

VARIABILITATEA CARACTERELOR CANTITATIVE LA ORZ ÎN GENERAȚIILE M_0 - M_3 LA PLANTELE SUPUSE ACȚIUNII INFECȚIEI VIRALE

Grigorov T., Smerea S., Andronic L., Berzoi V.

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM

Rezumat

În rezultatul cercetării influenței virusului mozaicului dungat al orzului (VMDO) asupra manifestării caracterelor cantitative (taliea plantei, lungimea spicului principal, lungimea ultimului internod, numărul de boabe/spic și frați fertili/plantă, numărul internodurilor) s-a constatat variația semnificativă a valorilor coeficienților de variație a caracterelor studiate la plantele supuse acțiunii infecției virale și descendenții acestora pe parcursul a trei generații. VMDO a cauzat modificarea coeficientului de variație a caracterelor cantitative la soiurile evaluate, în comparație cu martorul. VMDO induce repercusiuni cu o putere maximală în prima generație pentru taliea plantei, lungimea ultimului internod, păstrând o amplitudine de variație majoră și în generația a treia. VMDO reprezintă pentru orzul de primăvară o sursă semnificativă de variație, puterea de influență a căruia este potențată de particularitățile genotipului. Datele obținute evidențiază posibilitatea utilizării infecției virale în calitate de inductor al diversității și variabilității genotipice la plante.

Cuvinte cheie: variabilitate, virusul mozaicului dungat al orzului, caractere cantitative, orz

Depus la redacție 10 octombrie 2013

Adresă pentru corespondență: Grigorov Tatiana, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM, strada Pădurii, 20, MD-2002 Chișinău, Republica Moldova; e-mail: tatianarailean27@yahoo.com; tel.(+373 22) 660389.

Introducere

Virusurile reprezintă nu doar agenţi patogeni, care dereglează metabolismul plantei, producând transformări în morfologia şi fiziologia acesteia, dar şi factori mutageni, care duc la sporirea restructurărilor şi instabilitatea materialului genetic al celulei gazdă. Primele date despre influenţa infecţiei virale asupra substratului ereditar la plante au fost relatate în 1933 de către Kostoff [6]. Conform autorului virusul mozaicului tutunului a indus iregularităţi în toate stadiile dividerii meiotice la plantele de tutun. Mai târziu, Sprague et al. [11] au relatat date privitor însuşirile mutagene ale virusului mozaicului dungat al orzului (VMDO), care a majorat rata mutaţiilor genelor expresate în endospermul boabelor de porumb. În cercetările ulterioare Sprague şi McKinney [12, 13], au observat fenomenul „*abberant ratio*” pentru câteva generaţii de la descendenţa plantelor de porumb sănătoase, obţinute de la plante infectate cu virusul respectiv. Acest fenomen reprezintă o abatere în raportul mendelian al segregării fenotipice în F_2 şi în generaţiile ulterioare.

Informaţii despre inducerea instabilităţii genetice de către VMDO sunt relatate de către Sandfaer [10], care a evidenţiat apariţia aneuploizilor, triploizilor la plantele de orz. Mottinger et al. [8] au atestat mutaţia genei alcooldehidrogenaza la porumb prin inserţia unui fragment de 3,3 kb, iar Yan et al. [14] remarcă activarea elementelor transpozabile inactive la plantele de porumb. În cercetările noastre anterioare a fost stabilită majorarea frecvenţei schimburilor între cromatidele surori, inducerea polimorfismului proteinelor de rezervă, mărirea numărului de micronuclee şi apariţia de C-metafaze, devieri în conjugarea cromozomilor omologi şi segregarea materialului genetic, precum şi evidenţierea rearanjamentelor genetice în meioză la orz, prin care este dovedit impactul genotoxic al acestui agent patogen la plantele gazdă [1, 2, 3, 4].

În lucrarea dată ne-am propus studierea acţiunii virusului mozaicului dungat al orzului asupra variaţiei caracterelor cantitative la descendenţii de orz de primăvară obţinuţi de la părinţi infectaţi cu VMDO.

Materiale şi metode

În calitate de material biologic au fost utilizate trei soiuri de orz de primăvară (*Hordeum vulgare* L., $2n=14$): Sonor, Galactic, Unirea. Plantulele în faza de 2-3 frunzuliţe au fost inoculate mecanic cu virusul mozaicului dungat al orzului (Barley Stripe Mosaic Virus, virus ARN monocatenar, tripartit). Plantele infectate au constituit varianta M_0 , iar descendenţii acestora $M_1 - M_3$. În calitate de martor au servit plantele sănătoase stabilite libere de germeni virali. Diagnosticul virusologic a fost realizat prin procedeul de contrastare negativă a microscopiei electronice. Aprecierea impactului infecţiei virale asupra variaţiilor caracterelor cantitative a fost efectuată în baza analizei varianţei (ANOVA), testului Student, puterii de influenţă (PI,%), coeficientului de variaţie (Cv,%). Aceşti indici au fost determinaţi pentru caracterele cantitative: talia plantei, lungimea spicului principal, lungimea ultimului internod, numărul internodurilor, numărul de boabe per spic şi numărul fraţilor fertili per plantă. Analiza matematică a datelor s-a efectuat cu ajutorul pachetului de programe STATGRAPHICS Plus 2.1.

Rezultate şi discuţii

Infectarea plantelor de orz cu VMDO a cauzat modificări ce au generat repercusiuni în generaţiile ulterioare pentru caracterele cantitative ce determină productivitatea

plantelor. Potența impactului infecției asupra caracterelor: talia plantei, lungimea ultimului internod, frați fertili per plantă a variat cu o amplitudine diferită la descendenții $M_1 - M_3$ specifică caracterului evaluat. În cadrul cercetărilor efectuate infecția virală a influențat semnificativ ($P \leq 0,001$) asupra variației numărului de boabe per spic în toate generațiile, puterea de influență maximă fiind de 6,21% în M_1 .

Este cunoscut faptul, că infecțiile virale, inclusiv cea provocată de virusul mozaicului dungat al orzului influențează productivitatea plantelor de orz, micșorând acest indice. Conform datelor din literatură numărul de boabe per spic corelează direct cu productivitatea și este un indice mult mai sensibil față de viroze [9].

Pentru determinarea gradului de variație a caracterelor cantitative se utilizează coeficientul de variație ($C_v, \%$), care permite obținerea informației, privind norma de reacție la factorii externi și interni ai plantei în întregime sau a fiecărui caracter în parte [15]. 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 numărul de spiculețe în spic și lungimea spicului principal variază slab ($C_v < 10\%$); numărul de boabe în spic variază mediu ($10\% < C_v < 20\%$), iar numărul de frați fertili per plantă – puternic ($C_v > 20\%$) [16, 17].

Conform cercetărilor efectuate de noi, a fost evidențiată o variație semnificativă a valorilor indicilor cantitativi la plantele de orz, care sunt dependente de genotip, caracterul și impactul factorului luat în studiu. Prin urmare, coeficientul de variație la caracterul *lungimea spicului principal*, la soiul Galactic, constituie 13,02 – 24,63% sub influența VMDO (în generațiile $M_0 - M_3$), ceea ce corespunde unui nivel înalt de variabilitate, deși acestui indice îi este caracteristic un grad mic de variație (Figura 1). La varianta martor pe parcursul celor trei generații analizate valorile coeficientului de variație constituie 11,39 – 15,59%, prezentând o variabilitate medie.

La soiurile Unirea și Sonor supuse acțiunii infecției virale caracterul *lungimea spicului principal* a variat mai lejer în comparație cu s.Galactic, coeficientul de variație atingând valoarea de 11,84 și 13,37% (Figura 1.A, B). Acest fapt indică despre particularitățile genotipice și reactivitatea specifică a fiecărui soi. O plasticitate mai sporită, de asemenea, a soiului Galactic în cazul aplicării complexe a VMDO cu razele gama, a fost evidențiată în cercetările noastre anterioare [18].

VMDO a influențat mai pronunțat asupra caracterului *numărul de boabe în spic*, la care indicele coeficientului de variație s-a mărit de 1,0 – 1,7 ori la soiurile Sonor și Unirea ($M_3 - M_0$) în comparație cu martorul. Cea mai majoră variație a fost atestată în generațiile $M_0 - M_1$ (37,54 – 44,17%) (Figura 2.A, B). Acțiunea infecției virale asupra variației caracterului *numărul de boabe per spic*, la soiul Galactic se menține în generațiile $M_0 - M_1$, sporind semnificativ deviațiile în $M_2 - M_3$. Astfel, valoarea coeficientului de variație atinge 90,83% (M_3), ceea ce este de 6,4 ori mai major în comparație cu martorul în generația a treia (Figura 2.C).

Evaluarea gradului de variabilitate a caracterului *frați fertili per plantă* a evidențiat o variație puternică a acestui indice atât la varianta martor, cât și la varianta cu infecție virală, confirmând cele relatate de alți autori [16,17]. Cu toate acestea, coeficientul de variație atinge cele mai înalte valori în rezultatul acțiunii VMDO, care a majorat acest indice de 1,2 – 1,36 ori în comparație cu martorul în generația M_1 la genotipurile Sonor și Galactic (Figura 3).

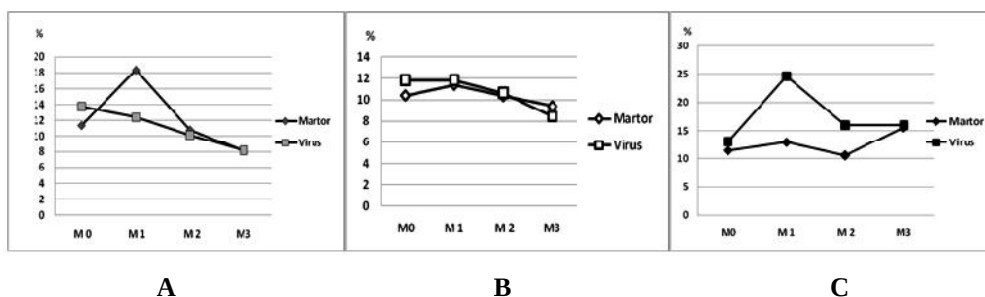


Figura 1. Coeficientul de variație (%) pentru caracterul *lungimea spicului principal* la plantele supuse acțiunii infecției virale și descendenții acestora (M₁ – M₃) la soiurile: A) Sonor; B) Unirea; C) Galactic.

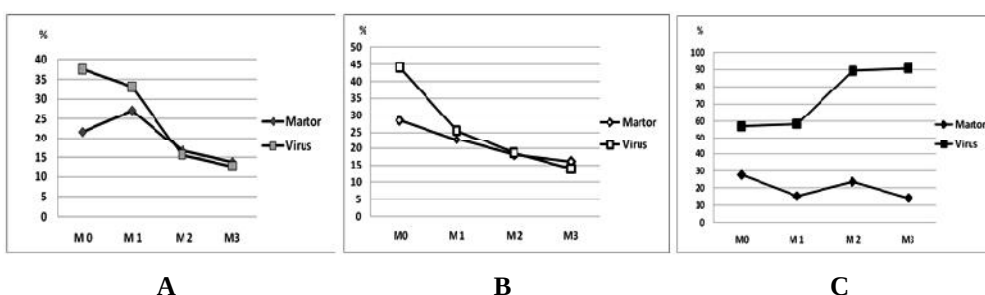


Figura 2. Coeficientul de variație (%) pentru caracterul *numărul de boabe per spic* la plantele supuse acțiunii infecției virale și descendenții acestora (M₁ – M₃) la soiurile: A) Sonor; B) Unirea; C) Galactic.

Analiza datelor experimentale prin aplicarea testului ANOVA denotă că VMDO a influențat semnificativ variația caracterelor cantitative, la plantele de orz în generațiile M₀ – M₃ (tabelul 1). Acțiune maximă a manifestat genotipul, puterea de influență a căruia a atins valori de la 3,69 – 63,56%, în dependență de caracterul bio-morfologic și generația analizată. Cele mai înalte valori ale acestui indice au fost înregistrate pentru caracterele: *talia plantei* 47,6 – 63,56% (M₃ – M₂) și *lungimea ultimului internod* 40,63% (M₂). Influența genotipului este semnificativă la nivel de 99,9% pentru toate caracterele, indiferent de generațiile studiate.

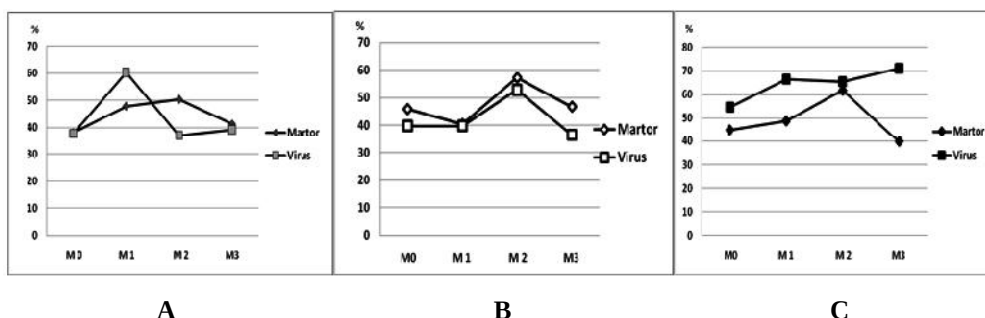


Figura 3. Coeficientul de variație (%) pentru caracterul *frați fertili* la plantele supuse acțiunii infecției virale și descendenții acestora (M₁ – M₃) la soiurile: A) Sonor; B) Unirea; C) Galactic.

Infecția virală a contribuit la majorarea coeficientului de variație a caracterului *taliea plantei* de 1 – 1,5 ori ($M_0 - M_1$) la soiul Unirea și de 1,3 ori (M_3) la soiul Sonor, în comparație cu varianta martor. La soiul Galactic acest indice a crescut de 3,1 – 4,2 ori pe parcursul celor trei generații (figura 4).

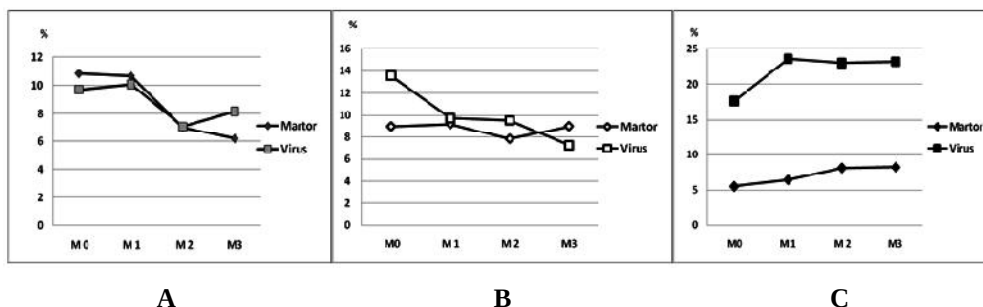


Figura 4. Coeficientul de variație (%) pentru caracterul *taliea plantei* la plantele supuse acțiunii infecției virale și descendenții acestora ($M_1 - M_3$) la soiurile: A) Sonor; B) Unirea; C) Galactic.

Tabelul 1. Contribuția sursei de variație în generațiile $M_0 - M_3$ asupra variabilității caracterelor cantitative la orzul de primăvară (%).

Caracterul	Sursa variației	PI, % (M_0)	PI, % (M_1)	PI, % (M_2)	PI, % (M_3)
1		2	3	4	5
Taliea plantei					
Genotip		5,33***	22,7***	63,56***	47,60***
Virus		39,15 ***	0,46*	1,48***	0,52*
Genotip – Virus		0,66*	0,01	0,009	1,73***
Lungimea spicului principal					
Genotip		17,28***	3,93***	14,52***	12,00***
Virus		3,84***	0,1	0,16	5,38***
Genotip – Virus		0,82*	4,2***	0,47	9,91***
Lungimea ultimului internod					
Genotip		13,04***	22,08***	40,63***	18,09***
Virus		11,88***	0,61**	0,00	0,01
Genotip – Virus		2,77	0,73*	0,40	0,81*
Frați fertili per plantă					
Genotip		7,52***	7,42***	12,89***	22,95***
Virus		3,05***	3,03***	1,01**	0,10
Genotip - Virus		0,59	0,58	0,17	8,38***
Numărul boabelor per spic					
Genotip G		3,61***	2,69***	12,90***	16,39***
Virus		3,11***	6,21***	5,91***	4,98***

Tabelul 1. (Continuare)

1	2	3	4	5
Genotip – Virus	0,43	7,51***	7,57***	6,64***
Numărul internodurilor				
Genotip	10,73***	17,04***	10,38***	11,57***
Virus	0,45*	0,04	1,51***	0,60*
Genotip – Virus	2,43***	3,19***	0,67*	2,79***

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

Puterea de influență a VMDO asupra caracterelor analizate este maximă în prima generație pentru indicii *taliei plantei* (11,88%) și *lungimea ultimului internod* (39,15%), fiind semnificativă în intervalul de confidență de 99,9%.

Însușirile metrice sunt controlate de mai multe gene, fiecare contribuind la formarea și expresia caracterului, acționând în mod aditiv. Cauzele variațiilor caracterelor cantitative pot fi diferite. Însușirile poligene moștenite non-mendelian sunt influențate de epistazii, pleiotropisme, precum și de factorii de mediu. Apariția grupelor noi de indivizi cu valori semnificativ deosebite și netipice formelor inițiale poate fi rezultatul inducerii unor forme recombinante, descendente de la părinți infectați. Asemenea efecte generate de infecția virală au fost descrise în cazul infectării tomatelor cu virusul mozaicului tutunului în complex cu virusul X al cartofului [7]. Nu pot fi excluse și modificări de natură epigenetică, induse de activarea diferențiată a genelor sub acțiunea virozelor. Această supoziție este susținută prin rezultatele cercetărilor efectuate asupra plantelor de tutun infectate cu virusul mozaicului tutunului, conform cărora s-a demonstrat, că infecția virală induce un semnal sistemic și supermetilarea ADN-ului – efecte ce se transmit în următoarele generații [5, 8]. Rezultatele obținute în cercetările noastre indică, că succesul în ameliorarea unor caractere cantitative depinde nu numai de elementul genetic și relația stabilită cu mediul, dar și de componentele sursei de variație și prioritar de interacțiunea lor.

Concluzii

În rezultatul cercetării influenței VMDO asupra manifestării caracterelor cantitative (*taliei plantei*, *lungimea spicului principal*, *lungimea ultimului internod*, *numărul de boabe per spic*, *numărul fraților fertili per plantă* și *numărul internodurilor*) s-a constatat variația semnificativă a valorilor coeficienților de variație a caracterelor studiate la plantele supuse acțiunii infecției virale și pe parcursul următoarelor trei generații.

VMDO a cauzat devierea coeficientului de variație a caracterelor cantitative la descendenții plantelor infectate, în comparație cu martorul, modificând valoarea acestuia în dependență de genotip, generație și indicele bio-morfologic studiat.

VMDO induce repercusiuni cu o putere maximală în prima generație pentru caracterele *taliei plantei*, *lungimea ultimului internod*, păstrând o amplitudine de variație majoră și în generația a treia.

VMDO reprezintă, pentru orzul de primăvară, o sursă semnificativă de variație, puterea de influență a căruia este potențată de particularitățile genotipului. Acest fapt evidențiază posibilitatea utilizării infecției virale în calitate de inductor al diversității și variabilității genotipice la plante.

Bibliografie

1. Andronic L., Jacotă A. Evidența schimburilor între cromatidele surori la orz (*Hordeum vulgare* L.) în cazul infecției virale // Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2009, nr.2(308), p.57-63.
2. Andronic L., Jacota A., Bujoreanu V., Grigorov T. Genotoxicity of barley stripe mosaic virus in infected host plants // Central European Journal of Biology. 2010, vol.5(5), p.633-640.
3. Andronic L., Rudacova A., Rotari A. Polimorfismul proteinelor de rezervă în populațiile orzului de primăvară (*Hordeum vulgare* L.) obținute în condiții de infecție virală // Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2011, nr.1(313), p.73-78.
4. Andronic L. Viruses as triggers of DNA rearrangements in host plants // Can. J. Plant Sci. 2012, vol.92, p.1083–1091.
5. Boyko A., Kathiria P., Zemp F.J., Yao Y., Pogribny I., Kovalchuk I. Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen infected plants (Virus-induced plant genome instability) // Nucl. Acids Res. 2007, vol.35, p.1714–1725.
6. Kostoff D. Meiotic study in virus infected tobacco plants // Genetica, 1933, vol.15, p.103–114.
7. Marii L., Chiriac Gh. The role of viral infection in inducing variability in virus- free progeny in tomato. Journal of Integrative Plant Biology. 2009, vol.51, nr.5, p.476–488.
8. Mottinger J., Johns M., Freeling M. Mutations of the Adh1 gene in maize following infection with barley stripe mosaic virus // Molecular and General Genetics MGG. 1984, vol.195, p.367–369.
9. Nutter F.W., Pederson V.D., Timian R.G. Relationship between seed infection by barley stripe mosaic virus and yield loss // Phytopathology. 1984, vol.74, nr.3, p.363–366.
10. Sandfaer J. Barley stripe mosaic virus and the frequency of triploids and aneuploids in barley // Genetics, 1973, vol.73, nr.4, p.597-603.
11. Sprague F., McKinney H. H., Greeley L. W. Virus as a mutagenic agent in maize // Science, 1963, vol.141, p.1052–1053.
12. Sprague G., McKinney H. Aberrant ratio, an anomaly in maize associated with virus infection // Genetics. 1966, vol.54, p.1287–1296.
13. Sprague G. F., McKinney H.H. Further evidence on the genetic behavior of AR in maize // Genetics, 1971, vol.67, p.533.
14. Yan X., Li J., Fu H. et al. Jittery, a low-copy, *Mu*-related transposon apparently mobilized by BSMV infection. // Maize Genetics Conference Abstracts. 2000, nr.42, p.159.
15. Володин В.Г. Колосенцева Н.В., Лисовская З.И., Генетика мутантов ячменя // Минск «Наука и техника», 1989, с.64–90.
16. Гуляев Г.В., Лоскутов Н. Ф. Изменчивость количественных признаков озимой мягкой пшеницы. // Изв. ТСХА. 1971. Вып.5, с.52–59.
17. Мамонтова В.Н. Изменчивость количественных признаков у чистых линий яровой пшеницы. // Селекция и семеноводство яровой пшеницы. Избранные труды, 1980, М.: Колос, с.9–54.
18. Григоров Т.Б. Изменчивость количественных признаков ячменя под влиянием вирусной инфекции отдельно или в сочетании с гамма излучениями в M_0 - M_2 поколениях. // Плодоводство и ягодоводство России. Москва, 2012, XXXIV(1), с.170-177.