CZU: 633.11:581.1.085 **https://doi.org/10.59295/sum1(171)2023_02**

EVALUAREA VARIAȚIEI SOMACLONALE LA PLANTELE DE TRITICALE REGENERATE DIN EMBRIONI MATURI PRIN CULTURA *IN VITRO* ȘI IRADIERE CU RAZE GAMA

Renata CIOBANU

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM

Regeneranții de triticale (SC_0) a 3 genotipuri (Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021) au fost obținuți prin calusogeneză din embrionii maturi, supuși *iradierii gama (150 Gy)*. Evaluarea *somaclonelor* a evidențiat modificări asupra caracterelor cantitative: talia plantei, numărul de frați fertili, lungimea spicului principal, numărul de internoduri, numărul de boabe, greutatea boabelor per plantă. S-a constatat că cultura *in vitro* și iradierea cu raze gama a indus variații semnificative la nivel de 95–99,9% a caracterelor studiate la somaclonele SC_1 și SC_2 de triticale. Caracterele biomorfologice: talia plantei, lungimea spicului principal, numărul de boabe și greutatea boabelor au atins valori mai mari decât martorul la somaclonele SC_2 derivate de la genotipul Ingen 93(*in vitro*) și 188 TR5021(RAD). Analiza varianței, denotă că contribuţia maximă a manifestat genotipul (30,77%) și interacțiunea factorilor genotip-RAD (17,28-41,62%), genotip–cultura *in vitro* (21,32–40,45%) în dependenţă de caracter (99.9%). Rezultatele obținute confirmă contribuția factorilor cercetați în extinderea variabilității genetice la triticale.

Cuvinte-cheie: *variabilitate, in vitro, radiație gama, calusogeneză, somaclone de triticale, caractere cantitative.*

EVALUATION OF SOMACLONAL VARIATION IN TRITICALE PLANTS REGENERATED FROM MATURE EMBRYOS BY *IN VITRO* CULTURE AND TREATMENT WITH GAMMA-RAYS

The Triticale regenerants (SC_0) of 3 genotypes (Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021) were obtained by callusogenesis from irradiated mature embryos with gamma rays (150 Gy). The evaluation of the somaclones revealed changes in the quantitative traits: plant height, spike length, apical internode length, number of productive tillers and internodes per plant, number of grains, grains weight per plant. It was found that *in vitro* culture and gamma irradiation induced significant variations at the level of 95 – 99,9% of the characters studied in triticale SC_1 and SC_2 somaclones The mean value of 4 traits (plant height, spike length, number of grains and grains weight) of somaclones, SC_2 (Ingen 93, *in vitro* and 188 TR5021, RAD) were higher than the control. The analysis of variance shows that the maximum contribution was manifested by the genotype (30,77%) and the interaction of genotype x radiation (17,28-41,62%) and genotype x *in vitro* culture (21,32-40,45%) depending on the character (99,9%). The obtained results confirm the contribution of researched factors to increase the genetic variability in triticale.

***Keywords*:** *variability, in vitro, gamma radiation, callusogenesis, triticale somaclones, quantitative characters.*

Introducere

În ultimul deceniu, noi instrumente de reproducere și tehnologii genetice (dublu haploizii, selecția asistată de marcheri moleculari, selecția genomică și transgenică) au fost dezvoltate și aplicate la diferite specii de plante de cultură. Prin integritatea acestor instrumente și tehnologii cu abordări convenționale de reproducere a plantelor, triticalele au potențial de a fi o cultură de succes [1; 2; 3].

Triticale este o cultură cerealieră, care poate fi sintetizată prin hibridizarea grâului și a secarei, combinând performanța agronomică superioară cu toleranța la stres și adaptabilitate. În ciuda îmbunătățirilor semnificative aduse soiurilor de triticale moderne în ceea ce privește performanța agronomică și rezistența la boli, multe provocări rămân legate de calitatea utilizării finale, posibilitatea de utilizare complexă atât pentru furaj, cât și în alimentație (panificație, patiserie, prelucrarea alcoolului și a berii) [4; 5; 6]. Pe piața internă a Republicii Moldova se constată un deficit de material semincer, iar cu mărirea suprafețelor de cul-

tivare această cultură poate deveni pâinea viitorului. În acest sens este necesar de a obţine un nou material iniţial, în baza căruia de selectat soiuri noi de triticale cu particularităţi biologice, biochimice şi tehnologice sporite.

Variația somaclonală este un fenomen des întâlnit la plante, regenerate prin cultura *in vitro* și prezintă interes deosebit, deoarece oferă posibilitatea de a lărgi atât spectrul, cât și valoarea bazei genetice [7; 8]. Studiind gradul de variabilitate a regeneranților diverselor specii de plante s-a constat că, ei se pot deosebi de formele inițiale după numărul de cromozomi, caractere morfologice, biochimice. Foarte des aceste variații sunt unice și nu pot fi obținute pe alte căi. Astfel, variațiile observate pot servi ca material inițial pentru crearea și selectarea de noi soiuri de plante [9; 10; 11; 12].

Somaclonele, obținute prin cultura *in vitro*, posedă un spectru larg de variație a caracterelor morfologice și biochimice, deci, cultura de calus se folosește eficient în inducerea variabilității, prin obținerea somaclonelor ce prezintă interes agronomic [13; 14; 15; 16; 17].

Cercetările, privind inducerea variabilității genetice in *vitro*, prin aplicarea radiațiilor gama, au atestat schimbări în procesul de calusogeneză, morfogeneză și asupra frecvenței apariţiilor mutațiilor la diferite plante. Îmbinarea culturii *in vitro* cu acțiunea unor factori fizici (radiația gamma și laser) a permis obținerea de noi date privind stabilirea eficienței lor în declanșarea variabilității genetice, inducerea mutațiilor utile în procesul de ameliorare [18]. Din surse bibliografice, sunt cunoscute avantajele variației somaclonale și mutagenezei. În majoritatea cazurilor, variația somaclonală la diferite specii de plante a fost determinată pe baza caracterelor morfologice și fiziologice [19]. Astfel, s-a evidențiat o variabilitate mai sporită a unor caractere cantitative (înălțimea plantei, înălțimea de inserție a primului știulete, numărul de frunze, lungimea frunzei, lățimea frunzei ș.a.) la regeneranții porumbului, obținuți prin cultura de embrioni tratați cu raze gama și la descendenții lor în comparație cu somaclonele martor [20]. 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, arhitectura plantei și rezistența la diferite boli [21].

Prin urmare, prezintă interes evaluarea acțiunii radiației gama și culturii *in vitro* în calitate de modificatori genetici asupra caracterelor agromorfologice la somaclonele (SC_1 și SC_2) de triticale pentru identificarea genotipurilor valoroase, care ulterior pot fi integrate într-un program de ameliorare.

Materiale şi metode

Material vegetal: Ca material de studiu au servit 3 genotipuri de triticale din colecţia Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor: Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021.

Drept sursă de explant am folosit embrionii maturi de triticale. Seminţele au fost iradiate cu doza de 150 Gy la instalaţia gama RXM-V-20, sursa radiaţiilor ^{60}Co, 0,12 gr/sec. Ca martor au servit seminţele netratate. Embrionii maturi au fost sterilizați în soluție diluată de hipoclorit de sodiu de 5,2 % (1:1) pentru 15 minute și clătiți în trei băi de apă distilată timp de 1 minut fiecare, apoi, au fost decupaţi de la endosperm la lupa binoculară, în boxa cu flux laminar de aer steril, aseptizaţi în soluţie diluată de hipoclorit de sodiu de 5,2 % (1:1) pentru un minut, apoi clătiţi în apă distilată.

Inducerea calusogenezei și morfogenezei: Cultura de calus a fost iniţiată din embrioni maturi, inoculaţi cu suprafaţa ce contactează cu scutelum, pe mediu de iniţiere Murashige-Skoog (1962) [22], suplimentat cu L-asparagină –150mg/l, mezoinozitol – 100mg/l, glicină – 2mg/l, acid ascorbic – 20 mg/l, zaharoză – 30 mg/l şi reglatori de creştere: acid diclorofenoxiacetic (2,4 D) -2,5 mg/l, kinetină – 0,2 mg/l. Mediul utilizat a conţinut agar – 7 g/l, zaharoză – 30 g/l. Valoarea pH-lui a fost ajustată înainte de autoclavare până la 5,8. Mediile nutritive s-au sterilizat prin autoclavare, în faza de vapori (10 min), apoi aerisire (20 min) şi sterilizare în condiţiile de presiune P=1 atm şi temperatura $T=120^0C$. Cultivarea s-a efectuat utilizând boxa cu flux laminar de aer steril. Pentru iniţierea calusului explantele au fost plasate în camera de creştere, menţinând temperatura 26 ± 2^0C, fotoperiodism 16 ore cu o iluminare de 2000 lx şi 8 ore întuneric. De menţionat că, după 8-10 zile de cultivare toate genotipurile analizate au format calus, fiind atestate structuri compacte galben-verzui, cu proprietăţi morfogene. Inducerea morfogenezei a avut loc în rezultatul subcultivării fragmentelor de calus pe mediul de cultură MS, suplimentat cu BAP (2,2 mg/l) şi 2,4 D (1,2 mg/l).

Regenerarea plantelor: Calusurile cu proprietăţi morfogene au fost transferate pe mediul de regenerare MS suplimentat cu AIA (0,5 mg/l) şi BAP (1 mg/l). După 2 săptămâni s-a observat formarea lăstarilor.

Pentru înrădăcinarea regeneranţilor, lăstarii cu lungime de 2,5 - 4 cm au fost transferaţi pe mediul de înrădăcinare MS cu adaos de ANA (1 mg/l). Înrădăcinarea s-a atestat la a 10-cea zi de cultivare.

Aclimatizarea plantelor regenerate: Plantele cu un sistem radicular bine dezvoltat au fost transferate în pahare mici cu substrat sol-turba (3:1) pentru aclimatizare la condiţii *ex vitro*. După aclimatizare plantele au fost transferate în ghivece şi cultivate în condiţii de laborator până la maturitate. Aceste plante au fost desemnate ca somaclone induse de radiația gama și cultura *in vitro* **și numite generația SC$_0$**.

Determinarea variației somaclonale: Semințele somaclonelor SC$_1$ și SC$_2$ au fost semănate în blocuri randomizat în 3 repetiții câte 60 de boabe pentru fiecare genotip. Fiecare variantă fiind formată din trei genotipuri de triticale (Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021), care au inclus: martorul, forme expuse iradierii cu raze gama și forme obținute prin cultura *in vitro*. Pe parcurs s-au efectuat observaţii fenologice. Plantele au fost colectate în faza de vegetaţie (conform scării Zadocks): *Maturitatea deplină*, stadiul de vegetaţie: *Semințe ieşite din repausul germinativ secundar* (99) și în condiții de laborator au fost analizate după un șir de caractere agromorfologice. Cercetările s-au axat pe caracteristicile morfologice ale somaclonelelor fiind analizate după: talia plantei, numărul de frați fertili, lungimea spicului principal, numărul de internoduri, numărul de boabe, greutatea boabelor per plantă.

Analiza statistică: Estimarea valorii medii () pentru caracterele cantitative (talia plantei, numărul de frați fertili și internoduri per plantă, lungimea spicului principal și ultimului de internod, numărul de boabe, greutatea boabelor per plantă) a fost efectuată cu ajutorul pachetului de programe STATGRAPHICS Plus 5.0.

Rezultate și discuții

Utilizarea radiațiilor gama și culturii *in vitro* ca sursă de sporire a variabilității somaclonale este determinată de specificul acțiunii lor asupra proceselor de calusogeneză, embriogeneză și regenerare [23].

În cercetările noastre au fost obținuți o serie de regeneranți din embrioni maturi de triticale, iradiați cu raze gama, doza de 150 Gy și apoi introduși în cultura in vitro. Schimbările morfologice sunt observate încă la stadiile de dezvoltare a regeneranților pe mediile de cultura. Evaluarea aspectului morfologic al somaclonelor SC$_0$ a evidențiat modificări asupra caracterelor morfofiziologice. S-a observat că pentru fiecare genotip în parte sunt caracteristice variații fenotipice față de martor, cum ar fi: schimbări la nivel foliar, a sistemului radicular dar și după numărul de noduri, distanța între noduri, spice cu ariste scurte.

În rezultatul observărilor efectuate asupra perioadei de vegetație care include fazele și stadiile de vegetație, a somaclonele SC$_1$ și SC$_2$de triticale conform scării Zadocks s-a remarcat decalaj între stadiile de vegetaţie. Pentru somaclonele SC$_1$iradiate 188 TR 5021 s-a atestat variaţia morfologică – culoarea spicului, spic steril, s-au observat plante pitice şi semipitice comparativ cu forma martor. Pentru somaclonele Ingen 93, obținute prin cultura *in vitro*, s-a atestat că frunza steag este mai lată, mai mare și de culoare verde, iar la martor culoarea frunzei fiind verde-albăstruie, ceroasă și mai scurtă. **În urma** observaţiilor fenologice a somaclonelor SC$_2$ de triticale au fost evidenţiate variaţii morfologice ale spicului. Pentru SC$_2$, Ingen 93 obținute *in vitro* s-a atestat variaţia morfologică – spic ramificat și apariția spiculețelor secundare (Fig. 1).

Fig. 1. Variații morfologice ale spicului în comparație cu martorul: a) Ingen 93 M, b)Ingen 93 in vitro, spic ramificat și apariția spiculețelor secundare.



a b

Ulterior, au fost colectate plantele în faza de vegetaţie: *Maturitatea deplină,* stadiul de vegetaţie: *Semințe ieșite din repausul germinativ secundar* (99) pentru care au fost evaluaţi parametrii morfometrici ce prezintă interes agronomic.

În rezultatul evaluărilor biomorfologice s-a atestat variație semnificativă a valorii medii a caracterelor agromorfologice la somaclonele SC_1 și SC_2 de triticale, la nivel de 95 -99,9% și au depins de genotip, factorii luați în studiu și indicele analizat (Tabelele 1,2).

În rezultatul analizei statistice a datelor obținute pentru caracterul *numărul de frați fertili per plantă* s-a evidențiat reacție specifică pentru fiecare genotip, diferențele fiind semnificative la nivel de 95-99,9%.

Tabelul 1. Valorile medii ale caracterelor biomorfologice ale somaclonelor SC_1 de triticale.

Caracter / Genotipul	Numărul de frați fertili	Talia plantei,cm	Lungimea spicului principal, cm	Lungimea ultimului internod	Numărul de boabe/spic	Greutatea boabelor, g
	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %
Martor Ingen 35	1,06±0,11 59,97%	89,06±1,08 6,66%	11,21±0,18 9,26%	24,53±0,66 14,78%	23,73±2,42 56,00%	0,95±0,10 59,06%
RAD Ingen 35	0,76±0,16 109,29%	**80,18±1,62***** **10,13%**	11,4±0,22 9,96%	23,42±0,52 11,25%	**13,08±2,26**** **86,71%**	**0,44±0,09**** **102,07%**
In vitro Ingen 35	0,92±0,17 93,71%	**101,4±1,39***** **6,86%**	**12,7±0,2***** **7,87%**	**27,3±0,48**** **8,83%**	17,32±2,44 70,64%	0,70±0,12 87,44%
Martor Ingen 93	1,44±0,11 39,97%	102,5±1,58 8,04%	11,31±0,16 7,76%	28,92±0,71 12,87%	38,0±3,49 47,84%	1,45±0,13 48,20%
RAD Ingen 93	1,36±0,13 52,56%	101,8±2,50 13,45%	**12,4±0,19***** **8,46%**	**31,51±0,58**** **10,22%**	32,36±2,86 48,52%	**1,14±0,11*** **55,26%**
In vitro Ingen 93	**1,18±0,09*** **40,78%**	**116,33±2,50***** **11,19%**	**12,37±0,34***** **14,39%**	**34,07±0,64***** **9,84%**	**47,11±2,17*** **24,00%**	**1,85±0,11*** **31,47%**
Martor 188 TR5021	2,4±0,17 40,35%	115,4±0,96 4,57%	12,40±0,18 8,11%	41,38±0,65 8,72%	47,03±2,72 31,74%	1,20±0,08 36,41%
RAD 188 TR5021	**1,33±0,16*** **66,30%**	**79,38±2,27***** **15,68%**	**11,36±0,30*** **14,54%**	**21,17±0,55***** **14,41%**	**9,86±1,41***** **78,40%**	**0,25±0,04***** **98,19%**
In vitro 188 TR5021	**0,5±0,10***** **114,47%**	**89,31±1,32***** **8,09%**	12,32±0,24 11,04%	**27,54±0,53***** **10,60%**	**20,86±2,14***** **56,19%**	**0,77±0,09**** **65,34%**

*Notă: *, **, *** - diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,01 (în comparație cu martorul).*

Somaclonele SC_1au înregistrat micșorarea valorilor medii ale caracterului *numărul de frați fertili per plantă* cu 18,06 – 44,59% față de martor, pentru genotipurile Ingen 93(*in vitro*) și 188 TR(RAD). Cea mai mică valoare a mediei caracterului *frați fertili per plantă* (0,5) s-a estimat pentru genotipul 188TR (*in vitro*), fiind semnificativă la nivel de 99,9%, iar pentru somaclonele SC_2 s-a constatat creșterea valorilor maxime pentru aceleași genotipuri Ingen 93 (*in vitro*) cu 92% și 188 TR(RAD) cu 85% în comparație cu martorul. Pentru somaclonele SC_1 188 TR(RAD) s-a atestat că genotipul a avut impact semnificativ asupra caracterului dat, constituind 22,15%. Celelalte genotipuri au deținut valori medii, nesemnificative în comparație cu martorul, pentru toți factorii luați în studiu. Evaluarea gradului de variabilitate pentru caracterul *numărul de frați fertili per plantă*, este mare (39,97 – 151,47%) pentru ambele generații, ceea ce atestă o variație puternică.

Tabelul 2. Valorile medii ale caracterelor biomorfologice ale somaclonelor SC_2 de triticale.

Caracter / Genotipul	Numărul de fraţi fertili	Talia plantei, cm	Lungimea spicului principal, cm	Lungimea ultimului internod	Numărul de boabe/spic	Greutatea boabelor, g
	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%
Martor Ingen 35	0,86±0,13 84,26%	75,93±2,04 14,75%	13,2±0,22 9,14%	26,16±0,91 19,10%	75,66±4,10 29,73%	3,52±0,23 36,16%
RAD Ingen 35	0,56±0,15 151,47%	**61,75±2,77***** **24,61%**	12,43±0,36 16,00%	**21,59**±0,**36**** **34,61%**	**60,2±6,41*** **58,40%**	**2,04±0,28***** **77,56%**
In vitro Ingen 35	0,9±0,16 98,30%	69,31±2,62 20,73%	13,75±0,38 15,35%	25,25±1,41 30,70%	64,06±5,08 43,46%	**2,12±0,26***** **69,37%**
Martor Ingen 93	0,76±0,12 88,55%	69,88±0,97 7,62%	13,21±0,11 4,83%	24,03±0,65 14,95%	60,76±2,30 20,81%	2,78±0,11 22,98%
RAD Ingen 93	0,95±0,21 106,79%	68,73±3,96 27,63%	12,73±0,38 14,48%	23,82±1,89 38,09%	51,95±5,46 50,46%	**1,91±0,26**** **66,46%**
In vitro Ingen 93	**1,46±0,15***** **58,66%**	**79,11±1,38***** **9,56%**	**15,21±0,3***** **10,97%**	25,61±0,63 13,56%	**75,4±4,18**** **30,39%**	**3,39±0,24*** **39,69%**
Martor 188 TR 5021	0,6±0,12 107,58%	69,82±2,57 18,45%	12,44±0,34 13,74%	24,3±1,28 26,51%	70,04±5,57 39,77%	2,03±0,23 58,86%
RAD 188 TR 5021	**1,11±0,15*** **72,05%**	**82,5±3,21**** **20,26%**	**15,03±0,42***** **14,55%**	**33,07±1,68***** **26,40%**	71,92±5,84 42,25%	**3,05±0,28**** **48,82%**
In vitro 188 TR 5021	0,96±0,18 103,38%	71,85±2,13 16,29%	**14,53±0,36***** **13,81%**	23,21±1,16 27,43%	58,56±4,69 43,86%	2,0±0,20 55,02%

*Notă: *, **, *** - diferenţă semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparaţie cu martorul).*

Valorile medii ale caracterului *talia plantei* variază pentru somaclonele SC_1 obţinute prin cultura *in vitro* şi este dependentă de genotip. Astfel, la genotipurile Ingen 93(*in vitro*) şi Ingen 35(*in vitro*) s-au constatat valori medii mai mari faţă de martor (cu 13,49 – 13,89%). Valoare maximă a caracterului *talia plantei* pentru genotipul Ingen 93 (*in vitro*),are aceeaşi tendinţă şi în generaţia următoare, diferenţele fiind semnificative la nivel de 99,9%.

La variantele iradiate cu raze gama (150 Gy) s-au înregistrat valori medii mai mici faţă de martor pentru toate genotipurile cu 9,98 – 31,36 %. Deci, radiaţia gama a avut efect inhibitor asupra caracterului *talia plantei* pentru toate somaclonele SC_1 studiate, iar pentru somaclonele SC_2 188 TR (RAD) efectul radiaţiei a indicat valori medii mai mari cu18%, faţă de martor, semnificative la nivel de 99 %. Aceasta demonstrează sensibilitatea genotipului 188 TR la acţiunea factorilor luaţi în studiu. Coeficientul de variaţie a atins valori mici şi medii (4,57 – 24,61%), indicând că caracterul *talia plantei* este stabil în ambele generaţii.

În rezultatul analizei datelor obținute pentru caracterul *lungimea spicului principal* a somaclonelor SC_1 și SC_2s-a evidențiat o reacție specifică pentru fiecare genotip. S-au constatat valori medii mai înalte cu 9,37- 13,29% pentru genotipurile Ingen 93 (*in vitro*, RAD) și Ingen 35 (*in vitro*)în prima generație și a avut aceeași tendință pentru unele genotipuri și în generația următoare, diferențele fiind semnificative la nivel de 99,9% în comparație cu martorul. Valori medii mai înalte cu 15-20% au fost înregistrate pentru genotipurile Ingen 93 *(in vitro*) și 188 TR (*in vitro*). S-a constatat aceeași evoluție a genotipului 188 TR (RAD) în ambele generații, tendință demonstrată și la alte caractere luate în studiu. Cea mai înaltă valoare a caracterului lungimea spicului (15,21 cm) s-a înregistrat pentru somaclonele SC_2, Ingen 93(*in vitro*). Coeficientul de variație a acestui indice a constituit 8,11 – 16%, ceea ce corespunde cu un nivel mic și mediu de variabilitate.

În mod similar, pentru somaclonele SC_1, la variantele supuse iradierii cu raze gama și obținute *in vitro*, s-au atestat valori mai mari ale caracterului *lungimea ultimului internod* cu 4,33 – 17,80%, față de martor pentru genotipurile Ingen 93 (RAD, *in vitro*) și Ingen 35 (*in vitro*). Cele mai mici valori medii a înregistrat genotipul 188TR (RAD, *in vitro*), constituind (21,17cm), respectiv (27,54cm), diferențele fiind semnificative la nivel de 99,9%. Iar pentru somaclonele SC_2 s-a înregistrat micșorarea valorilor medii ale caracterului *lungimea ultimului internod* la variantele supuse iradierii cu raze gama. Cele mai mici valori medii a înregistrat genotipul Ingen 35 (RAD), constituind 18% (21,59cm), iar pentru genotipul 188TR (RAD), s-au atestat valori mai mari ale caracterului cu 36%, cu o semnificație de 99-99,9% față de martor. Această creștere, probabil se datorează specificului impactului radiației gama în condițiile *in vitro*asupra genotipului dat.

Evaluarea gradului de variabilitate a caracterul *numărul de boabe per spic principal* a indicat valori medii mai mari cu 23,97%, față de martor la genotipul Ingen 93 (*in vitro*), semnificativ (95%). Aceste somacloneSC$_1$ au înregistrat și cele mai mari valori (47,11) ale caracterului respectiv. Efectul radiației gama s-a remarcat și asupra indicelui *numărul de boabe per spic principal*. S-au atestat diferențe semnificative (99 – 99,9%), cu 44,88 – 79,04% mai mici în comparație cu martorul pentru genotipul Ingen 35 (RAD) și 188TR (RAD, *in vitro*). Valoare cea mai mică (9,86) s-a înregistrat la genotipul 188TR (RAD). Evaluarea variabilității a caracterul *numărul de boabe per spic principal* a atestat o variație mare (24,00 – 86,71%). Pentru somaclonele SC_2 caracterul *numărul de boabe per spic principal* a indicat aceeași tendință de creștere în comparație cu SC_1, fiind atestate valori mediimai mari cu 24%, față de martor la genotipul Ingen 93(*in vitro*), cu o semnificație de 99%. Aceste somaclone au înregistrat și cele mai mari valori (75,4) ale caracterului respectiv, numărul de boabe per spic a ajuns la 124 de boabe. Efectul radiației gama s-a remarcat și asupra indicelui *numărul de boabe per spic principal*. S-au atestat diferențe semnificative (95%), cu 21% mai mici în comparație cu martorul pentru genotipul Ingen 35 (RAD). Coeficientul de variație a caracterul *numărul de boabe per spic principal*, pentru somaclonele SC_2a atestat o variație mare (20,81 – 58,40%), dar în comparație cu SC_1 mai mică.

Valoarea medie a caracterului *greutatea boabelor* pentru somaclonele SC_1și SC_2 a înregistrat diferențe semnificative dintre variante la nivel de 95 -99% la toate genotipurile în comparație cu martorul. Somaclonele SC_1, Ingen 35 (RAD), Ingen 93 (RAD) și 188 TR (RAD, *in vitro*) au avut valori medii mai mici cu 21,38 -79,17% față de martor. Acţiunea culturii *in vitro*asupra variaţiei caracterului *greutatea boabelor* per spic, se menţine la ambele generaţii de somaclone. Astfel, valoarea cea mai mare a acestui caracter față de martor a fost remarcată pentru genotipul Ingen 93 (*in vitro*) (SC_2) și a constituit 27,58%. Genotipul 188 TR(RAD) a atestat o îmbunătățire semnificativă a caracterului cu 50% față de martor. Celelalte forme au avut aceiași tendință a valorilor medii față de martor. Evaluarea gradului de variabilitate pentru caracterul dat a atins valori mari (22,98 -77,56%), ceea ce denotă o variabilitate mare a acestui caracter, dar mai mic în comparație cu SC_1.

Analiza dispersionala a rezultatelor obținute prin aplicarea testului ANOVA, denotă că asupra variației caracterelor cantitative la somaclonele de triticale (SC_1-SC_2) o contribuție semnificativă (la nivel de 95 - 99,9%) o are genotipul cât și factorii studiați (RAD și cultura *in vitro*) și interacțiunea dintre genotip și factori (Tab. 3).

Puterea de influență a genotipului în dependență de caracterul biomorfologic, factorul și generația analizată a manifestat valori cuprinse între 4,34 -30,77%. Cele mai mari valori ale acestui indice au fost înregistrate pentru caracterele: numărul de frați fertili 22,15% (SC_1 iradiate), talia plantei 28,74% (SC_1), lungimea ultimului internod 30,77 (SC_1), obținute prin cultura *in vitro*, greutatea boabelor 15,01-22,70% (SC_1-SC_2),pentru somaclonele obținute *in vitro.* Influența genotipului este semnificativă la nivel de 95-99,9 % pentru majoritatea caracterelor în ambele generații.

Tabelul 3. Analiza varianţei indicilor biomorfologici la somaclonele SC_1 şi SC_2(testul ANOVA).

Sursa variației	F	PI,%(SC_1)	F	PI,%(SC_2)
Numărul de frați fertili				
Genotipul	24,03 ***	**22,15**	0,96	1,25
RAD	14,64***	6,75	1,79	1,16
Genotip – RAD	5,12**	4,71	2,61*	3,40
Genotipul	6,47**	4,93	4,25**	5,25
Cultura *in vitro*	49,43***	18,84	6,89***	4,26
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	27,97***	**21,32**	1,11	1,37
Talia plantei				
Genotipul	39,18***	26,84	3,52*	4,02
RAD	48,49***	**16,67**	0,12	0,00
Genotip RAD	10,53***	7,21	11,90***	**13,60**
Genotipul	45,66***	28,74	1,83	2,19
Cultura *in vitro*	10,47***	3,29	4,58*	2,73
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	35,96***	**45,32**	7,42***	**8,87**
Lungimea spicului principal				
Genotipul	4,74**	5,65	4,14**	4,34
RAD	0,16	0,09	5,53*	2,89
Genotip - RAD	6,93**	8,27	16,49***	**17,28**
Genotipul	2,84*	3,27	2,95*	6,28
Cultura *in vitro*	13,87***	7,98	63,50***	**28,88**
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	5,11**	5,87	3,32*	2,92
Lungimea ultimului internod				
Genotipul	68,76***	18,93	7,44***	8,13
RAD	142,38***	19,60	2,26	1,23
Genotip - RAD	151,13***	**41,62**	10,93***	**11,94**
Genotipul	84,16***	**30,77**	2,74*	3,61
Cultura *in vitro*	13,37***	2,44	1,07	0,00
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	110,62***	**40,45**	0,43	0,57
Numărul de boabe per spic				
Genotipul	14,59***	11,0	7,53***	**9,10**
RAD	57,98***	**21,87**	2,79*	1,68
Genotip - RAD	16,96***	12,79	1,78	2,15
Genotipul	27,46***	**21,98**	3,19*	3,94
Cultura *in vitro*	11,29***	4,51	0,04	0,02
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	19.83***	15,87	5,73**	**7,07**
Greutatea boabelor				
Genotipul	14,60***	12,78	4,60**	4,89
RAD	46,87***	**20,52**	4,74*	2,51
Genotip - RAD	4,16**	3,64	15,07***	**16,02**
Genotipul	23,41***	**22,70**	14,51***	**15,01**

Cultura *in vitro*	1,01	0,48	0,23	0,15
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	7,16***	6,94	10,01***	10,35

*Notă: * ,**, *** - diferența semnificativă pentru P <0,05;0,01;0,001.*

Puterea de influență a radiației asupra caracterelor analizate este maximală la somaclonele SC_1 pentru indicii: talia plantei- 24,67 %, numărul de boabe -21,87% și greutatea boabelor- 20,52 %, fiind semnificative la nivel de 99,9%. Acțiunea maximă a manifestat interacțiunea genotip – RAD fiind 41,62% (SC_1), pentru somaclonele SC_2 această interacțiune a constituit 17,28 %, pentru caracterul lungimea spicului principal. Factorului genotip-RAD a avut un impact considerabil asupra somaclonelor SC_2, fiind semnificativ, manifestând efect specific la majoritatea caracterelor studiate.

Cultura *in vitro* a influențat semnificativ variația caracterului *lungimea spicului principal* puterea de influență fiind 28,88% (SC_2), iar la somaclonele SC_1 a avut impact semnificativ pentru valoarea caracterului *numărul de frați fertili* (18,84%), în timp ce interacțiunea genotip – cultura *in vitro* a prezentat o putere de influență maximală pentru indicele: *talia plantei* 8,87 - 45,32% (SC_1-SC_2), *lungimea ultimului internod* 40,45%(SC_1).

Concluzii

În rezultatul cercetării influenței radiației gama (150Gy) și culturii *in vitro* a embrionilor maturi de triticale s-a constatat o variație semnificativă a caracterelor studiate (numărul de frați fertili, talia plantei, lungimea spicului principal, numărul de noduri, numărul și greutatea boabelor), ceea ce demonstrează impactul acestor factori în calitate de surse ce pot fi utilizate în sporirea variabilității genetice a somaclonelor prin crearea de forme cu însușiri valoroase.

Cultura *in vitro* și iradierea cu raze gama a indus variații semnificative la nivel de 95 – 99,9% ale valorilor medii la 6 caractere în comparație cu martorul, modificând astfel media în dependență de genotip și indicele studiat.

Evaluarea expresiei caracterelor cantitative a scos în evidență valori mici și medii ale variabilității pentru majoritatea însușirilor cercetate. Coeficientul de variație pentru caracterele: numărul de frați fertili, numărul de boabe per spic și greutatea boabelor a atins valori mari, ceea ce denotă posibilitatea evidențierii unor forme cu însușiri superioare față de genotipurile inițiale.

În rezultatul evaluării s-au evidențiat somaclonele (SC_2) derivate de la genotipul Ingen 93(*in vitro*) și 188 TR(RAD), pentru care toate caracterele analizate au avut valori mai mari decât martorul, semnificative la nivel de 95 – 99,9%, determinative fiind 4 caractere biomorfologice: talia plantei, lungimea spicului principal, numărul de boabe și greutatea boabelor.

Analiza datelor experimentale prin aplicarea testului ANOVA denotă că contribuţia radiaţiei gama asupra indicilor: numărul de frați fertili, talia plantei, lungimea ultimului internod, numărul de boabe și greutatea boabelor, constituie 95-99,9%. Acțiune maximă a manifestat genotipul (30,77%) și interacțiunea factorilor genotip - RAD (17,28-41,62%), genotip – cultura *in vitro* (21,32–40,45%) în dependenţă de caracter (99,9%). Efectul radiației pe parcursul generațiilor este un factor care acționează specific și depinde de genotip și caracterul studiat.

Rezultatele obținute confirmă eficacitatea factorilor cercetați în extinderea variabilității genetice la triticale, date ce argumentează necesitatea analizei somaclonelor în următoarele generații în vederea selectării genotipurilor cu caractere performante.

Referințe:

1. BAIRU, M., AREMU, A. and J. Van STADEN. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. In: *Plant Growth Regul*., 2011, 63, p. 147–173.
2. HAMMOUDA, D., BAAZIZ, N., and KHALFALLAH, N. Genetic characterization of octoploid (AABBDDRR) and hexaploid (AABBRR) triticales. În: *Eur. Sci. J.*, 2015, vol.11, no. 9, p. 284–296.
3. PYKALOA, S., and DUBROVNA, O. Variability of the Triticale Genome in Culture *in vitro*. In: *Cytology and Genetics*, 2018, vol. 52, no. 5, p. 385–393.

4. McGOVERIN, CM., SNYDERS, F.,MULLER, N.,BOTES, W.,FOX, G.,MANLEY, M. A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. In: *J. Sci. Food Agric.*, 2011 May, 91(7), p. 1155-1165.
5. FAN, Zhu. Triticale: Nutritional composition and food uses. In: *Food Chemistry*, Volume 241, 15 February 2018, p. 468-479.
6. VEVERIŢĂ, E., LEATAMBORG, S. Realizări în crearea soiurilor noi de triticale în Republica Moldova, În: *,,Ştiinţa în Nordul Republicii Moldova: realizări, probleme, perspective”,* materialele conf. şt., 21 - 22 iunie 2019, Bălţi, Moldova, 2019 , p. 180-185.
7. LARKIN, P., SCOWCROFT, W. Somaclonal variation: a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 1981, bd. 60, p. 197-214.
8. KAEPPLER, S., KAEPPLER, H., RHEE, Y. Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. In: *Plant Molecular Biology*, 2000, 43(2-3), p. 179-188.
9. FOURRÉ, J., BERGER, P., NIQUET, L., ANDRÉ, P. Somatic embryogenesis and somaclonal variation in Norway spruce: morphogenetic, cytogenetic and molecular approaches. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, vol. 94, p. 159–169.
10. MICHAEL, W., ADEYEMI, O., JOHANNES, V. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. In: *Plant Growth Regulation*, 2011, vol. 63, p. 147–173.
11. BOUIAMRINE, El H., DIOURI, M. and EL-HALIMI, R. Assessment of somaclonal variation in regenerated plants from immature embryos culture of durum wheat. In: *Int. J. Agric. Biol.*, 2012, 14, p. 941–946.
12. ТАНАСИЕНКО, И., ЕМЕЦ, А., БЛЮМ, Я. Оценка эффективности каллусообразования и регенерации яровых сортов ячменя, районированных на территории Украины. В: Цитология и генетика, 2009, № 4, с. 12-19.
13. PADMAJA, G., REDDY, V., and REDDY, G. Somaclonal variation from regenerants of mature embryo calli of triticale. In: *Indian J. Exp. Biol*., 1993, vol. 31, no. 3, p. 238–241.
14. VILLAREAL, R., MUJEEB, K. and PENA, P. Agronomic performance and quality characteristics of tissue culture derived lines of spring wheat (Triticum aestivum L.) cultivar Pavon. In: *Cereal Res. Com.*, 1999, 27, p. 41–48.
15. ZIMNY, J. and BEDNAREK, P. Tissue culture-induced genetic and epigenetic variation in triticale (Triticosecale spp. Wittmack ex A. Camus 1927) regenerants. In: *Plant Mol. Biol.*, 2015, vol. 89, no. 3, p. 279–292.
16. RASTOGI, J., BUBBER, P., and SHARMA, Brij Lal. Somaclonal Variation: A new dimension for sugarcane improvement. In: *GERF Bulletin of Biosciences*, June 2015, 6(1), p. 5-10.
17. ROGHAYEH, Ah., NASSE, Z., et al. Efficient *In Vitro* Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Mature and Immature Embryos of Wheat (Triticum aestivum L.). In: *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 2016, vol. 59: e160288.
18. PATADE, V., SUPRASANNA, P. Radiation induced *in vitro* mutagenesis for sugarcane improvement. In: *Sugar Tech*., 2008, 10(1), p.14-19.
19. MUSHTAQ, Ah., RAKESH, Ch. Assessment of the effects of gamma radiations on various morphological and agronomic traits of common wheat (Triticum aestivum L.) var. WH-147. In: *European Journal of Experimental Biology*, 2015, 5(7), p. 6-11.
20. CRAVCENCO, O. *Particularităţile procesului de regenerare a plantelor şi inducerii variabilităţii genotipice la porumbul ceros in vitro*. Autoreferat al tezei de doctor în şt. biologice, Chişinău, 1999, p. 24.
21. GRIGOROV, T., SMEREA, S., ANDRONIC, L. Variabilitatea caracterelor agro morfologice la somaclonele de orz (SC_0) indusă de radiaţie gama şi infecţie virală. În: *„Realizări ştiinţifice în ameliorare şi tehnologii inovative la culturile cerealiere în contextul schimbărilor climatice”*, materialele conf. şt., 4-5 septembrie 2020, Chişinău, 2020, p. 153-161.
22. MURASHIGE, T. and F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. In: *Physiol. Plant*, 1962, 15, p. 473–497.
23. CIOBANU, R. Influenţa genotipului şi a razelor gama asupra regenerării de plantule în cultura *in vitro* la triticale. În: *„Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice”*: materialele conf. şt. intern., ediţia a II-a, 23 noiembrie 2018, Chişinău, 2018, p. 164-170.

Date despre autor:
Renata CIOBANU, cercetător științific, Laboratorul Genetica Rezistenței Plantelor, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: renata.ciobanu@igfpp.md
ORCID: 0000-0003-3087-8634

Notă: *Lucrarea a fost realizată în cadrul Proiectului 20.80009.5107.03 Valorificarea eficientă a resurselor genetice vegetale și biotehnologiilor avansate în scopul sporirii adaptabilității plantelor de cultură și schimbările climatice(Program de Stat 2020-2023).*

Prezentat la 03.02.2023