au o bază foarte lată. Lungimea internodurilor rahiali este cu aproximativ 7% mai mare decât forma inițială. Deseori vârful spicului are spiculețe sterile și numărul lăstarilor secundari este redus.	Monofactoria lă recesivă.	Controlază densitatea spicului	475	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2011, vol. 41, p.174
30	Spic lax-d Laxatum-d	<i>lax-d</i>	-	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 6% mai mare decât forma inițială. Plantele sunt mai	Monofactoria lă dominantă incomplet.	Reglează densitatea spicului.	476	Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics</i>

				înalte și relativ viguroase. Boabele sunt mai lunguțe.				<i>Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.139
31	Spic lax-f Laxatum-f	<i>Lax-f</i>	-	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 14% mai mare decât forma inițială. Greutatea boabelor este mai mică.	Monofactoria lă dominantă.	Reglează densitatea spicului.	477	Lundqvist U. <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2018, vol. 48, p.151
32	Laxatum-g	<i>lax-g</i>	-	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 8% mai mare decât forma inițială și plantele mutante prezintă sterilitate și formează un număr redus de lăstari secundari.	Monofactoria lă dominantă incomplet.	Reglează densitatea spicului.	478	Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.140
33	Spic lax-h Laxatum-h	<i>lax-h</i>	3H	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 20% mai mare decât forma inițială. Spicul are unele spiculețe sterile. Boabele sunt relativ subțiri și unghiulare.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	479	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.142-143
34	Spic lax Laxatum-i	<i>lax-i</i>	-	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 18% mai mare decât forma inițială. Plantele mutante prezintă sterilitate parțială, au ariste răsucite și boabe mici unghiulare.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	480	Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.144
35	Spic lax-j Laxatum-j	<i>lax-j</i>	2H	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 24% mai mare decât forma inițială. Plantele formează mai puțini lăstari secundari. Aristele sunt ușor răsucite. Formarea boabelor este redusă și boabele sunt unghiulare.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	481	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.145-146
36	Spic lax-k Laxatum-k	<i>lax-k</i>	2H/3H	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 4% mai mare decât forma inițială. Plantele mutante	Monofactoria lă dominantă incomplet.	Reglează densitatea spicului.	482	Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> .

				au limbul foliar îngust de culoare verde-închis și boabe foarte subțiri.				2017, vol. 47, p.147
37	Spic lax-l Laxatum-l	<i>lax-l</i>	1H	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 23% mai mare decât forma inițială. Spicele prezintă sterilitate. Aristele sunt ușor răsucite, limbul foliar este relativ mare, iar boabele sunt mari și ungiulare.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	483	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.148
38	Spic lax-m Laxatum-m	<i>lax-m</i>	-	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 16% mai mare decât forma inițială. Plantele au limbul foliar de culoare verde-deschis. Aristele sunt răsucite. Greutatea boabele redusă.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	484	Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47,p.149
39	Spic lax-n Laxatum-n	<i>lax-n</i>	2H/4H L/5H	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 4% mai mare decât forma inițială. Aristele sunt răsucite. Frunzele înguste. Greutatea boabele redusă.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	485	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.150-151
40	Spic lax-o Laxatum-o	<i>lax-o</i>	-	Lungimea internodurilor rahisului este cu aproximativ 16% mai mare decât forma inițială. Plantele sunt relativ vigurose. Nodurile rahiale din partea superioară a spicului au spiculețe sterile mari. Lungimea arisotelor este redusă și boabele sunt relativ lungi.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează densitatea spicului.	486	Lundqvist U. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2017, vol. 47, p.152
41	Lemă cu glugă 1 Hooded lemma 1	<i>Kap-1</i>	4HS	Caracterul “gluga” se caracterizează prin prezența unui apendice la lemă, care se dezvoltă ca o structură trifurcată ce consă dintr-o inflorescență deformată în centru cu două proeminente asemănătoare unor	Monofactoria lă dominantă	Modifică dezvoltarea lemei și aristei spicului. Expresia ectopică a alelei <i>Kap1.a</i> formează inflorescența suplimentară și este	152	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 1997, vol. 26, p.179-180

				frunzulițe, numite aripile lemei. Inflorescența suplimentară deseori posedă stamine cu polen fertil și se potforma boabe.		asociată cu prezența unei duplicări de 305 perechi de baze în intronul 4 al secvenței <i>Knox3</i>		
42	Lemă cu glugă-b Calcaroides-b	<i>cal-b</i>	5HL	În vârful lemei în poziția ce corespunde tranziției între lemă și aristă este o structură ectopică în formă de călcâi. Deseori, se evidențiază o lărgire a părții bazale a aristei și aceasta este mai expresată la spiculețele terminale și subterminale. Deasemenea sunt prezente frunze încrețite.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea lemei și aristei spicului. Malformația aristei mutantului <i>cal-b.2</i> este asociată cu activarea dezvoltării triadei fitomerice ce disparte lema de aristă.	620	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol.44, p.197-198
43	Lemă cu glugă-c Calcaroides-c	<i>Cal-c</i>	5HL	În vârful lemei în poziția ce corespunde tranziției între lemă și aristă, mutantul <i>Cal-c</i> poartă o structură ectopică bine organizată, în formă de sac, Arista distală este scurtă și dezvoltă aripioare mici, contrar fenotipului <i>Kap1 (hooded lemma 1)</i> , la care sacul nu se dezvoltă. Se constată noduri ale frunzei și lipsa încrețirii frunzelor. Malformația mutantului <i>Cal-c</i> este cauzată de activarea dezvoltării triadei fitomerice ce disparte lema de aristă. Expresia fenotipului <i>Cal-c</i> este strict homozigot și mai pronunțată la spiculețele din apropierea vârfului spicului.	Monofactoria lă dominantă.	Modifică dezvoltarea lemei și aristei spicului.	621	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2011, vol. 41, p.195-196
44	Lemă cu glugă-d Calcaroides-d	<i>cal-d</i>	3H	În vârful lemei în poziția ce corespunde tranziției între lemă și aristă, mutantul <i>cal-d</i> poartă o structură ectopică bine organizată, un sac. Mutantul <i>cal-d</i> poartă o aristă	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea lemei și aristei spicului.	146	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> .

				distală scurtă. Contrar fenotipului <i>Kap1</i> (<i>Hooded lemma 1</i>), sacul nu se dezvoltă într-o floare epifită. Malformația mutantului <i>cal-d</i> este cauzată de activarea dezvoltării triadei fitomerice ce disparte lema de aristă.				2010, vol 40, p.58-59
45	Lemă cu glugă-e Calcaroides-e	<i>cal-e</i>	5HS	În vârful lemei în poziția ce corespunde tranziției între lemă și aristă, mutantul <i>cal-e</i> are o structură ectopică distinctivă, care include un sac, apendicele sacului, și aripioarele aristei. Mutantul <i>cal-e</i> poartă o aristă distală scurtă. Contrar fenotipului <i>Kap1</i> (<i>Hooded lemma 1</i>), sacul nu se dezvoltă într-o floare epifită.		Modifică dezvoltarea lemei și aristei spicului.	622	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2002, vol.32, p.123
46	Aristă scurtă și strîmbă 1 Short crooked awn 1	<i>sca-1</i>	3HS	Aristele spicului sunt reduse în lungime cu 2 cm și sunt curbate la vârf spre exterior. Vârful aristei pot avea aspectul asemănător stigmatului.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea aristelor spicului.	128	Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, p. 85
47	Glugă adiacentă 1 Subjacent hood 1	<i>sbk-1</i>	2HS	Spre deosebire de mutații <i>Kap1</i> (<i>Hooded lemma 1</i>), apendicele lemei sau modificările lui sunt situate undeva sub vârful lemei. Modificările lemei pot include o cavitate asemănătoare unei cupe sau sac. Cavitatea asemănătoare unei glugi este lipsită de rudimente a organului floral. În unele alele sunt prezente noduri ale frunzei și încrețirea lor.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea lemei și aristei. În stare homozigotă gena <i>sbk1.a</i> este epistatică cu genele <i>e Kap1.a</i> (<i>Hooded lemma 1</i>) și cu <i>Lks1.a</i> (<i>Awnless 1</i>) genes.	62	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2018, vol. 48, p.75-76
50	Nearistat 1 Awnless 1	<i>Lks1</i>	2HL	Lema este lipsită de apendice sau se dezvoltă un apendice mic. La plantele	Monofactoria lă dominantă.	Modifică dezvoltarea lemei și aristei spicului.	75	Franckowiak J.D. In: <i>Barley</i>

				heterozigote spicele pot fi nearistate sau aristate în dependență de fondalul genetic. Alela <i>Lks1.a</i> în plantele nearistate nu se recombina cu alela <i>vrs1</i> (<i>six-rowed spike 1</i>) din cauza unei inversii paracentrice scurte prezente la plantele ce conțin alela <i>Lks1. a</i> .				<i>Genetics Newsletter</i> . 2011, vol. 41, p. 84-85
51	Ariste scurte2 Short awn 2	<i>lks2</i>	7HL	Aristele spicuțelor centrale și a celor laterale sunt reduse cu 3/5 din lungimea normală. Textura aristei scurte este mai fină și mai flexibilă decât arista lungă, în special la genotipurile <i>non-uzu</i> . Greutatea boabelor la plantele <i>lks2</i> este puțin redusă și numărul de boabe per spic este puțin mai mare.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea aristelor spicului.	10	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2015, vol.45, p. 80-83
52	Ariste scurte 5 Short awn 5	<i>lks5</i>	4HL	Aristele spicuțelor centrale și a celor laterale sunt reduse cu 1/4 de la lungimea normală la soiurile cu 6 rânduri. La soiurile cu 2 rânduri doar spiculețele centrale prezintă ariste cu lungime redusă. Rahila este deseori modificată, și în cazuri extreme rahila se poate dezvolta ca o inflorescență malformată adițională. Aristele sunt subțiri și fragile.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea aristelor spicului. Prezența alelei mutante <i>lks5.p</i> este necesară pentru expresia genei <i>leafy lemma 1 (lel1.a)</i> .	172	Lundqvist U., Franckowiak J.D. 2017. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> , vol. 47, p. 89-90
53	Ariste scurte 6 Short awn 6	<i>lks6</i>	1H/5H /6H	Aristele la plantele <i>lks6.q</i> sunt mai scurte cu jumătate din lungimea normală. În rest, caracterele morfologice sunt asemănătoare celor normale.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea aristelor spicului.	724	A. Kleinhofs Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013. vol.43, p.219
54	Caroiopsă nudă 1 Naked caryopsis 1	<i>nud1</i>	7HL	Lema și paleea nu aderă la cariopsă și boabele sunt golașe la coacerea	Monofactoria lă recesivă.	Reglează depunerea de lipide pe epiderma	7	Franckowiak J.D. In: <i>Barley</i>

				deplină. Caracterul cariopse nude nu este influențat de condițiile mediului. Gena mutantului <i>nud1.a</i> reduce expresia a 10-20% din caractere precum înălțimea plantei, greutatea boabelor și paramentrii calitativi ai malțului.		pericarpului cariopsei.		<i>Genetics Newsletter</i> . 2014, vol. 44, p.51-53
55	Cariopsă seminudă 1 Seminudoides 1	<i>smn1</i>	3H/5H	Cariopsele plantelor <i>smn1</i> sunt parțial acoperite, deoarece între marginile lemei și ale paleei se formează goluri. Aderența lemei și paleei la pericar este slabă, dar boabele nu se treiera liber de coajă la maturitate. Numărul lăstarilor secundari și productivitatea boabelor este deseori redusă.	Monofactoria lă recesivă.	Reglează depunerea de lipide pe epiderma pericarpului cariopsei.	38	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2013, vol.43, p.58
56	Lemă frunzoasă 1 Leafy lemma 1	<i>lel1</i>	2H	Forma lemei este asemănătoare unei frunze tipice pentru erbaceae, în miniatură. Lema de forma frunzei are o zonă bazală mai largă și mai alungită, o zonă de tranziție, și domeniul distal similar ca formă limbului foliar.	Monofactoria lă recesivă.	Modifică dezvoltarea lemei și aristelor spicului. Pentru expresarea deplină a genei mutante <i>lel 1</i> este necesară prezența genei <i>lks2</i> , dar în variant cu lemă frunzoasă este necesarăalela <i>lks5</i> .	235	Lundqvist U., Franckowiak J.D. In: <i>Barley Genetics Newsletter</i> . 2016, vol.46, p.74

Tabelul A1.2 Clasificarea fenotipică a mutațiilor clorofiliene la plantulele de orz după Lundqvist U.[167].

Genotip	Fenotip
<i>albino</i>	Limb foliar alb lipsit de clorofilă și carotenoizi
<i>viridis (lutescens, virescens și chlorina)</i>	Un grup foarte heterogen caracterizat prin plantule cu limb foliar de culoare verde-pal sau verde-gălbui. Aceste mutații sunt viabile.
<i>xantha</i>	Limb foliar de culoare galben-pal, la care prevalează carotenoizii sau nu se produce clorofila
<i>alboxantha</i>	Limb foliar cu vârful alb, baza galbenă
<i>xanthalba</i>	Limb foliar cu vârful galben, baza albă sau slab colorată
<i>alboviridis</i>	Plantule cu limb foliar cu vârful alb, baza verde sau verde-gălbuie
<i>virido-albina</i>	Limb foliar cu vârful mai mult sau mai puțin verde sau galben-verzui, baza albă
<i>tigrina</i>	Distribuirea transversală a pigmentului pe limbul foliar, dungi transversale de obicei de culoare brună sau galbenă, înguste și lipite
<i>striata</i>	Limb foliar cu dungi longitudinale de culoare galbenă sau albă
<i>maculata</i>	Distrușgerea clorofilei și carotinei în formă de puncte distribuite pe tot limbul foliar
<i>zonata</i>	Benzi pale și întunecate, asemenea unor zone răspândite pe limbul foliar

Tabelul A 1.3 Clasificarea fenotipică a mutanților de orz obținuți prin mutagenază
(după [Lundqvist U. [165] cu completare)

Nr.	Denumire grup	Fenotip	Simbolul locusului genei mutante
1	Prematurum	În spicare timpurie	eam, mat
2	Eceriferum	Frunze lucioase, Teacă lucioasă	cer, glf, gsh
3	Plante verticale	Creștere erectă	-
4	Spice neregulate	Spic deformat	Def
		Spic ramificat	Brc
		Numărul rândului neregulat	Vrs
5	Mutanți rezistenți la făinare	Reacție la făinare	ml, Reg
6	Breviaristatum	Brachytic	Brh
7	Laxatum	Spiclax	Lax
8	Compositum	Spicramificat	com, brc
9	Globosum	Bobsferic	Glo
10	Mutanți antociani	Mai puțin antocian	Ant
		Fără pro antocianidină	Ant
		Bogat în antocian, pai roșu	Rst, Ant
11	Hexastichon	Spic cu șase rânduri	vrs1 alele
12	Intermedium	Spic cu șase rânduri	int, vrs
13	Maculosus	Pete necrotice dăunătoare	Mac
14	Gigas	Plantă uriașă	Gig
15	Macrolepis	Gluma externă alungită	Eog
16	Erectoides	Dense spike	ert, dsp
17	Pyramidatum	Spic în formă de piramidă	Pyr
18	Zeocriton	Spic compact dominant	Zeo
19	Extra floret	Spiculeț central suplimentar	Flo
20	Calcaroides	Glugă subiacentă	cal, sbk
21	Bracteatum	Gluma a treia externă	bra, trd
22	Semințe duble	Boabe duble	Dub
23	Exauriculum	Fără ligulă	Lig
24	Ariste crețoase	Aristeră sucite	Caw
25	Ariste ofilite	Ariste firave	Waw
		Ariste dehiscente	Daw
26	Ariste lungi	Ariste lungi	Law
27	Frunză <i>Scirpoides</i>	Frunză îndoită	Scl
28	Limb foliar îngust	Limb foliar îngust, angustifolium	nlf, fol
29	Latifolium	Limb foliar lat	Blf

30	Frunză ofilită	Colapsul limbului foliar	Wlt
31	Mutanți cu paiul scurt	Semi pitici	Sdw
32	Pitic	Piticextrem	Dwf
33	Densinodosum	Mulți pitici nodați	den,mnd
34	Bob în formă lungă	Boblung	Lgk
35	Seminudooides	Cariopsă semi-golașă	Smn
36	Lemmă ascuțită la spiculețele laterale	Spiculeț lateral ascuțit	
37	Maturitate târzie	Înspicare întârziată	
38	Flavum	Vârf galben	
39	Rachisextensum	Intern odrahi alb azalacordeon	Yhd
40	Spic scurt	Numărul intern odului rahial mai mic	Lin
41	Frunze verde deschis	-	
42	Deficiens	Spiculețe laterale mici	sls, vrs
43	Necroticans	-	
44	Rachisextensum slab	Intern odul rahisului bazal alungit	rac, lbi
45	Exligulum	Ligulă mică sau fără ligulă	Eli
46	Pairigid	-	
47	Tulpină înaltă	Plantă înaltă	
48	Bob întunecat	Boabe brune	Brk
49	Aristă netedă	Aristă netedă, puțini ghimpi	Raw
50	Eburatum	Lema albino	ebu,alm
51	Spic lung	Mai multe boabe	
52	Înveliș bogat în ceară	Spic ceros	Wxs
53	Tulpină și spic fragil	Rahis și pai fragil	fst,btr
54	Creștere rapidă	Plante alungite	Slp
55	Robiginosum	Lema oranș	Rob
56	Viviparoides	Dezvoltare întârziată a spicului	Viv
57	Paiîndoit	Pai slab	Cur
58	Bikini	Ondulat	cur2
59	Bobmic	Bobmic	Smk
60	Bobmare	Bobmare	Lrk
61	Accordionrachis	Rahisacordeon	Acr
62	Uniculme	Unlăstar, lăstari ondulați	Cul
		Număr mic de lăstari	Lnt
63	Partea superioară a spicului sterilă	Vîrf steril	Tst
64	Mutanți cu spic îngust	Granum, bob îngust	Gra
65	Lăstari neregulați	Lăstari malformat	Mft
66	Pai fragil	Plante prinse ușor	

67	Glume alungite	Gluma externă alungită	Eog
68	Creștere Prostate	Lenos, răsucit	Srp
69	Spiculeț lateral schimbat	-	
70	Spiculeț lateral mare	Spiculeț lateral mare	vrs,int
71	Spiculeț lateral ondulat	Spiculeț lateral ondulat	CrI
72	Triaristatum	Lema tripluaristată	Trp
73	Mutanți cu ariste modificată	-	
74	Ariste moi (4)	-	
75	Ariste galbene (2)	Ariste galbene	Yaw
76	Mutanți cu limbul foliar modificat	-	
77	Modificări în culoarea galben (6), limb foliar galben (3)	Frunze galbene	Ylf
78	Limb foliar cu pete albe (3)	Pete albe foliare	Wls
79	Limb foliar ondulat (3)	Limb foliar răsucit	Cur
80	Limb foliar înfășurat (3)	Frunzâinformă de tub	Tlf
81	Limb foliar verde închis (1)	-	
82	Limb foliar brahitic	Lipsit de frunze (limb foliar mic redus?)	Lfl
83	Plantă tip ceapă	-	
84	Limb foliar <i>Crenatum</i>	Marginea frunzei dințată	Cre
85	<i>Scirpoides</i>	Spic <i>Scirpoides</i>	Sci
86	Frunza steag modificată	Lipsit de frunze (limb foliar mic)	Lfl
87	Spiculețe opuse	Lungimea internodului rahial variabilă	Ops
88	Diferiți mutanți	-	
89	Necroză oranj (2)	Pete necrotice	nec3
90	Spic suspendat (1)	Spic <i>Nodding</i>	
91	Multe glume pe spiculețele laterale (1)	-	
92	Număr mic de internoduri (1)	-	
93	Lipsite de noduri (1)	Pitic cu un singur internod	Sid
94	<i>Brachytic</i> (1)	Pitic <i>brachytic</i>	Brh
95	Mutanți dubli <i>intermedium</i>	Combinatii de mutanți <i>int</i>	int + int

Tabelul A 1.3. Însușirile soiurilor de orz obținute prin iradiere cu razele gama (original)

Soi	Dozăradiație, Gy	Caractere ameliorate												
		P	M	Rt	Rc	Rr	Rf	Rs	Mb	Cb	Cm	Lp	Rp	
Markeli 5	400	•	•							•	•*			
Diana	100	•		•↑↓						•				
Yanfuatzo	220	•	•		•								•	
Grammas	-			•↓										
Amil	200	•		•↓		•								
Tuwaitha	200	•		•↓	•									
Baraka	200	•						•				•		
Samin	200					•						•		
Gamma 4	150		•										•	
Haya-shinriki	400		•								•			
Una-La Molina 95	300		•								•+			
Akdeniz M-Q-54	150			•↑↓						•				
Golden Promise	240	•										•		•
Kazbek 1	150	•		•↓										
Minsk	-				•				•			•	•	
Centenario	300	•	•											
Furat 3	100	•		•↑	•									

P– productivitatea, M- maturitatea, Rt (↑↓) – rezistența la temperatură ridicată sau scăzută, Rc – rezistența la cadere, Rr – rezistența la rugină, Rf – rezistența la făinare, Rs – rezistența la scuturare, Mb – mărimea boabelor, Cb – calitatea boabelor, Cm – calitatea malțului, Lp – lungimea paiului, Rp- rigiditatea paiului; * – pentru panificație, + – lipsa paleei, bob golaș.

Anexa 2. Date privind variabilitatea indicilor biomorfologici la somaclonele SC₀-SC₂

Tabelul A 2.1. Analiza varianței indicilor biomorfologici la somaclonele de orz, SC₀

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
TPL SC₀				
Genotip	2	18713,5	114,56***	49,70
Virus	1	203,323	2,49	0,54
Genotip x Virus	2	398,665	2,44	1,06
Rezidual	212	17315,4		
Total	217	37655,3		
TPL SC₀				
Genotip	1	18810,4	140,46***	35,35
Doza radiației (3)	3	1792,36	4,46**	3,37
Genotip x doza de radiație	3	1232,41	3,07*	2,32
Rezidual	213	28524,1		
Total	220	53206,7		
TPL SC₀				
Genotip	2	18807,5	100,40***	38,41
2 Doze radiație	2	1068,81	5,71**	2,18
Genotip x 2 doze de radiație	4	1167,28	3,12***	2,38
Rezidual	239	22385,5		
Total	247	48971,0		
TPL SC₀				
Genotip	1	952,738	8,85**	5,34
Virus x Radiație	1	452,619	4,21*	2,54
Genotip x Virus x Radiație	1	71,6856	0,67	0,40
Rezidual	152	16360,1		
Total	155	17836,7		
LSP SC₀				
Genotip	2	143,945	15,67***	12,50
Virus	1	8,25169	1,80	0,72
Genotip x Virus	2	9,46625	1,03	0,82
Rezidual	212	973,438		
Total	217	1151,68		
LSP SC₀				
Genotip	1	116,104	27,90***	10,94
Doza radiației (3)	3	15,2677	1,22	1,44
Genotip x doza de radiație	3	4,27057	0,34	0,40
Rezidual	213	886,436		
Total	220	1061,19		
LSP SC₀				
Genotip	2	163,982	14,64***	10,34
Doza radiației (2)	2	6,56147	0,59	0,41
Genotip x doza de radiație	4	44,9012	2,00	2,83
Rezidual	239	1338,78		
Total	247	1585,97		

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
LUI SC₀				
Genotip	2	2377,41	70,93***	38,38
Virus	1	287,761	17,17***	4,65
Genotip x Virus	2	3,40935	0,10	0,06
Rezidual	212	3553,04		
Total	217	6194,72		
Genotip	1	1547,93	74,70***	21,39
Doza radiației (3)	3	389,736	6,27***	5,39
Genotip x doza de radiație	3	192,38	3,09*	2,66
Rezidual	213	4414,07		
Total	220	7235,71		
Genotip	2	2330,49	66,86***	32,52
Doza radiației (2)	2	123,845	3,55*	1,73
Genotip x doza de radiație	4	62,0471	0,89	0,87
Rezidual	239	4165,13		
Total	247	7167,1		
Genotip	1	53,8163	4,25*	2,67
Virus x Radiație	1	0,665044	0,05	0,03
Genotip x Virus x Radiație	1	49,8214	3,94*	2,48
Rezidual	152	1922,52		
Total	155	2011,86		
NSP SC₀				
Genotip	2	1673,18	52,12***	31,58
Virus	1	0,672724	0,04	0,01
Genotip x Virus	2	62,9872	1,96	1,19
Rezidual	212	3402,64		
Total	217	5298,0		
Genotip	1	1272,88	84,15***	24,68
Doza radiației (3)	3	157,127	3,46*	3,05
Genotip x doza de radiație	3	199,414	4,39**	3,87
Rezidual	213	3221,72		
Total	220	5156,76		
Genotip	2	1564,49	49,80***	25,33
Doza radiației (2)	2	101,6	3,23*	1,64
Genotip x doza de radiație	4	201,475	3,21*	3,26
Rezidual	239	3754,27		
Total	247	6177,61		
Genotip	1	159,432	8,37**	5,12
Virus x Radiație	1	75,2404	3,95*	2,41
Genotip x Virus x Radiație	1	1,65509	0,09	0,05
Rezidual	152	2895,27		
Total	155	3116,94		

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
NI SC₀				
Genotip	2	109,357	55,09***	31,31
Virus	1	5,06275	5,10*	1,45
Genotip x Virus	2	4,83469	2,44	1,38
Rezidual	212	210,427		
Total	217	349,289		
Genotip	1	225,005	176,90***	38,34
Doza radiației (3)	3	19,4371	5,09**	3,31
Genotip x doza de radiație	3	40,6712	10,66***	6,93
Rezidual	213	270,921		
Total	220	586,923		
Genotip	2	151,455	77,14***	30,99
Doza radiației (2)	2	13,5384	6,90**	2,77
Genotip x doza de radiație	4	11,811	3,01*	2,42
Rezidual	239	234,611		
Total	247	488,71		
Genotip	1	0,0708063	0,07	0,04
Virus x Radiație	1	0,0675673	0,06	0,04
Genotip x Virus x Radiație	1	7,21516	6,92**	4,33
Rezidual	152	158,563		
Total	155	166,686		
NFF SC₀				
Genotip	2	44,0617	31,48***	21,13
Virus	1	2,64456	3,78	1,27
Genotip x Virus	2	9,76363	6,98*	4,68
Rezidual	212	148,362		
Total	217	208,532		
Genotip	1	36,4682	36,53***	14,31
Doza radiației (3)	3	3,53589	1,18	1,39
Genotip x doza de radiație	3	11,0248	3,68*	4,33
Rezidual	213	212,616		
Total	220	254,76		
Genotip	2	19,6193	12,06***	8,61
Doza radiației (2)	2	1,91056	1,17	0,84
Genotip x doza de radiație	4	8,18572	2,52*	3,59
Rezidual	239	194,382		
Total	247	227,919		

Sursa variației	GL	SP	F	PI, %
NBSP SC₀				
Genotip	2	1330,68	40,35***	25,04
Virus	1	75,8806	4,60*	1,43
Genotip x Virus	2	220,527	6,69**	4,15
Rezidual	212	3495,95		
Total	217	5314,04		
Genotip	1	116,282	5,71*	2,36
Doza radiației (3)	3	158,288	2,59	3,21
Genotip x doza de radiație	3	56,3646	0,92	1,14
Rezidual	213	4335,08		
Total	220	4924,63		
Genotip	2	192,104	5,78**	3,82
Doza radiației (2)	2	69,5452	2,09**	1,38
Genotip x doza de radiație	4	164,239	2,47*	3,26
Rezidual	239	3970,69		
Total	247	5031,87		
Genotip	1	241,076	18,52***	10,02
Virus x Radiație	1	112,833	8,67**	4,69
Genotip x Virus x Radiație	1	0,361125	0,03	0,02
Rezidual	152	1978,15		
Total	155	2406,22		

*, **, *** – diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$;

GL – grad de libertate, SP – suma pătratelor, F – factor Fisher, PI – puterea de influență

Tabelul A 2.2. Analiza variabilității indicilor biomorfologici la somaclonele de orz, SC₁

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
TPL SC₁				
Genotip	2	35606,3	139,90***	31,34
Cultura <i>in vitro</i>	1	3842,23	30,20***	3,38
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	2993,84	11,76***	2,64
Rezidual	554	70500,6		
Total	559	113617,0		
Genotip	2	5997,16	17,70***	9,89
Virus	1	77,3125	0,46	16,44
Genotip x Virus	2	917,686	2,71	1,51
Rezidual	302	51163,6		
Total	307	60654,0		
Genotip	2	41649,7	138,11***	36,44
Radiație	1	2262,0	15,00***	1,98
Genotip x Radiație	2	6356,95	21,08***	5,56
Rezidual	439	66195,7		
Total	444	114291,0		
Genotip	2	39440,6	141,73***	34,51
Doza radiației	3	4267,19	10,22***	3,73
Genotip x Doza radiației	6	8837,41	10,59***	7,73
Rezidual	433	60246,2		
Total	444	114291,0		
LSP SC₁				
Genotip	2	348,011	8,58***	2,87
Cultura <i>in vitro</i>	1	65,6827	3,24	0,54
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	184,423	4,55*	1,52
Rezidual	554	11233,2		
Total	559	12112,5		
Genotip	2	25,9076	11,98***	4,92
Radiație	1	0,239637	0,22	0,05
Genotip x Radiație	2	21,7254	10,05***	4,13
Rezidual	439	474,508		
Total	444	526,453		
Genotip	2	19,1779	9,07***	3,64
Doza radiației	3	3,87709	1,22	0,74
Genotip x Doza radiației	6	36,9231	5,82***	7,01
Rezidual	433	457,548		
Total	444	526,453		

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
LUI SC₁				
Genotip	2	12013,6	82,16***	21,41
Cultura <i>in vitro</i>	1	2870,89	39,27***	5,12
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	1194,61	8,17***	2,13
Rezidual	554	40504,3		
Total	559	56105,8		
Genotip	2	2384,5	17,86***	10,09
Virus	1	36,1363	0,54	0,15
Genotip x Virus	2	556,445	4,17*	2,35
Rezidual	302	20165,3		
Total	307	23637,0		
Genotip	2	15339,1	151,41***	36,50
Radiație	1	2264,42	44,70***	5,39
Genotip x Radiație	2	3455,11	34,10***	8,22
Rezidual	439	22237,8		
Total	444	42019,9		
Genotip	2	16320,1	170,12***	38,84
Doza radiației	3	2572,97	17,88***	6,12
Genotip x Doza radiației	6	4370,39	15,19***	10,40
Rezidual	433	20769,3		
Total	444	42019,9		
NI SC₁				
Genotip	2	1,94673	2,80	0,94
Cultura <i>in vitro</i>	1	5,98469	17,22***	2,89
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	5,58568	8,03***	2,69
Rezidual	554	192,587		
Total	559	207,286		
Genotip	2	0,564442	1,99	1,24
Virus	1	0,920461	6,50*	2,03
Genotip x Virus	2	0,579726	2,05	1,28
Rezidual	554	42,7536		
Total	559	45,3636		
Genotip	2	4,87157	14,05***	5,04
Radiație	1	8,8464	51,04***	9,15
Genotip x Radiație	2	5,68076	16,39***	5,87
Rezidual	439	76,0948		
Total	444	96,7027		
Genotip	2	8,85712	26,75***	9,16
Doza radiației	3	8,51936	17,15	8,81
Genotip x Doza radiației	6	9,77187	9,84***	10,11
Rezidual	433	71,6969		
Total	444	96,7027		

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
NSP SC₁				
Genotip	2	23,3815	2,32	0,82
Cultura <i>in vitro</i>	1	10,6789	2,12	0,37
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	31,6573	3,14*	1,10
Rezidual	554	2791,98		
Total	559	2867,99		
NSP SC₂				
Genotip	2	13,7257	1,26	0,78
Virus	1	54,6397	10,01**	3,12
Genotip x Virus	2	77,5247	7,10***	4,43
Rezidual	302	1648,48		
Total	307	1751,52		
NSP SC₃				
Genotip	2	69,8407	6,41**	2,70
Radiație	1	7,73026	1,42	0,30
Genotip x Radiație	2	42,4306	3,89*	1,64
Rezidual	448	2442,17		
Total	453	2587,59		
NSP SC₄				
Genotip	2	119,381	12,16***	4,61
Doza radiației	3	35,2751	2,40	1,36
Genotip x Doza radiației	6	310,27	10,54***	11,99
Rezidual	442	2169,04		
Total	453	2587,59		
NFF SC₁				
Genotip	2	1494,42	51,78***	15,53
Cultura <i>in vitro</i>	1	102,266	7,09**	1,06
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	5,12305	0,18	0,05
Rezidual	554	7995,1		
Total	559	9621,97		
NFF SC₂				
Genotip	2	1164,85	39,02***	14,99
Radiație	1	84,5843	5,67*	1,09
Genotip x Radiație	2	40,2313	1,35	0,52
Rezidual	439	6552,46		
Total	444	7771,1		
NFF SC₃				
Genotip	2	666,576	23,41***	8,58
Doza radiației	3	113,188	2,65*	1,46
Genotip x Doza radiației	6	356,783	4,28***	4,71
Rezidual	433	6163,42		
Total	444	7771,1		

*, **, *** – diferența semnificativă pentru $P \leq 0, 05; 0, 01; 0,001;$

GL – grad de libertate, SP – suma pătratelor, F – factor Fisher, PI – puterea de influență

Tabelul A 2.3. Analiza variabilității indicilor agromorfologici la somaclonele SC₂

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
TPL SC₂				
Genotip	2	7713,12	58,31***	15,25
Cultura <i>in vitro</i>	1	930,97	14,08***	1,84
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	9054,63	68,46***	17,91
Rezidual	574	37961,7		
Total	579	50565,5		
Genotip	2	2667,86	17,28***	4,05
Virus	1	2317,11	30,02***	3,52
Genotip x Virus	2	1607,54	10,41***	2,44
Rezidual	775	59811,8		
Total	780	65910,5		
Genotip	2	17660,0	118,14***	12,73
Radiație	1	19800,3	264,91***	14,27
Genotip x Radiație	2	15540,7	103,96***	11,20
Rezidual	1085	81097,6		
Total	1090	138709,0		
Genotip	2	27247,9	198,81***	19,64
Doza radiației	3	18364,2	89,33***	13,24
Genotip x Doza radiației	6	20863,4	50,74***	15,04
Rezidual	1079	73942,3		
Total	1090	138709,0		
LSP SC₂				
Genotip	2	11,4685	4,20*	1,34
Cultura <i>in vitro</i>	1	43,9316	32,14***	5,14
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	5,20338	1,90	0,61
Rezidual	574	784,568		
Total	579	854,315		
Genotip	2	6,98965	2,54	0,64
Virus	1	1,49199	1,08	0,14
Genotip x Virus	2	11,3239	4,12*	1,04
Rezidual	775	1066,13		
Total	780	1086,3		
Genotip	2	38,5187	9,13***	1,60
Radiație	1	6,42645	3,05	0,27
Genotip x Radiație	2	25,336	6,01**	1,06
Rezidual	1085	2287,71		
Total	1090	2400,27		
Genotip	2	14,2393	3,85*	0,59
Doza radiației	3	41,0842	7,41***	1,71
Genotip x Doza radiației	6	292,08	26,33***	12,17
Rezidual	1079	1994,62		
Total	1090	2400,27		

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
NSP SC₂				
Genotip	2	443,271	31,56***	8,45
Cultura <i>in vitro</i>	1	650,292	92,59***	12,40
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	30,3766	2,16	0,58
Rezidual	574	4031,25		
Total	579	5245,34		
Genotip	2	420,219	30,13***	6,77
Virus	1	13,2683	1,90	0,21
Genotip x Virus	2	317,993	22,80***	5,13
Rezidual	775	5405,07		
Total	780	6202,77		
Genotip	2	2527,51	24,13***	3,67
Radiație	1	3064,0	58,51***	4,45
Genotip x Radiație	2	2602,4	24,85***	3,78
Rezidual	1085	56817,5		
Total	1090	68824,9		
Genotip	2	1484,11	18,60***	2,16
Doza radiației	3	5105,02	42,65***	7,42
Genotip x Doza radiației	6	10989,4	45,90***	15,97
Rezidual	1079	43054,2		
Total	1090	68824,9		
NBSP SC₂				
Genotip	2	391,998	12,58***	3,36
Cultura <i>in vitro</i>	1	2158,71	138,50***	18,52
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	247,525	7,94***	2,12
Rezidual	574	8946,55		
Total	579	11659,2		
Genotip	2	125,568	4,19*	1,01
Virus	1	614,249	41,02***	4,96
Genotip x Virus	2	24,8925	0,83	0,20
Rezidual	775	11606,4		
Total	780	12394,3		
Genotip	2	1055,46	24,25***	3,70
Radiație	1	2177,84	100,07***	7,63
Genotip x Radiație	2	766,822	17,62***	2,69
Rezidual	1085	23613,6		
Total	1090	28554,2		
Genotip	2	872,507	24,87***	3,06
Doza radiației	3	3506,44	66,64***	12,28
Genotip x Doza radiației	6	2740,45	26,04***	9,60
Rezidual	1079	18924,4		
Total	1090	28554,2		

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
NI SC2				
Genotip	2	11,0631	39,32***	8,66
Cultura <i>in vitro</i>	1	29,2693	208,04***	22,92
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	16,3081	57,96***	12,77
Rezidual	574	80,7563		
Total	579	127,688		
Genotip	2	4,30334	16,55***	3,66
Virus	1	0,112829	0,87	0,10
Genotip x Virus	2	12,7959	49,22***	10,90
Rezidual	775	100,733		
Total	780	117,444		
Genotip	2	19,9792	46,44***	5,75
Radiație	1	29,0753	135,17***	8,36
Genotip x Radiație	2	41,7132	96,96***	12,00
Rezidual	1085	233,377		
Total	1090	347,723		
Genotip	2	35,6337	109,77***	10,25
Doza radiației	3	43,0498	88,41***	12,38
Genotip x Doza radiației	6	66,9451	68,74***	19,25
Rezidual	1079	175,129		
Total	1090	347,723		
NFF SC₂				
Genotip	2	76,344	67,64***	14,45
Cultura <i>in vitro</i>	1	113,974	201,97***	21,58
Genotip x Cultura <i>in vitro</i>	2	59,9751	53,14***	11,36
Rezidual	574	323,913		
Total	579	528,166		
Genotip	2	0,809077	1,17	0,29
Virus	1	8,78316	25,48***	3,15
Genotip x Virus	2	0,430235	0,62	0,15
Rezidual	775	267,171		
Total	780	278,827		
Genotip	2	3,28886	4,51*	0,81
Radiație	1	4,35087	11,94***	1,07
Genotip x Radiație	2	1,22822	1,69	0,30
Rezidual	1085	396,371		
Total	1090	407,615		
Genotip	1	1,80511	2,59	0,44
Doza radiației	3	9,23936	8,84***	2,27
Genotip x Doza radiației	6	14,9404	6,93***	3,67
Rezidual	1079	376,086		
Total	1090	407,615		

*, **, *** – diferența semnificativă pentru $P \leq 0, 05; 0, 01; 0,001$;
GL - grad de libertate, SP - suma pătratelor, F - factor Fisher, PI - puterea de influență

Anexa 3. Coeficientul de corelație pentru caracterele de productivitate și componentele ei structurale la diferite generații ale somaclonelor de orz cu spic ramificat

Tabelul A 3.1. Indicii coeficientului de corelație între caracterele de productivitate și componentele ei structurale la formele de orz cu spic ramificat

Caractere SC2		TPL, cm	LSP, cm	LUI,cm	NFF	NSP	NBSP	GBSP	NBPL	GBPL
LSP, cm	I	0,51c								
	II	0,59b								
LUI, cm	I	0,34a								
	II	0,79c	0,67c							
NI	I	0,37b								
NFF	I	-0,36c								
NBSP	I		0,32a							
	II	0,44a								
GBSP	II	0,72c		0,54b			0,82c			
NBPL	II				0,63b		0,57b	0,55b		
GBPL	II	0,60b		0,42a	0,49a		0,47a	0,74c	0,82c	
MMB	II	0,75c	0,49a	0,69c				0,69c		0,66c
SC₃										
LSP,cm	II	0,59b								
	III	0,62a								
LUI,cm	II	0,79a	0,67c							
	III	0,74b	0,72 a							
NBSP	II	0,44a								
	III					0,86c				
GBSP	II	0,72c		0,54b			0,82c			
	III		0,75b	0,84b			0,66a			
NBPL	II				0,63b		0,57b	0,55b		
	III				0,88c	0,65a		0,66a		
GBPL	II	0,60b		0,42a	0,49a		0,47a	0,74c	0,82c	
	III				0,77b				0,96c	
MMB	II	0,75c	0,49a	0,69c				0,69c		0,66c
	III	0,54a		0,86c				0,66a		
SC₄										
LSP,cm	II	0,70b								
LUI,cm	II	0,79c	0,59a							
	III	0,81c								
NI	II	0,19a					0,65b			
	III									
NSP	II						0,55a			
NBSP	II	0,82c		0,53a						
	III					0,67b				
GBSP	II	0,86c		0,75b			0,87c			
	III	0,49a				0,52a	0,73c			
NBPL	II	0,57a		0,69b	0,87c					
	III				0,63b					
GBPL	II	0,64b		0,72b	0,84c			0,57a	0,94c	
	III				0,64b					
MMB	II			0,56a				0,73c	0,93c	0,53a
	III						-0,49a			

Tabelul A 3.2. Indicii coeficientului de corelație între caracterele de productivitate și componentele ei structurale la formele de orz cu spic neramificat

Caractere SC2		TPL, cm	LSP, cm	LUI, cm	NFF	NSP	NBSP	GBSP	NBPL	GBPL
LSP, cm	I	0,36b								
	II	0,85c								
LUI, cm	I	0,45c	0,38b							
	II	0,83c	0,78c							
NI	I	0,47c								
NSP	I	0,37b	0,59c							
	II	0,58b	0,64c							
NBSP	I		0,32a							
	II	0,44a								
GBSP	II	0,72c		0,54b			0,82c			
NBPL	II				0,63b		0,57b	0,55b		
GBPL	II	0,60b		0,42a	0,49a		0,47a	0,74c	0,82c	
MMB	II	0,75c	0,49a	0,69c				0,69c		0,66c
SC3										
LSP,cm	II	0,80b								
	III	0,84c								
LUI,cm	II	0,80b								
	III	0,91c	0,89c							
NI	III	0,37a								
NSP	III	0,88c	0,93c	0,88c						
NBSP	II		0,78b							
	III	0,71c	0,81c	0,79c	0,36a	0,80c				
GBSP	II		0,84b				0,88b			
	III	0,79c	0,80c	0,84c	0,38a	0,78c	0,85c		0,59c	
NBPL	II				0,84b					
	III	0,45a	0,52b	0,56c	0,93c	0,49b	0,58c			
GBPL	II				0,76a				0,77b	
	III	0,57c	0,59c	0,65c	0,86c	0,57c	0,62c	0,71c	0,97c	
MMB	III	0,66c	0,44a	0,57c		0,47b	0,45a	0,76c		0,49b
SC4										
LSP,cm	II	0,79b								
LUI,cm	II	0,78c	0,74a							
	III	0,67c			0,38a					
NSP	II	0,74a	0,89c	0,68a						
	III		0,63c							
NBSP	II	0,68b	0,79b				0,89c			
	III						0,51b			
GBSP	II	0,76b	0,89c				0,90c	0,90c		
	III	0,46b	0,43a	0,36a			0,56b	0,52b		0,96c
NBPL	II	0,81b			0,91c					
	III			0,52b	0,84c					
GBPL	II	0,90c	0,70a	0,72b	0,83b	0,67a		0,77b	0,96c	
	III			0,61c	0,79c					
MMB	II		0,87c				0,87c	0,81b	0,88c	
	III							0,53b		

I - 2014; II - 2020; III - 2022; a, b, c - $P \leq 0,05; 0,01; 0,001$;

■ – corelare slabă, $r < 0,3$; ■ – corelare medie, $r = 0,3 - 0,7$; ■ – corelare mare, $r > 0,7$.

Anexa 4. Date privind variabilitatea indicilor biomorfologici indusă de razele gama la orzul neinfestat și infestat cu virusul mozaicului dungat al orzului

Tabelul A. 4.1. Analiza varianței indicilor biomorfologici, M₀ (ANOVA)

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
TPL				
Genotip G	2	3697,46	35,90***	4,54
Virus – V	1	27571,8	535,46***	33,89
Radiație R	3	2311,49	14,96***	2,84
Interacțiuni				
Genotip -Virus	2	550,229	5,34**	0,67
Genotip - Radiație	6	1515,48	4,91***	1,86
Virus - Radiație	3	557,015	3,61*	0,68
G - V - R	6	3309,64	10,71***	4,07
Rezidual	728	37486,0		
Total	751	81362,7		
LSP				
Genotip G	2	139,037	69,34***	13,75
Virus – V	1	49,6289	49,50***	4,91
Radiație – R	3	28,1182	9,35***	2,78
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	5,09893	2,54	0,5
Genotip - Radiație	6	13,1361	2,18*	1,29
Virus - Radiație	3	15,9053	5,29**	1,57
G - V - R	6	11,0291	1,83	1,09
Rezidual	728	729,891		
Total	751	1010,96		
LUI				
Genotip G	2	1430,19	54,98***	9,6
Virus – V	1	1750,82	134,60***	11,86
Radiație – R	3	195,932	5,02**	1,32
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	291,631	11,21***	1,9
Genotip - Radiație	6	553,413	7,09***	3,75
Virus - Radiație	3	145,976	3,74*	0,98
G - V - R	6	464,441	5,95***	3,14
Rezidual	728	9469,22		
Total	751	14756,7		
NFF				
Genotip G	2	210,267	62,66***	11,94
Virus – V	1	167,275	99,69***	9,49
Radiație – R	3	34,3495	6,82***	1,95
Interacțiuni				
Genotip -Virus	2	13,6925	4,08*	0,78
Genotip - Radiație	6	82,7193	8,22***	4,69
Virus - Radiație	3	29,9281	5,95***	1,69
G - V - R	6	48,2995	4,80***	2,74
Rezidual	728	1221,5		
Total	751	1760,87		

NBSP				
Genotip G	2	1400,49	21,62***	4,80
Virus – V	1	873,624	26,97***	2,99
Radiație – R	3	2366,34	24,35***	8,11
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	125,688	1,94	0,43
Genotip - Radiație	6	642,149	3,30**	2,20
Virus - Radiație	3	499,465	5,14**	1,71
G – V - R	6	227,901	1,17	0,78
Rezidual	728	23578,5		
Total	751	29164,7		
NI				
Genotip G	2	37,5934	44,61***	9,69
Virus – V	1	1,81208	4,03*	0,46
Radiație – R	3	7,19059	5,69***	1,85
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	8,4554	10,03***	2,17
Genotip - Radiație	6	13,9745	5,53***	3,60
Virus - Radiație	3	1,12862	0,89*	0,29
G - V - R	6	4,06758	1,61	1,04
Rezidual	728	306,775		
Total	751	387,952		

*, **, *** – diferența semnificativă pentru $P \leq 0, 05; 0, 01; 0, 001;$

GL – grad de libertate, SP – suma pătratelor, F – factor Fisher, PI – puterea de influență

Tabelul A.4.2. Analiza varianței indicilor biomorfologici, M_1 (ANOVA)

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
TPL				
Genotip G	2	12471,7	150,95***	9,16
Virus – V	1	2233,23	54,06***	1,64
Radiație – R	3	19598,1	237,20***	14,39
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	6305,82	76,32***	4,63
Genotip - Radiație	4	12914,6	78,15***	9,48
Virus - Radiație	2	3558,57	43,07***	2,61
G - V - R	4	22101,2	133,75***	16,23
rezidual	863	35651,6		
Total	880			
LSP				
Genotip G	2	73,8623	19,0***	3,84
Virus – V	1	1,65997	0,85	0,09
Radiație – R	2	50,1605	12,90***	2,61
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	78,1217	20,90***	4,07
Genotip - Radiație	4	18,7363	2,41*	0,97
Virus - Radiație	2	7,04758	1,81	0,37

G - V - R	4	26,7453	3,44**	1,39
rezidual	853	1658,1		
Total	870			
LUI				
Genotip G	2	2440,04	118,63***	20,73
Virus – V	1	53,1721	5,17*	0,45
Radiație – R	2	27,5283	1,34	0,23
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	69,4285	3,38*	0,59
Genotip - Radiație	4	85,9663	2,09	0,73
Virus - Radiație	2	4,86094	0,24	0,04
G - V - R	4	30,1757	0,73	0,26
rezidual	852	8762,37		
Total	869			
NFF				
Genotip G	2	112,9	37,57***	7,42
Virus – V	1	45,4604	30,26***	2,99
Radiație – R	2	16,9444	5,64**	1,11
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	8,60676	2,86	0,56
Genotip - Radiație	4	67,9398	11,30***	4,46
Virus - Radiație	2	1,47417	0,49	0,09
G - V - R	4	2,33788	0,39	0,15
rezidual	845	1269,56		
Total	862			
NBSP				
Genotip G	2	962,642	17,55***	2,94
Virus – V	1	1781,53	64,96***	5,43
Radiație – R	2	358,342	6,53**	1,09
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	2178,26	39,71***	6,65
Genotip - Radiație	4	1495,61	13,63***	4,56
Virus -Radiație	2	552,225	10,07***	1,59
G - V - R	4	1111,28	10,13***	3,39
rezidual	863	23668,8		
Total	880	32774,4		
NI				
Genotip G	2	65,8856	95,86***	16,77
Virus - V	1	0,233802	0,68	0,06
Radiație R	2	3,56167	5,18**	0,91
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	12,2629	17,84***	3,12
Genotip - Radiație	4	7,62498	5,55***	1,94
Virus - Radiație	2	2,51957	3,67*	0,64
G - V - R	4	2,67331	1,94	0,68
Rezidual	863	296,575		
Total	880	392,919		

Tabelul A.4.3. Analiza varianței indicilor biomorfologici, M₂ (ANOVA)

Sursa variației	GL	SP	F	PI,%
TPL				
Genotip G	2	74656,4	931,55***	65,06
Virus -V	1	2268,13	56,60***	1,98
Radiație R	2	1731,07	21,60***	1,51
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	58,9253	0,74	0,05
Genotip-Radiație	4	3088,16	19,27***	2,69
Virus -Radiație	2	1903,65	23,75***	1,66
G - V – R	4	2187,14	13,65***	1,91
Rezidual	818	32778,1		
Total	835	114747,0		
LSP				
Genotip	2	255,897	63,87***	12,38
Virus -V	1	2,75594	1,38	0,13
Radiație R	2	0,556268	0,14	0,03
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	3,76682	0,94	0,18
Genotip-Radiație	4	48,628	6,07***	2,35
Virus -Radiație	2	56,0263	13,98***	2,71
G - V – R	4	34,6036	4,32**	1,67
Rezidual	818	1638,75		
Total	835	2067,64		
LUI				
Genotip G	2	14105,6	290,74***	40,72
Virus -V	1	0,036573	0,00	0,00
Radiație R	2	82,7091	1,70	0,24
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	109,503	2,26	0,32
Genotip-Radiație	4	24,2316	0,25	0,07
Virus -Radiație	2	400,701	8,26***	1,16
G - V – R	4	146,517	1,51	0,42
Rezidual	818	19843,1		
Total	835	34642,9		
NFF				
Genotip G	2	354,138	73,09***	14,24
Virus -V	1	26,2684	10,84**	1,06
Radiație R	2	28,5252	5,89**	1,15
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	5,38462	1,11	0,22
Genotip-Radiație	4	83,6559	8,63***	3,36
Virus -Radiație	2	21,7275	4,48*	0,87
G - V – R	4	35,3302	3,65**	1,42
Rezidual	818	1981,83		
Total	835	2486,06		
NBSP				
Genotip G	2	6145,73	113,88***	17,13
Virus -V	1	2244,84	83,19***	6,26

Radiație R	2	554,204	10,27***	1,54
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	2821,99	52,29***	7,86
Genotip-Radiație	4	1451,75	13,45***	4,05
Virus -Radiație	2	1665,4	30,96***	4,64
G - V - R	4	2423,92	22,46***	6,75
Rezidual	818	22072,1		
Total	835	35885,6		
NI				
Genotip G	2	24,0522	52,32***	10,50
Virus -V	1	4,85117	21,10***	2,12
Radiație R	2	2,09671	4,56*	0,92
Interacțiuni				
Genotip - Virus	2	2,27765	1,13882**	0,99
Genotip-Radiație	4	7,85691	1,96423***	3,43
Virus -Radiație	2	0,463224	1,01	0,20
G - V - R	4	4,21407	4,58**	1,84
Rezidual	818	188,04		
Total	835	229,139		

*, **, *** – diferența semnificativă pentru $P \leq 0,05$; $0,01$; $0,001$;
 GL – grad de libertate, SP – suma pătratelor, F – factor Fisher, PI – puterea de influență

Aneaxa 5. Acte de implimentare

MINISTERUL EDUCAȚIEI,
CULTURII ȘI CERCETĂRII
AL REPUBLICII MOLDOVA

UNIVERSITATEA DE STAT
DIN MOLDOVA

MD-2009, Chișinău
str. A. Mateevici, 60
tel: (+373-22) 24-48-21, fax: 24-42-48
www.usm.md, email: rector@usm.md



MINISTRY OF EDUCATION,
CULTURE AND RESEARCH OF
THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MOLDOVA STATE UNIVERSITY

MD-2009, Chisinau
A. Mateevici str. 60
tel: (+373-22) 24-48-21, fax: 24-42-48
www.usm.md, email: rector@usm.md

08.06.2023 Nr 5060

ACT DE IMPLEMENTARE A REZULTATELOR ȘTIINȚIFICE

Prin prezenta se confirmă că rezultatele investigațiilor științifice realizate în cadrul tezei de doctor în științe biologice „Efectul infecției virale și a radiației gama asupra variațiilor *in vivo* și *in vitro* la orz (*Hordeum vulgare* L.)” a d-nei GRIGOROV Tatiana au fost implementate în cadrul lucrărilor practice la disciplina „Tehnici de cercetare în biologia moleculară”, ciclul II la Departamentul Biologie și Ecologie, Facultatea Biologie și Geoștiințe a Universității de Stat din Moldova. Rezultatele obținute în baza tezei de doctorat au servit drept suport metodologic pentru unitățile de conținut „Tehnici citogenetice de studiu în biologia moleculară” și „Biotehnologii *in vitro*. Cultura celulelor și țesuturilor”.

Prodecan:



PEENCIUC Daniela, dr., conf. univ.

Aprob
Secretarul științific al Institutului de Genetică,
Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM
Dna. SMEREA Svetlana, dr. șt. biol.



ACT DE IMPLEMENTARE A REZULTATELOR ȘTIINȚIFICE

Prin prezenta se confirmă implementarea rezultatelor cercetărilor științifice realizate în cadrul tezei de doctor în științe biologice „Efectul infecției virale și a radiației gama asupra variațiilor *in vivo* și *in vitro* la orz (*Hordeum vulgare* L.)” a d-nei GRIGOROV Tatiana în Laboratorul Genetică aplicată al IGFP. Linia mutantă de orz de primăvară cu mutația *spic ramificat*, obținut din populațiile somaclonelor soiului Unirea (U) U-623-N-R, a fost transmisă pentru includere în evaluările comparative de către cercetătorii grupului Genetica și ameliorarea cerealelor păioase, fiind apreciate de perspectivă.

Șef laborator Genetică aplicată  LUPĂȘCU Galina, dr. hab., prof. cerc., m.c. al AȘM

Cercetător științific



GRIGOROV Tatiana

Data 20.06.2023

Aprob
Secretarul științific al Institutului de Genetică,
Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM
Dna SMEREA Svetlana, dr. șt. biol.



ACT DE IMPLEMENTARE A REZULTATELOR ȘTIINȚIFICE

Prin prezenta se confirmă implementarea rezultatelor cercetărilor științifice realizate în cadrul tezei de doctor în științe biologice „Efectul infecției virale și a radiației gama asupra variațiilor *in vivo* și *in vitro* la orz (*Hordeum vulgare* L.)” a d-nei GRIGOROV Tatiana în Laboratorul Resurse Genetice Vegetale al IGFP. Două linii mutante, orz cu mutația *spic ramificat*, obținut din populațiile somaclonelor soiului Unirea (U) U-623-RAM și orz cu mutația lemei *calcaroides(cal)*, identificată la s. Sonor infectat cu virusul mozaicului dungat al orzului și radiația gama 250Gy, au fost transmise pentru depozitare în Banca de gene, fiind apreciate de interes științific pentru studii genetice și ameliorative.

Șef Laborator Resurse Genetice Vegetale

Ganea Anatolie, dr., conf. cerc.

Cercetător științific

GRIGOROV Tatiana

Date 20.06.2023

Declarația privind asumarea răspunderii

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teză sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Grigorov Tatiana

Semnătura



Data 3.08.2023

CURRICULUM VITAE

Tatiana GRIGOROV



Date de contact:

Tel. (+373)78681654

E-mail: raileanta@gmail.com

Data și locul nașterii: 24.03.1979, Chișinău, Republica Moldova

Cetățenia: MD

Studii superioare:

- 1997 - 2001 - **studii de licență**, Universitatea de Stat din Moldova (USM), Facultatea Biologie și Pedologie, specialitatea Biolog, specializarea Genetica. Diploma seria AL nr. 0043214.
- 2001 - 2002 - **studii de masterat**, USM, specialitatea Biologie Moleculară. Diploma seria AM nr.001207.
- 2004 - 2011 - **studii de doctorat**, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a plantelor al AȘM (IGFPP), specialitatea - 03.00.15 Genetica/162 - Genetică vegetală.

Domeniile de interes științific:

- **Genetică**, mecanisme de inducere și cuantificare a variabilității genetice la plante;
- **Biotehnologii vegetale**, metode de inducere a variabilității somaclonale, diversității la plante; devirozarea plantelor prin tehnici de cultură *in vitro*; obținerea plantelor dubluhaploide prin cultura de antere, multiplicarea plantelor *in vitro*.
- **Citogenetică**, evaluarea citogenetică a regeneranților.
- **Mutageneză experimentală**.
- **Biologie moleculară**.

Stagii:

- 16-20 iunie 2013 – Școala de vară Genetică Moleculară “*Metode de determinare a activității antioxidanților*”, Laboratorul Ficobiotehnic, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM
- 25-30 septembrie 2013 - Training “*Tehnici de analiză moleculară*”, Laboratorul Genomică, Centrul universitar de Biologie Moleculară, UnAȘM, Chișinău, Moldova.
- 2014 – 2015 – Training internațional, ITP299EU 2014 “*Strategies for Chemicals Management*”, organizat de către Swedish Chemicals Agency (KEMI) și Swedish International Development Cooperation Agency (SIDA), Suedia.
- 1-3 iunie 2021 – Training internațional (online). *HERCULES Specialized Course* The multi-technique approach of CERIC-ERIC as a tool for Nanoscience. Aplicarea diferitor metode și tehnici, software de microscopie optică și electronică.

Activitate profesională:

- 2002 - 2004 – **laborant-superior** la Catedra de Biologie vegetală. Facultatea Biologie și Pedologie, USM.
- 2006 - 2011 – **Cercetător științific stagiar**. IGFP al AȘM (actualmente IGFP al USM).
- 2012 - prezent – **Cercetător științific**. IGFP al USM.

Participări ca executor în proiecte științifice naționale și internaționale :

Proiecte instituționale:

- **06.407.005.F.** *Studiul variabilității genetice indusă de factori fizici, chimici și biologici in vivo și in vitro, evaluarea genetică și moleculară a caracterelor de productivitate, calitate și rezistență la condițiile nefavorabile ale mediului*, 2006-2010.
- **11.817.04.04.F.** *Biotehnologii avansate și mecanisme genetice și fiziologice de inducere a variabilității genotipice și formarea unui potențial genetic sporit de productivitate și rezistență al C3 și C4 plantelor*, 2010-2014.
- **15.817.05.05.F.** *Principii biotehnologice de studiu al interacțiunii dintre plantele de cultură și agenții virali*, 2015-2019
- **20.80009.7007.04.** *Procedee biotehnologice și genetice pentru evaluarea, conservarea și exploatarea agrobiodiversității*, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare, 2019-2023

Proiecte internaționale:

- # **4073 STCU**. Crearea colecției de forme locale de viță de vie libere de virusuri cu rezistență la factori de mediu, 2009-2012
- # **5383 STCU/ASM**. Embriogeneză zigotică - procedeu biotehnologic eficient de eradicare a virusurilor la soiurile apirene de viță de vie, 2012-2013.

Lucrări științifice și științifico-metodice: 13 articole, 19 comunicări la manifestări științifice în țară și peste hotare, 1 brevet de invenție, 1 ghid metodic.

Participări la foruri științifice în străinătate:

- 2012, международная научная конференция «125 лет со дня рождения Н.И. Вавилова» Плодоводство и ягодоводство России. Москва. **Raport**.
- 4-6 noiembrie 2021, International 42nd Anniversary Symposium of the Institute of Cellular Biology and Pathology” Nicolae Simionesc” 38th Annual Scientific Session of the Romanian Society for Cell Biology. Timisoara, Romania. **Poster**.
- 19 martie 2021, X Міжнародної наукової конференції. Селекційно-генетична наука і Умань, Ucraina. **Poster**.

Participări la foruri științifice în țară:

- 7-9 octombrie **2010**, Conferința. „Conservarea diversității plantelor”, ediția 1, Grădina Botanica (Institut). Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.

- 11-12 noiembrie **2010**, International Conference of Young Researchers, ediția 8, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 21-22 octombrie **2010**, Congresul al IX National cu participare internațională al Geneticienilor și Amelioratorilor, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 21 iunie **2011**, Conferința științifică. In memoria academicianului Anatolie Jacotă „, genetica și fiziologia rezistenței plantelor”, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 30-31 octombrie **2012**, Simpozionul științific internațională, Protecția plantelor – probleme și perspective”. IGFPP, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 24-25 octombrie **2013**, Simpozionul științific național cu participare internațională „*Biotehnologii avansate – realizări și perspective*”, ediția III-a, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**. 3 teze.
- 23-24 octombrie **2014**, Conferința științifică internațională, Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor”. Ediția a 5-a, IGFPP, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- **2014**, Simpozionul Științific Internațional. “100 ani de la nașterea a distinsului savant și om de stat Mihail Sidorov”, UASM, Chișinău, Republica Moldova. **Raport**.
- 28 iunie - 1 iulie **2015**, Congresul Geneticienilor și Amelioratorilor. Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 21-22 octombrie **2019**, Simpozionul științific național cu participare internațională „*Biotehnologii avansate – realizări și perspective*”, ediția V-a, IGFPP. Chișinău, Republic of Moldova. **Poster**.
- 4-5 septembrie, **2020**, Conferința „Realizări științifice în ameliorare și tehnologii inovative la culturile cerealiere în contextul schimbărilor climaterice”, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 15-16 iunie **2021**, The XIth International Congress of Geneticists and Breeders, Chisinau, Republic of Moldova. **Poster**.
- 4-5 Octombrie **2021**, Conferința Științifică Internațională „Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor”, ediția a VII-a, Chișinău, Republica Moldova. **Poster**.
- 3-4 octombrie **2022**, The VIth International Scientific Symposium ”Advanced Biotechnologies - Achievements and Prospects”, Chisinau, Republic of Moldova. **Raport**.

Premii, mențiuni: premiul național “Boris Matienco”, diploma de recunoștință pentru sporirea competențelor în cercetare.

Cunoașterea limbilor :limba română- limba maternă, limba rusă- bine, limba engleză- mediu.

Cunoașterea calculatorului: Microsoft Office™ , program de prelucrare statistică a datelor STATGRAFICS Plus 2.1

Date de contact de serviciu:

Adresă: Str. Padurii 20, MD 2002-Chisinau, Republic of Moldova

E-mail: raileanta@gmail.com, tatianarailean@yahoo.com, tatiana.grigorov@igfpp.md