

**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 (043.3)

GRIGOROV TATIANA

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

162.01. GENETICĂ VEGETALĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

CHIȘINĂU, 2023

Teza a fost elaborată în cadrul laboratorului Biotehnologii Vegetale al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al Universității de Stat din Moldova

Conducător științific:

ANDRONIC Larisa, doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător

Referenți oficiali:

LUPĂȘCU Galina, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător, membru corespondent al AȘM

ZGARDAN Dan, doctor în științe biologice, conferențiar universitar

Componenta Consiliului științific specializat:

DUCA Maria, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician al AȘM – *președinte*;

COTENCO Eugenia, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător – *secretar științific*

GRATI Vasile, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar

SMEREA Svetlana, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător

BATÎRU Grigorii, doctor în științe biologice, conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 22.12, ora 11⁰⁰ în ședința Consiliului Științific Specializat D 162.01-23-92 *Genetică vegetală* din cadrul Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al Universității de Stat din Moldova, str. Pădurii 20, bloc Genetică (sala de ședințe, etajul II), MD 2002, Chișinău, Republica Moldova, tel.: (+373 22) 77 04 47, fax: (+373 22) 55 61 80, e-mail: institut.gfpp@gmail.com

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Universității de Stat din Moldova, și pe pagina web a ANACEC (<http://www.anacec.md>)

Rezumatul a fost expediat la data "20" 11" 2023

Secretar științific al Consiliului științific specializat

COTENCO Eugenia, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător



Conducător științific

ANDRONIC Larisa, doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător



Autor

GRIGOROV Tatiana



CUPRINS

REPERE CONCEPTUALE ALE TEZEI	4
CONȚINUTUL TEZEI	6
1. CONCEPTE TEORETICE ȘI PRACTICE PRIVIND BAZELE GENETICE ALE AMELIORĂRII ȘI EXTINDERII VARIABILITĂȚII LA ORZ	6
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	7
3. OBȚINEREA SOMACLONELOR (SC₀) DE ORZ PRIN MORFOGENEZĂ INDIRECTĂ ÎN REZULTATUL INFLUENȚEI VIRUSULUI MOZAICULUI DUNGAT AL ORZULUI ȘI A RAZELOR GAMA	8
3.1. Optimizarea și selectarea mediilor nutritive pentru inițierea calusogenezei, morfogenezei și regenerării somaclonelor de orz din embrioni imaturi	8
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	9
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	13
4. EVALUAREA IMPACTULUI VIRUSULUI ȘI AL RADIAȚIEI ASUPRA VARIATIILOR SOMACLONALE LA ORZUL DE PRIMĂVARĂ	14
4.1. Aprecierea acțiunii comune și separate a iradierii gama și infecției virale în inducerea diversității agromorfologice la somaclonele (SC ₀) de orz de primăvară	14
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	15
4.3. Identificarea genotipurilor cu însușiri agrobiologice nespecifice formelor inițiale și evaluarea somaclonelor de orz de primăvară (SC ₂ -SC ₃)	17
4.4. Aprecierea polimorfismului proteinelor de rezervă la somaclonele de orz de primăvară obținute de la soiurile supuse acțiunii infecției virale se radiației gama	18
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	19
5.1. Analiza impactului virusului și a radiației gama asupra caracterelor biomorfologice la descendenții orzului de primăvară	19
5.2. Evaluarea caracterelor biomorfologice la formele mutante de orz (<i>calcaroides</i>) obținute din semințe iradiat cu razele gama (250 Gy) și plantule infectate cu virusul mozaicului dungat al orzului	21
5.3. Heritabilitatea și corelația caracterelor agromorfologice la orzul de primăvară cu mutația spic ramificat	22
CONCLUZII GENERALE	26
RECOMANDĂRI PRACTICE	27
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	28
LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI.....	29
ADNOTĂRI (română, engleză, rusă)	32

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei abordate. Variabilitatea genetică este indispensabilă pentru menținerea și extinderea diversității, reducerea riscului vulnerabilității și eroziunii genetice care ar putea afecta adaptabilitatea culturilor cerealiere la provocările 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, fitopatologie, biochimie și biotehnologia plantelor [24]. De asemenea, 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, prezentând o siguranță împotriva riscurilor unor productivități scăzute sau eșecuri a altor culturi.

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 importanța. 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, dintre care cei fizici și anume razele gama s-au dovedit a fi mult mai eficienți, fapt confirmat prin crearea soiurilor mutante de orz cu proprietăți net superioare, care constituie 60% din numărul total de soiuri obținute prin aplicarea mutagenilor fizici.

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 [13]. Contribuția preconizată a variabilității somaclonale în ameliorarea orzului nu a fost pe deplin justificată din cauza frecvenței scăzute și valorii limitate ale acesteia [14, 21].

Pentru extinderea variabilității caracterelor importante la somaclonele de orz este necesară utilizarea agenților mutageni în complex cu cultura *in vitro*. De asemenea, este recunoscută contribuția infecției virale, inclusiv, efectul virusului mozaicului dungat al orzului (VMDO) asupra variabilității materialului ereditar și posibilitatea utilizării în calitate de inductor al diversității genetice la orz [11,15]. 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 [24]. 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 cantitative 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 metoda de diagnostic virusologic (contrastare negativă); mutagenză experimentală, metoda citologică de analiză a diviziunilor mitotice în celulele radiculare și cele calusale, metode biochimice de studiu a polimorfismului peroxidazelor și proteinelor de rezervă și biometrice conform ghidului UPOV. În baza testului ANOVA, a fost estimat varianța genotipică și fenotipică, coeficientul de heritabilitate în sens larg, avantajul genetic. Pentru stabilirea gradului de dependență dintre caracterele evaluate a fost aplicat coeficientul de corelație Person.

Noutatea și originalitatea științifică ale rezultatelor obținute constă în argumentarea suplinirii 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 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 IGFP, iar linia mutantă *ram* - cercetătorilor grupului Genetica și ameliorarea cerealelor păioase (IGFP), fiind constatată de perspectivă.

Aprobarea rezultatelor științifice: rezultatele investigațiilor au fost prezentate și discutate la 20 foruri științifice naționale și 4 internaționale de specialitate.

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).

CONȚINUTUL TEZEI

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.

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

Este expus studiul literaturii de specialitate, fiind prezentată o sinteză a informației referitor la genetica și analiza 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 mutagenеза 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.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Investigațiile au fost efectuate în laboratorul *Biotehnologii Vegetale* al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecția Plantelor (IGFPP), 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, metode de iradiere a materialului biologic, cultura *in vitro*, metode biometrice, biochimice, metode matematice de prelucrare statistică a datelor conform *design*-ului cercetării (Figura 2.1).

Obiectul de studiu. În calitate de material biologic au fost utilizate trei soiuri de orz de primăvară (*Hordeum vulgare* L., $2n = 14$): Sonor, Galactic, Unirea, omologate și cultivate pe câmpul experimental al IGFPP.

Metode de cercetare. 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 [23]. 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**.

Aprecierea polimorfismului peroxidazelor în calus și somaclonele de orz, precum și proteinelor de rezervă (hordeinelor) a fost efectuată cu ajutorul **metodelor biochimice de studiu** (polimorfismul peroxidazelor, proteinelor de rezervă). Evaluarea caracterelor agromorfologice a fost realizată cu ajutorul **metodelor biometrice** conform ghidului UPOV. Pentru aprecierea rolului genotipului, virusului, razelor gama, culturii *in vitro* și



Fig. 2.1. Design-ul metodologic de cercetare

interacțiunii acestora în variația caracterelor cantitative s-a aplicat analiza bi- și trifactorială a **varianței ANOVA**. 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 genotipică și fenotipică, coeficienților de variație genotipice și fenotipice**, iar pentru aprecierea gradului de ereditare și avantajului genetic – **coeficientul de heritabilitate în sens larg și deviația standard generală**. Pentru stabilirea gradului de dependență dintre caracterele evaluate, a fost aplicat **coeficientul de corelație Person (r)**. **Prelucrarea statistică** a datelor s-a efectuat cu ajutorul pachetelor 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

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 [2, 12, 18]. 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 morfogeneza indirectă [2, 3, 5, 6, 7, 9].

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

Este cunoscut faptul că în cadrul aceleiași specii, diferite soiuri reacționează specific la cultivarea *in vitro*. Apare necesitatea de optimizare a mediilor de cultură deja existente – MS, B₅ și 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.

Astfel, în rezultatul experimentării a patru variante de medii de inițiere a calusului: I) MS (Murashige-Skoog, 1962), acid diclorfenoxiacetic (2,4 D) – 5 mg/l, kinetină – 5 mg/l; II) MSB₅D (macro- și microelementele: MS, vitamine: B₅, auxina dicamba – 3 mg/l; III) MSB₅P (macro- și microelementele: MS, vitamine: B₅, auxina picloram – 3 mg/l; IV) B₅ (Gamborg, 1968), 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). Aceste medii tatonate au fost suplimentate cu m-Inositol (250 mg/l), hidrolizat de cazeină (1 g/l), deferite concentrații pentru CuSO₄ (1,25 mg/l), B₁ (1 mg/l), zaharoză (20 mg/l).

Analiza comparativă a procesului de calusogeneza și morfogeneza pe mediile respective a evidențiat că pe mediul de menținere (MSB₅D, MSB₅P și MS) calusurile 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 [3].

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

Inducerea morfogenezei și obținerea somaclonelor s-a efectuat pe mediul de regenerare MS modificat, la care s-au adăugat BAP (0,2 mg/l) și AgNO₃ (5 mg/l), iar creșterea și dezvoltarea regeneranților, s-a realizat pe mediul MS lipsit de hormoni. Somaclonele care s-au format prin embriogeneză 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. Astfel, în cadrul cercetărilor efectuate au fost selectate două medii de inițiere pe care cota explantelor cu calus a atins valori de 90-100% și elaborat algoritmul de obținere a somaclonelor de orz din embrionii imaturi infectați cu VMDO și iradiați cu razele gama.

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

În scopul evaluării impactului VMDO și razelor gama la toate etapele de obținere a somaclonelor, embrionii imaturi de orz (Galactic, Sonor, Unirea) au fost prelevați de la donori sănătoși, supuși iradierii gama (100, 150 și 250 Gy) și infecției virale solitar sau în complex. Astfel, 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 3.1).

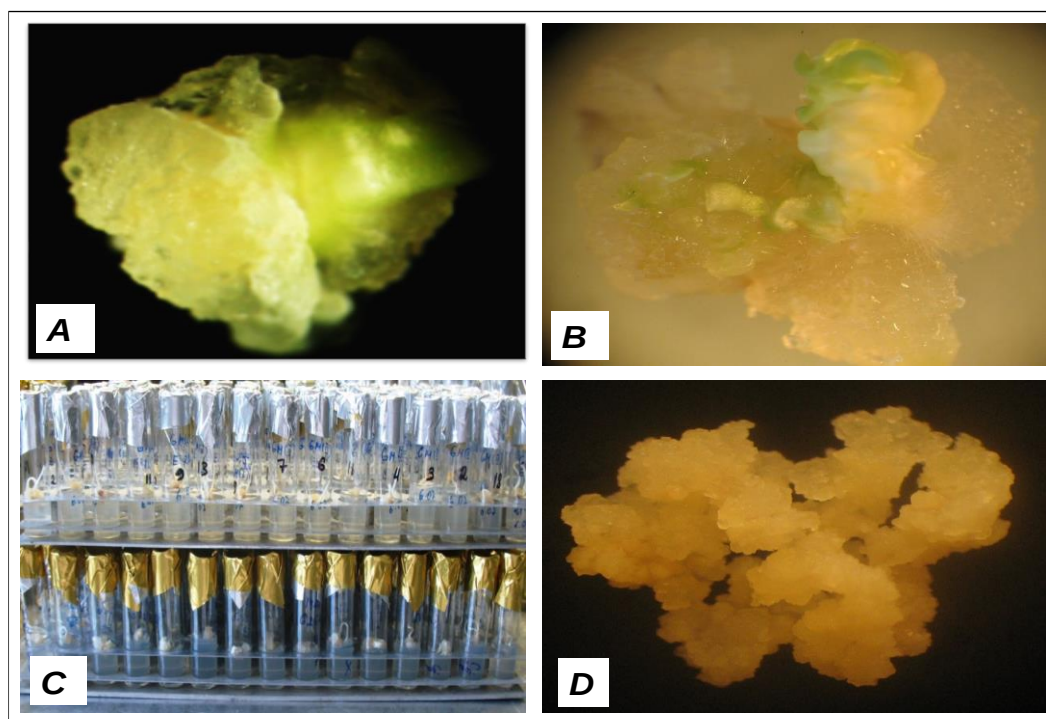


Fig. 3.1. Inducerea calusului din embrioni imaturi pe mediile de cultură optimizate:
A - formarea calusului, ziua a 3-a de la inoculare (aspect sub lupa binocular); B - calus alb-gălbui, moale, apos, transparent (MSB₅D); C - inducerea calusului pe mediile de inițiere (aspect general); D - calusuri de culoare gălbuie, fărâmicos, 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, fărâncios, neembriogen cu creștere intensivă. Totodată, s-a evidențiat o eterogenitate a calusului după capacitatea proliferativă a acestuia. Astfel, calusul apos, moale, aparent transparent, neembriogen, fiind transferat pe mediu de menținere formează zone 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 statistic semnificative asupra cotei explantelor cu calus în dependență de genotip, mediul de cultură și doza radiației. La variantele supuse infecției virale și radiației gama s-a înregistrat diminuarea valorii a capacității calusogenezei cu 6,63 - 45% în comparație cu martorul. În același timp, analiza comparativă a efectului virusului solitar și în complex cu razele gama a atestat mărirea sau micșorarea efectului negativ al VMDO asupra calusogenezei în dependență de mediul de cultură pentru s. Sonor și s. Unirea (Tabelul 3.1).

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

Genotip	Varianta	Mediul nutritiv MS	Mediul nutritiv 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

Notă: aici și în următoarele tabele și figuri

*, **, *** – 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).

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) (Figura 3.2).

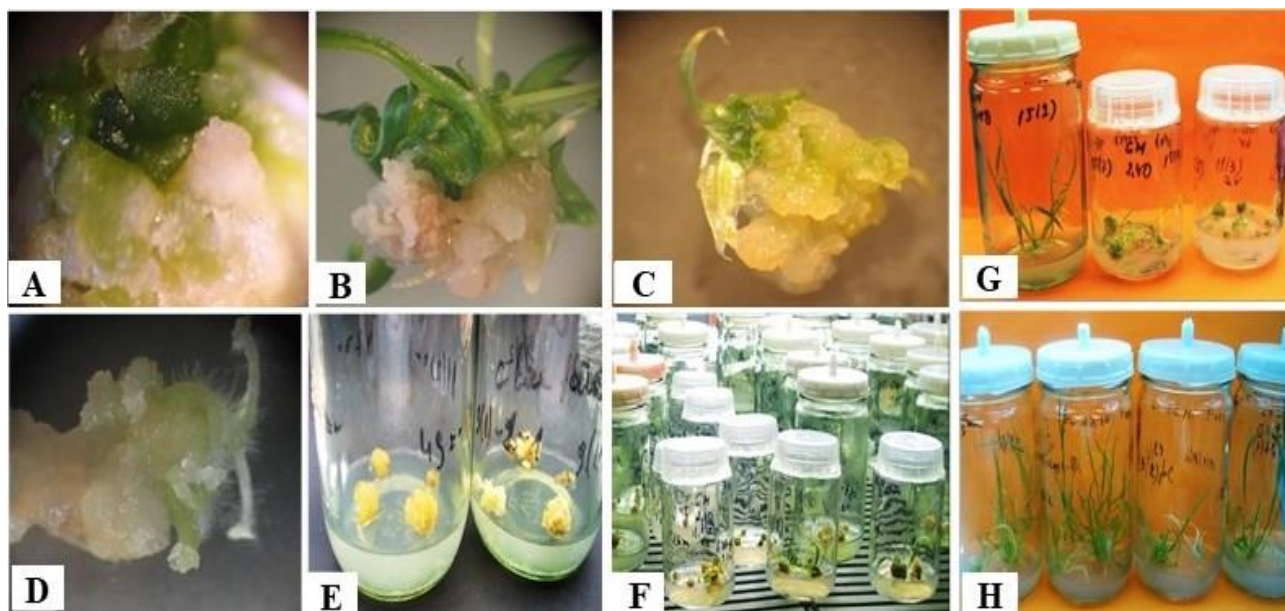


Fig. 3.2. Proliferarea calusurilor și inducerea morfogenezei: A – calus cu centre morfogene; B – regenerare prin embriogenează; C – formarea primordiilor foliare; D – inițierea rizogenezei; E – proliferarea calusurilor pe medii de menținere; F – inițierea morfogenezei pe medii de regenerare; G, H – Dezvoltarea plantulelor de orz pe mediul de regenerare optimizat

Influenta razelor gama asupra ratei morfogenezei a fost determinată de doza radiației și mediul utilizat. La variantele iradiate s-a stabilit scăderea valorii frecvenței morfogenezei pentru ambele medii cu 7,43% - 42,90%, în dependență de soi și doza iradierii (Tabelul 3.2).

Tabelul 3.2. Frecvența morfogenezei și regenerării explantelor de calus orz obținute de la donori iradiați și/sau infectați cu VMDO ($\bar{x} \pm Es$)

	Varianta	Frecvența morfogenezei		Frecvența regenerării	
		MS	MSB ₅ D	MS	MSB ₅ D
Sonor	Martor	89,27±0,19	98,15±1,85	27,94± 1,47	18,72±2,52
	100 Gy	63,09±0,32***	78,91±0,64***	41,50±0,83**	15,59± 2,26
	150 Gy	70,74±0,74***	73,67±0,80***	51,28±1,28***	56,95±1,77***
	250 Gy	75,90±1,84**	69,03±1,37***	19,43±2,02*	33,61±2,17*
	VMDO	80,63±1,41**	81,57±0,78**	57,61±1,61***	49,98± 4,14**
	VMDO+100 Gy	49,99±1,92*** +++	70,47±4,08**	27,38±1,19+++	33,33±4,76
	VMDO+150 Gy	67,24±1,28*** +++	89,08±2,13* +	45,94±2,41***	26,74±1,83++
	VMDO+250 Gy	50,98±0,98*** +++	90,29±1,74* +	43,98±3,61*+	38,26±0,87***
Unirea	Martor	77,06±1,51	91,67±1,67	31,94±0,69	26,67±1,67
	100 Gy	63,43±1,92**	67,83±0,59***	56,5±3,62**	36,75±1,71*
	150 Gy	70,61±8,71	57,65±0,75***	26,67±1,67*	26,49±2,28
	250 Gy	71,33±1,18*	45,70±2,97***	40,27±2,34*	36,57±8,03
	VMDO	61,27±1,23**	69,44±2,78**	26,67±6,67	33,15±5,83
	VMDO+100 Gy	35,35±1,01*** +++	46,64±0,27*** ++	41,67±8,33	37,89±2,76*
	VMDO+150 Gy	73,50±5,60	22,60±6,09*** ++	24,83±1,46*	44,49±5,09*
	VMDO+250 Gy	61,80±3,02*	44,49±5,09*** +	27,41±2,59	22,6±6,09
Galactic	Martor	50,88±0,88	36,32±1,60	41,48±1,48	30,16±1,58
	100 Gy	29,05±1,27***	24,52±2,48*	34,72±1,39*	27,78±2,78
	150 Gy	42,45±1,27**	31,33±1,13	23,14±0,92***	15,87±0,79**
	250 Gy	46,29±0,93*	32,67±1,73	36,11±1,39	14,48±1,21**
	VMDO	33,29±1,17***	21,92±9,03**	28,89±4,44	31,80±1,53
	VMDO+100 Gy	35,67±1,17***	22,09±0,44**	16,98±1,65	16,98±1,66***++
	VMDO+150 Gy	31,98±1,74***	17,08±2,32**	12,63±0,92***+	13,68±0,59***+++

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

Frecvența regenerării la explantele iradiate a crescut (cu 26,08 - 78,41%) sau redus (cu 16,49% - 51,98%) în dependență de genotip, doza radiației și mediul de cultură, în comparație cu martorul. VMDO a influențat semnificativ asupra indicilor frecvenței regenerării doar la s. Sonor, unde această valoare constituie 49,98% (MSB₅D) și 57,28% (MS). 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. Infecția virală în complex cu radiația gama au redus semnificativ cota calusurilor regenerative la s. Sonor și s. Galactic, comparativ cu acțiunea solitară a virusului, în dependență de mediul de cultivare și doza radiației. Rezultatele 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 3.3 A).

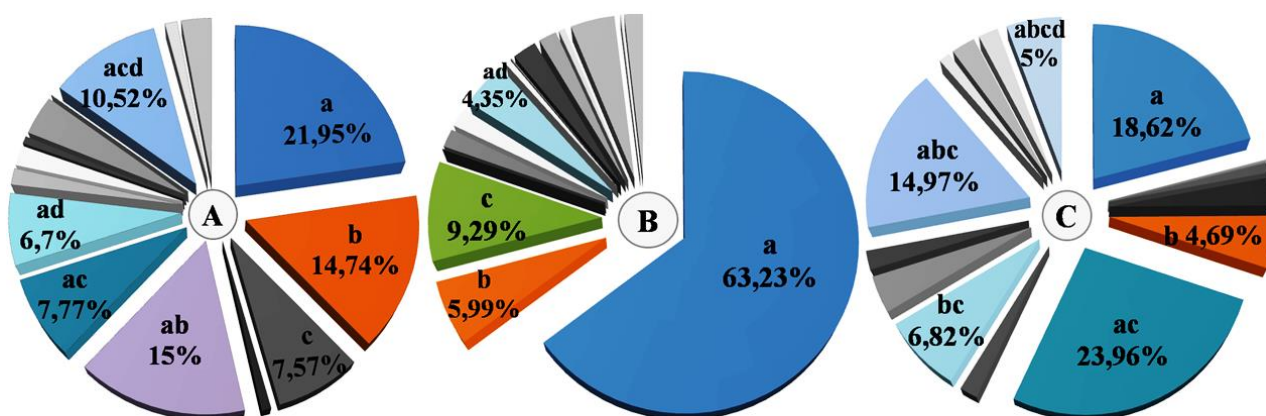


Fig. 3.3. Contribuția genotipului, infecției virale și radiației asupra proceselor de calusogeneză, morfogeneză și regenerare la embrionii imaturi de orz de primăvară: A - calusogeneză, B - morfogeneză, C - regenerare; a - genotip, b - virus, c - radiație, d - mediu.

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 3.3 B). 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 3.3 C). Prin urmare, analiza varianței a stabilit că contribuția razelor gama a 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.

3.3. Efectul infecției virale și al razelor gama asupra indicilor citogenetici și biochimici în calusul și regeneranții (SC₀) de orz de primăvară

Pentru estimarea influenței VMDO separat sau în asociere cu razele gama asupra indicilor citogenetici în celulele calusale de orz au fost examinate 2480 de celule meristemate și 6303 celule calusale în diviziunea mitotică. Studiul citogenetic a scos în evidență efectul infecției virale și razelor gama în mărirea numărului de celule cu aberații în dependență de genotip, cota cărora a atins valori de 1,75 - 24,27%. Printre aberațiile evidențiate au fost înregistrate mutații genomice – celule poliploide, aneuploide și polinucleate, aberații cromozomiale – fragmente și punți cromatidiene, dereglări în aranjarea cromozomilor în anafaza diviziunii mitotice (Figura 3.4).

Cultura *in vitro* în calitate de factor inductor al variabilității celulare a dus la creșterea cotei de celule cu aberații și inducerea mutațiilor genomice și cromozomiale, dintre care au prevalat 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.

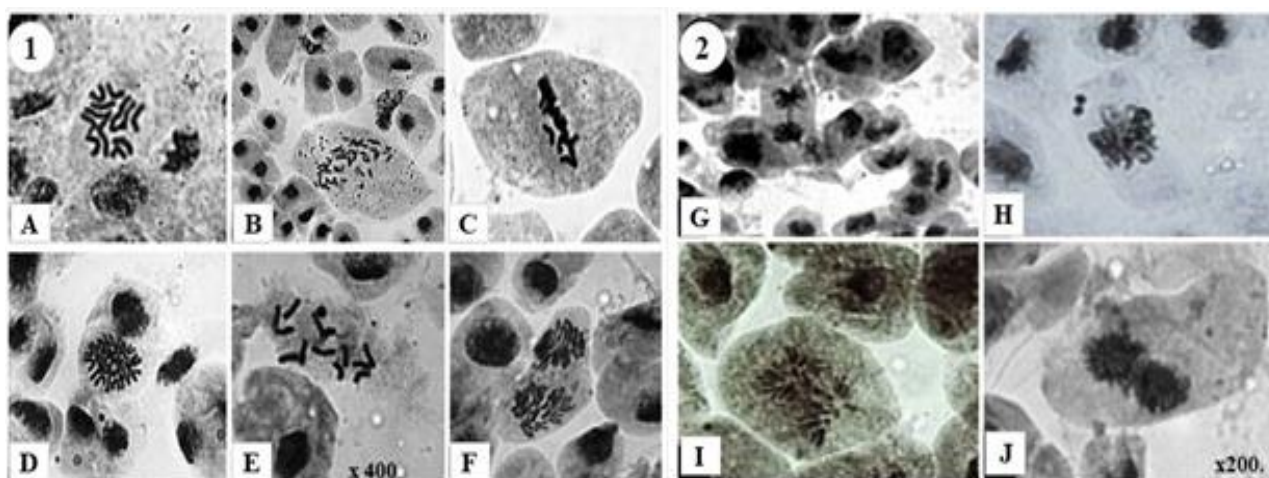


Fig. 3.4. Mutații mitotice în celule calusale la orzul de primăvară: A - celule cu setul diploid de cromozomi ($2n=14$); B - celulă gigantică, poliploidă ($2n=6x=42$); C - eliminarea unui cromozom; D - celula poliploidă ($2n=4x=28$); E - celulă aneuploidă ($2n-2=12$); F - celulă cu nuclee poliploide

Neregularitățile în diviziunile celulare au fost însoțite de modificări a reacțiilor oxidative, confirmate prin analizele biochimice ale polimorfismului peroxidazelor care au permis evidențierea prezenței sau lipsei unor izoforme cu diferită mobilitate în dependență de doza radiației sau infecția virală. Astfel, VMDO a contribuit la dispariția benzilor 0,206, 0,216 și la apariția componentelor cu mobilitatea 0,642; 0,665. În calusul explantelor iradiate și supuse infecției virale s-a constatat prezența a două izoforme noi care nu au fost evidențiate în variantele martor. Aplicarea asociată a virusului și razelor gama (150 Gy) a condiționat mărirea spectrului cu 4 componente în comparație cu acțiunea doar a infecției virale. Generalizând rezultatele, constatăm mărirea spectrului de izoforme în variantele supuse acțiunii comune a factorilor studiați, astfel numărul maxim de izoforme (7) a fost evidențiat în calusul morfogen, varianta VMDO + 100 Gy.

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

Caracteristică regeneranților obținuți prin cultura de calus permite evidențierea spectrului de variații genetice induse de factorii aplicați. 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 [25].

4.1. Aprecierea acțiunii comune și separate a iradierii gama și infecției virale în inducerea diversității agromorfologice la somaclonele (SC₀) de orz de primăvară

Examinarea aspectului morfologic al somaclonelor a evidențiat un spectru larg de schimbări în structura paiului, frunzelor și spicului atât la regeneranții din variantele netratate cât și cele tratate cu razele gama și/sau cu infecția virală. Datele de observație și descriere morfologică a plantelor loturilor experimentale au descris variații morfologice la somaclonele de orz asociate tipului de tulpină, aranjării și formei frunzelor, aspectului spicului cu o incidență dependentă de genotip și factorul aplicat.

Analiza caracterelor agromorfologice la somaclonele de orz SC₀. În rezultatul evaluărilor biometrice la variantele supuse acțiunii VMDO solitar și iradierii gama s-au înregistrat valori medii mai mici a caracterelor *talia plantei*, TPL (12,74 - 28,4%), *lungimea spicului principal*, LSP (9 - 25%) și *lungimea ultimului internod*, LUI (5,65 - 34,2%) în comparație cu martorul, în dependență de soiul analizat (Figura 4.1).

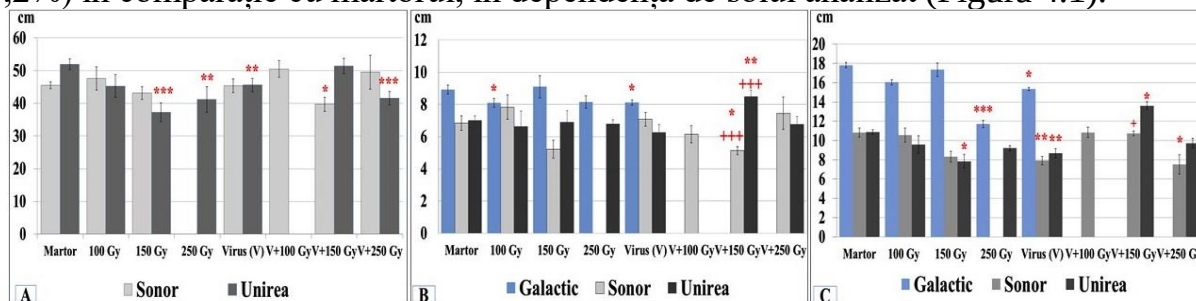


Fig. 4.1. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor TPL (A), LSP (B) și LUI (C) la somaclonele de orz (SC₀)

În ceea ce privește caracterele ce țin direct de productivitate, VMDO și razele gama separat și în complex (VMDO + 250 Gy) au dus la majorarea semnificativă (cu 40,7-65%) a numărului fraților fertili (NFF) și numărului boabelor per spic principal (NBSP) (Figura 4.2).

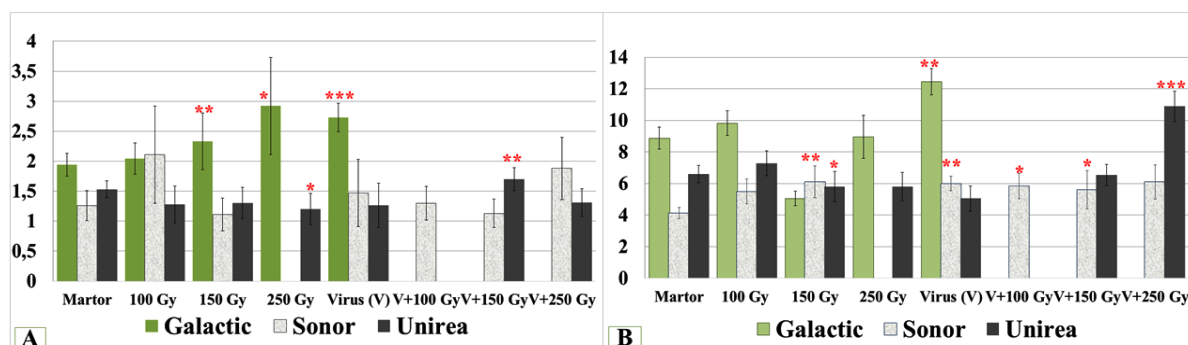


Fig. 4.2. Impactul VMDO și/sau razelor gama asupra variabilității caracterelor NFF (A) și NBSP (B) la somaclonele de orz (SC₀)

Datele evaluărilor confirmă impactul VMDO și al razelor gama, în particular în doză 250Gy, în generarea variațiilor în expresia majorității caracterelor cantitative, modificând media cu o amplitudine dependentă de genotip și indicele biomorfologic studiat.

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 forme 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 constituit varianta Martor II în aprecierea variațiilor condiționate de factorii experimentali (virus, radiație).

Analiza aspectului morfologic al somaclonelor de orz (SC₁-SC₂). Analiza comparativă a variațiilor morfologice ale descendenților (SC₁-SC₂) și regeneranților (SC₀) a demonstrat prezența modificărilor morfologice cu un diferit grad de expresie în diferite generații. Astfel, la descendenții SC₁ au fost evidențiate plante cu diverse aspecte morfologice ale spiculețului lateral, aristelor, frunzei standard, tecii paiului, structurii inflorescenței și anume: spic bi-, trifurcat, ramificat; cu trei rânduri de spiculețe fertile, cu trei spiculețe laterale sterile, cu un spiculeț lateral fertil, dispunerea opusă a spiculețelor în spic, spic compact, poziție puternic diferită a spiculețelor în spic, spic cu spiculețe bi-, tri-aristate, cu ariste groase, ondulate, spice sterile, pai cu două spice (Figura 4.3).

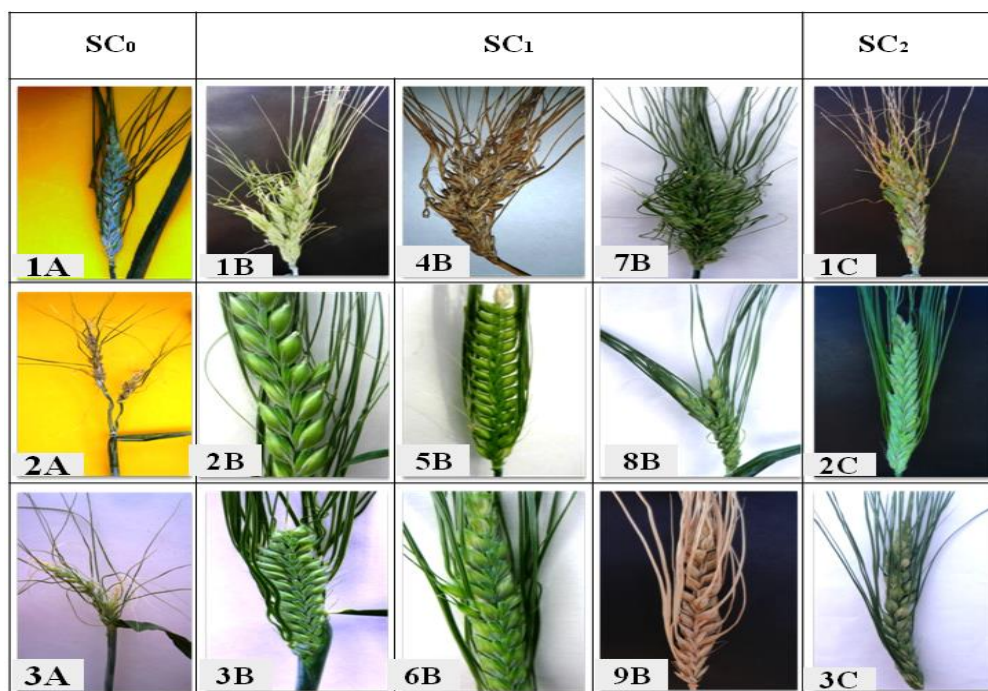


Fig. 4.3. Variații morfologice ale spicului la descendenții somaclonelor de orz (SC₁-SC₂) și SC₀:
 1A – spic ceros cu ariste groase și ondulate (U100 Gy); 2A – pai cu două spice (G100 Gy); 3A – spic bifurcat, cu spiculețul secundar steril (G150 Gy); 1B – spic trifurcat (U100 Gy); 2B – spic cu spiculețul 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 *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 menționat, că unele variații, precum *spic ramificat* evidențiat în SC₁ (Unirea 100 Gy), a fost descris și în următoarele generații, prezentând în generația SC₂ o frecvență de 95,23%.

Evaluarea caracterelor cantitative la somaclonele SC₁-SC₂. 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 [11, 14]. Astfel, pentru aprecierea modificărilor produse de razele gama, infecția virală pe fond de culturi *in vitro* a prezentat interes evaluarea caracterelor agronomice la descendenții de orz (SC₁) în comparație cu regeneranții SC₀.

În cazul genotipului Sonor, radiația gama (250 Gy) a mărit valorile medii ale caracterelor TPL și LUI cu 10,97 - 14,78% față de martor în generația SC₁, deși nu a influențat semnificativ acești parametri în generația SC₀. Totodată, pentru descendenții SC₁ a soiurilor Galactic și Unirea s-au stabilit valori mai mici ale acestor caractere cu 13,10 - 46,29% la variantele iradiate cu raze gama (100 - 250 Gy), comparativ cu martorul. Aceiași tendință a fost descrisă și în variantele VMDO separat sau în asocierie cu razele gama (150 - 250 Gy) pentru care a fost stabilită în generația SC₁ reducerea semnificativă a valorii medii a caracterelor TPL (cu 6,83 %) și LUI (cu 11,32 %) pentru soiul Unirea. (Figura 4.4).

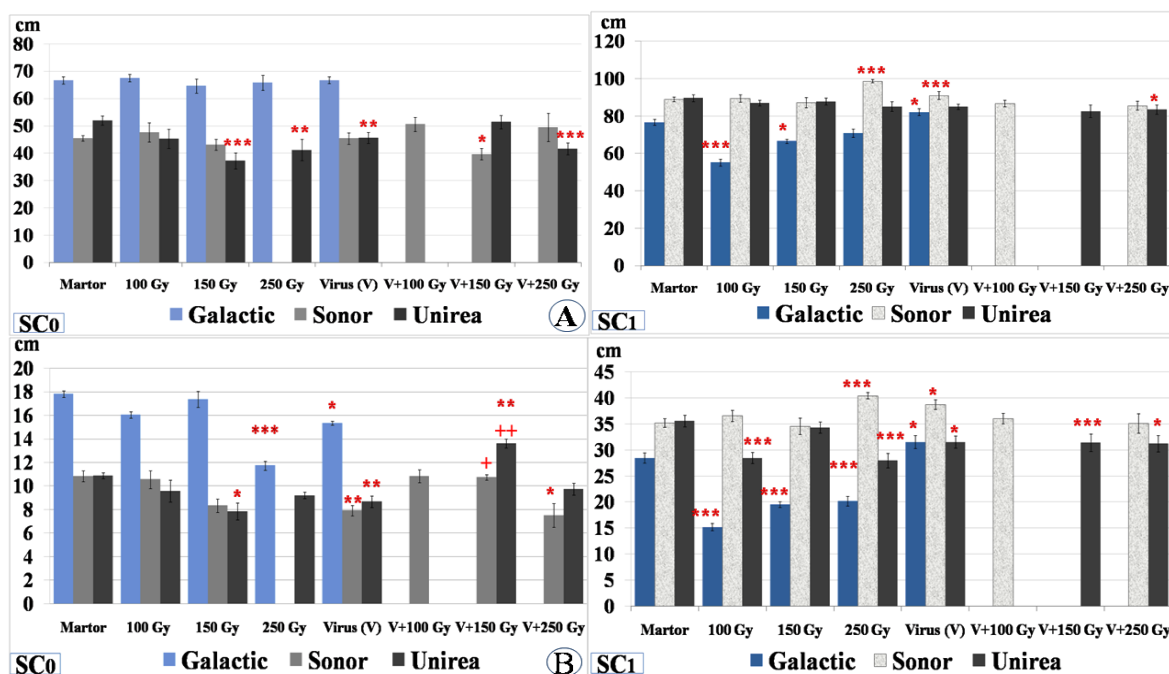


Fig. 4.4. Influența VMDO și razelor gama asupra valorii medii a caracterelor TPL (A) și LUI (B) la somaclonele SC₀-SC₁

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.

În ceea ce privește caracterele asociate direct cu productivitatea (NFF și NBSP), genotipurile au manifestat la plantele SC₀ și SC₁ reducerea valorii medii sau majorării față de martor pentru NBSP în cazul iradierii gama sau asocierii cu VMDO (Figura 4.5). În

rezultatul analizei varianței s-a confirmat semnificația devierilor parametrilor cantitativi la regeneranții (SC₀) și descendenții (SC₁, SC₂) de orz în dependență de genotip, caracter, generație, precum și interacțiunea dintre genotip și factorii studiați. Genotipul a avut contribuție majoră, cu o putere de influență (PI) de 12,50 - 49,70%.

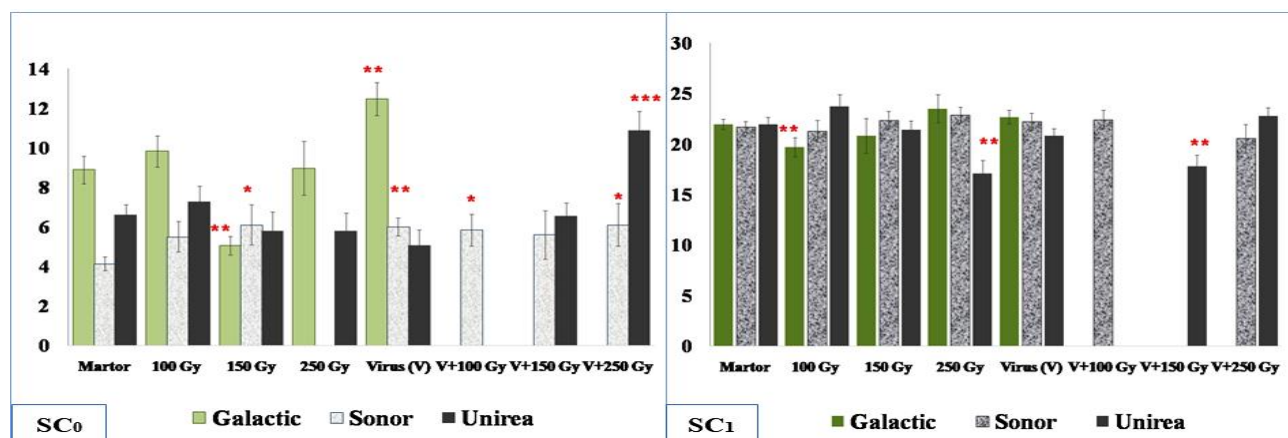


Fig. 4.5. Influența VMDO și razelor gama asupra caracterului NBSP la somaclonele SC₀-SC₁

În variația caracterelor LSP, NSP, NBSP, NI în SC₂ influența razelor gama și interacțiunea *genotip* x *raze gama* au avut acțiune proximă (PI = 12,17 - 12,38% și 15,97 - 19,25% respectiv). Puterea de influență a razelor gama și infecției virale pentru unele caractere la somaclonele SC₂ s-a intensificat, atingând valori de 3,52% (TPL) - 4,96% (NBSP) comparativ cu 2,30 - 3,12% (SC₁), ponderea interacțiunii *virus* x *genotip* constituind 10,90%. Aceasta relevă efectul intergenerațional sau transgenerațional al infecției virale și razelor gama în dependență de caracter.

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 au fost analizate caracterele de productivitate și determinată masa a 1000 de boabe (MMB) la descendenții SC₁-SC₂. Analiza valorii MMB a evidențiat că acest indice a variat în ambele direcții în comparație cu martorul, fiind determinat de genotip, factorul utilizat și forma selectată. Pe baza acestor parametri, în rezultatul evaluării descendenților (SC₂) obținuți de la explante sănătoase, *in vitro* (M II) au fost alese trei forme (SC₂-165, SC₂-162, SC₂-124) la s. Galactic și formele SC₂-506, SC₂-252 la s.Unirea și Sonor (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Caractere de productivitate medii la formele de orz selectate

Variantă	TPL, cm	LSP, cm	NFF	NSP	NBSP
	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$	$\bar{x} \pm Es$
Unirea M I	95,68±0,91	11,78±0,15	0,88±0,10	31,80±0,48	22,39±0,74
Unirea M II	90,10±0,83	10,90±0,11	0,43±0,07	28,41±0,22	17,88±0,35
U-100 Gy SC ₂ - 622/623	79,33±1,11 ***+++	11,81±0,37 +++	0,11±0,04 *** +++	54,81±2,41 *** +++	26,21±1,04 ***+++

*, **, *** – diferențe semnificative pentru P≤ 0,05, 0, 01; 0,001, față de M I (plantule din semințe);

+++ – diferența semnificativă pentru P≤ 0, 01; 0,001, față de M II (somaclone SC₂, varianta martor).

La formele respective MMB a atins valori cu 1,2-13,5 grame mai ridicate în comparație cu genotipurile inițiale. La s. 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). Astfel, din descendenții obținuți de la expalnte 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, au fost evidențiate 15 linii apreciate de perspectivă.

De asemenea, în rezultatul evaluării 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 varianta martor. Astfel, la forma SC₂-622/623 (s. Unirea), NBSP și NSP s-au mărit cu 17,06 - 72,36% în comparație cu Martor I și 46,59-92,93% - față de Martorul II.

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

Analiza electroforetică a hordeinelor extrase din semințele soiurilor Galactic, Unirea și somaclonelor (SC₂) 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 (Figura 4.6).

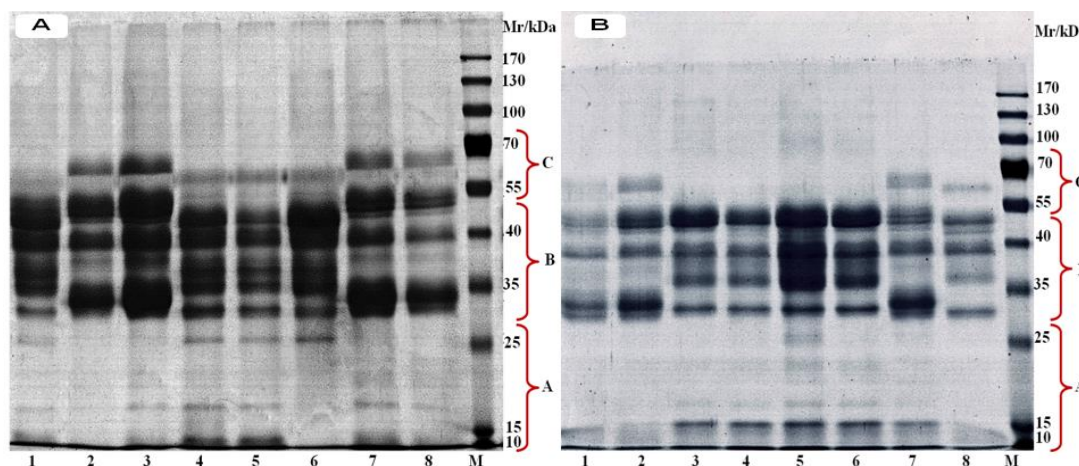


Fig. 4.6. Electroforegrama hordeinelor în semințele de orz: A₁ – s. Galactic (Martor); A₂ – SC₂-165 (*in vitro*); A₃ – SC₂-124 (*In vitro*); A₄ – SC₂-148 (100 Gy); A₅ – SC₂-20 (150 Gy); A₆ – SC₂-3 (250 Gy); A₇ – SC₂-42 (VMDO); A₈ – SC₂-67 (VMDO); B₁ – s. Unirea (Martor); B₂ – SC₂-668 (*In vitro*); B₃ – SC₂-622, B₄ – SC₂-623, plante cu spic neramificat; B₅ – SC₂-622, B₆ – SC₂-623, plante cu spic ramificat; B₇ – SC₂-672 (250 Gy); B₈ – SC₂-686 (VMDO); M – marcheri moleculari.

Cele mai multe fracții proteice (cca 70-80%) au fost identificate în diapazonul 30,8 - 48,7 kDa (hordeine B), pentru ambele soiuri și toate formele analizate, ceea ce corespunde cu datele atestate în literatură. 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. În rezultatul cercetărilor realizate, la somaclonele evaluate 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 variantei control și formei SC₂-168 (*In vitro*), s. Unirea.

Este important de menționat că în urma examinării spectrelor hordeinelor A și B extrase din boabele formelor cu inflorescență neramificată și *ramificată* (s. Unirea, SC₂-622, SC₂-623), a fost pus în evidență inducerea unor izoforme noi (A – 18,1; 22,6; 26,5 kDa; B – 36,2; 38,1; 43,2 kDa), care nu sunt prezente la varianta martor, iar în cazul hordeinelor ce aparțin fracției C s-a remarcat dispariția unei benzi (61,9 kDa).

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

Posibilitatea complementării acțiunii infecției virale și radiației gama în calitate de inductori ai diversității plantelor este demonstrată de mai mulți cercetători [1, 11, 16], ceea ce a argumentat interesul studiului acțiunii asociate a VMDO și radiației gama asupra indicilor agromorfologici la orzul de primăvară.

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 distincte 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 iradiat 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 [4, 5, 9]. Astfel, infecția virală a diminuat (de 1,14 – 3,9 ori) valorile medii ale indicilor studiați în comparație cu varianta martor, la toate soiurile evaluate, dar cu diferit grad de manifestare. 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 s. Sonor și Unirea.

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. 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. Cele mai înalte devieri față de martor s-au evidențiat la s. Galactic infectat și iradiat cu doza de 250 Gy pentru caracterul NBSP (Figura 5.1).

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 M₀, majoritatea fiind sterile. Cea mai accentuată acțiune a fost descrisă de asemenea la s. Galactic, ceea ce ne indică despre radiosensibilitatea acestuia în comparație cu celelalte soiuri. 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 toleranță mai pronunțată a plantelor acestui genotip în comparație cu s. 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 M₂ și înregistrat în generațiile ulterioare.

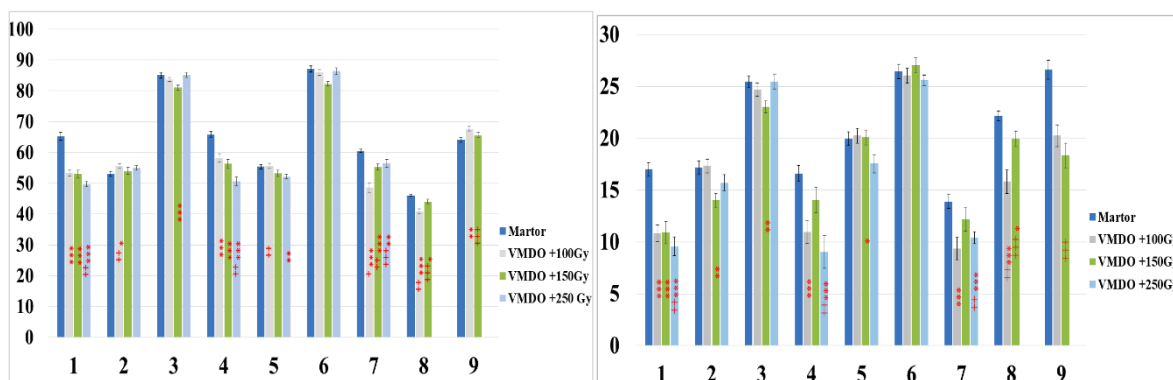


Fig. 5.1. Variația caracterelor TPL (A) și NBSP (C) la soiurile de orz supuse infecției virale în generațiile M_0 - M_2 : 1) Sonor M_0 ; 2) Sonor M_1 ; 3) Sonor M_2 ; 4) Unirea M_0 ; 5) Unirea M_1 ; 6) Unirea M_2 ; 7) Galactic M_0 ; 8) Galactic M_1 ; 9) Galactic M_2

De asemenea este necesar de menționat că 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 în varianta cu infecție virală, iar în cazul razelor gama s-a atestat tendința de majorare a acestora pentru caracterele TPL și LSP. 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 M_1 cu 8,33 – 11,54% la genotipurile analizate.

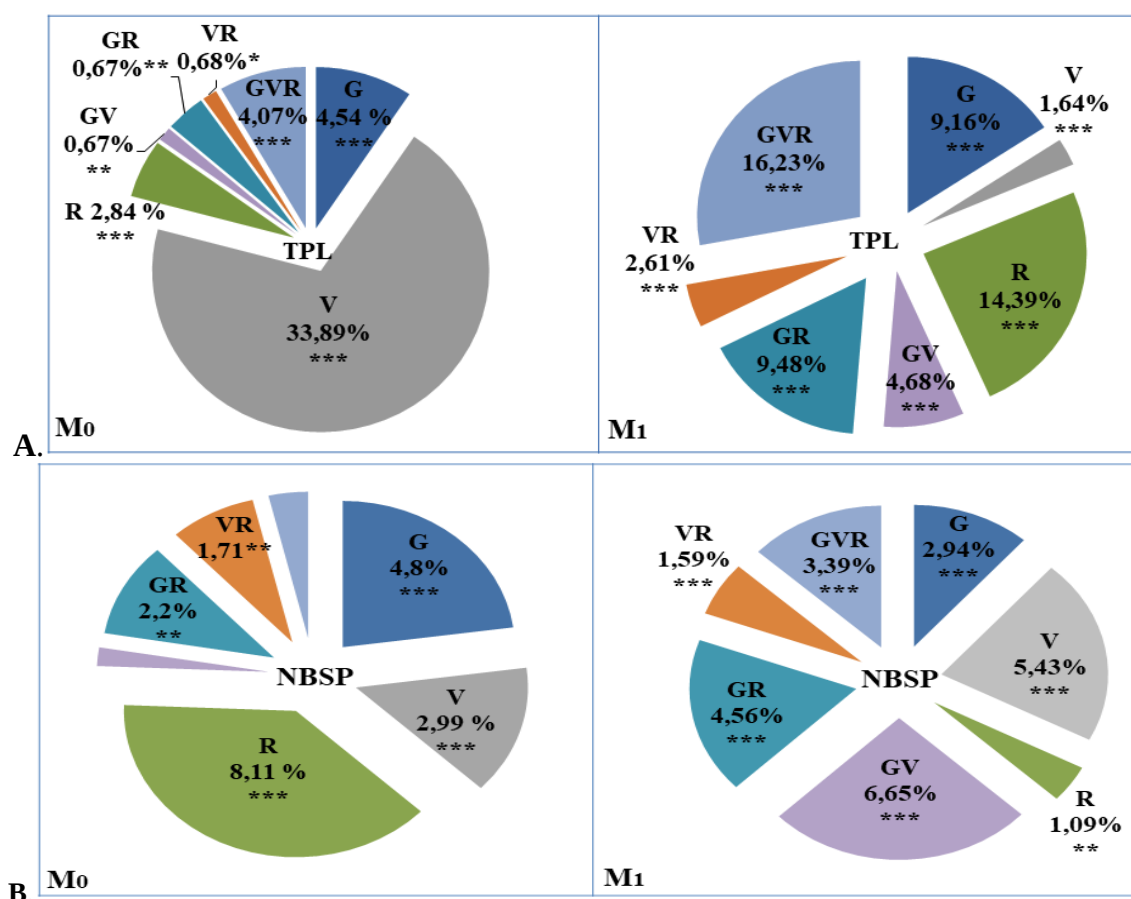


Fig. 5.2. Contribuția VMDO și radiației gama asupra variației valorii medii a TPL (A) și NBSP (B) în generațiile M_0 - M_2 : V – virus, G – genotip, R – radiație

Aplicarea testului ANOVA a demonstrat că sursele de variație evaluate (genotip, virus, radiație) și relațiile acestora, *genotip x virus*, *genotip x radiație*, *virus x radiație*, *genotip x virus x radiație*, au fost semnificative în dependență de caracterul analizat și generație. Este necesar de menționat că 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 asupra caracterului TPL în M₁ s-a micșorat. Totodată s-a evidențiat majorarea influenței VMDO asupra NBSP, unde puterea de influență a crescut de 1,81 ori. Iar interacțiunea *genotip x virus* a atins valoarea de 6,65%, deși în M₀ nu a influențat semnificativ (Figura 5.2).

Gradul de intensificare a acțiunii factorilor analizați asupra variației caracterelor agromorfologice în M₁ a fost dependent de caracter și factorul analizat. Prin urmare, în dependență de caracter, acțiunea separată sau comună a infecției virale și razelor gama, precum și interacțiunea cu genotipul, este demonstrat un efect intergenerațional.

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

Forma mutantă VMDO + 250 Gy la care lema (bracteea florală) spiculețului poartă o structură neomorfa organizată în formă de sac a fost evidențiată la descendenți pe parcursul celor 7 generații analizate (Figura 5.3).

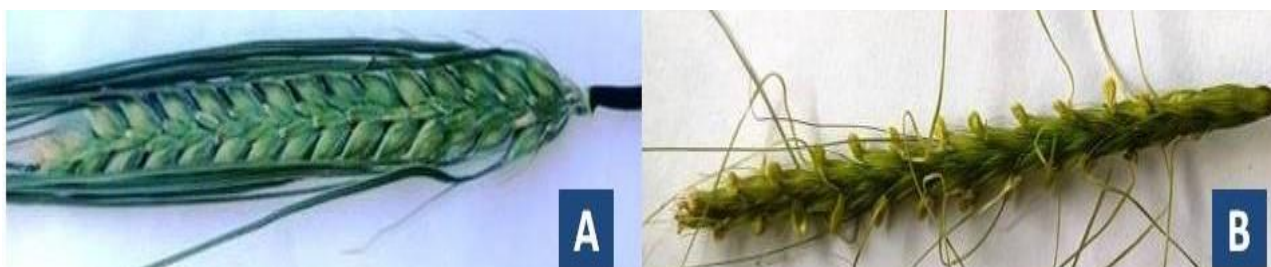


Fig. 5.3. Aspectul morfologic al spicului mutant *calcaroides* de orz de primăvară, s. Sonor : A - Martor; B - Forma mutantă *calcaroides*.

Analiza comparativă a aspectului morfologic al lemei la forma VMDO + 250Gy, mutantilor *cal*, înregistrați în baza de date pentru genele și fondul genetic al orzului (NordGen) a fost stabilit că genele potențiale care codifică mutația respectivă sunt *cal a* (*a5*, *a8*) sau *cal C15*.

Totodată, nu au fost atestate informații disponibile despre datele biometrice a caracterelor biomorfologice la această formă mutantă. Prin urmare, a prezentat interes evaluarea caracterelor cantitative la forma *calcaroides* și evidențierea asocierii mutației cu însușirile valoroase.

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 5.1). Acțiune maximă au manifestat condițiile climatice ale anului de studiu pentru toate caracterele analizate, cu excepția NBSP pentru care variația a fost prioritar determinată de genotip (20,55%).

Tabelul 5.1. Analiza varianței indicilor biomorfologici la forma mutantă *cal* (ANOVA)

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

Notă: SP – suma pătratică, F – test Fisher

Pentru parametrii LSP, NSP, NB și NFF, s-au înregistrat valori medii mai mici (de 1,06 - 2,66 ori) în comparație cu varianta martor. Coeficientul de variație (CV,%) a indicilor TPL, LUI, LSP, NSP a variat de la 3,23 - 19,39%, ceea ce corespunde unei variații mici și medii a acestor caractere. Evaluarea gradului de variabilitate a indicelui NBSP și NFF a atestat o variație medie (14,93 - 25,40%) și respectiv puternică (36,38 - 106,7%) a acestor caractere [10]. Puterea de influență a generației în dependență de condițiile de an a atins valori de 30,31 - 46,96%, în dependență de caracterul biomorfologic analizat.

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

Evaluarea descendențelor somaclonelor s. Unirea a evidențiat plante cu spic ramificat care au fost descrise cu o frecvență de 47,14% în generația SC₂ (2014) (Figura 5.4).



Fig. 5.4. Aspectul morfologic al somaclonelor cu spic ramificat s. Unirea în diferite generații

În generațiile ulterioare a fost atestat, că acest indice este dependent de temperatura mediului și exprimarea caracterului se înregistrează când plantulele sunt supuse

temperaturilor înalte la stadiul de inițiere a morfogenezei spicului. 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 [26], am constatat că aspectul ramificat al spicului este determinată de genele recesive *spic compus* (*compositum*, *com2*, *com1*). Recent, a fost demonstrat că frecvența și gradul de manifestare al caracterului respectiv este dependent de temperatura mediului.

Conform celor relatate anterior se conturează importanța științifică și practică a formei mutante *spic ramificat*. 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.

Evaluarea indicilor varianței caracterelor ce determină arhitectura și productivitatea la formele de orz crescute în diferite condiții de an, denotă că, valorile varianței fenotipice (*Vph*) au fost mai mari decât cele ale varianței genotipice (*Vg*), pentru toate caracterele, la ambele forme de orz (spic ramificat și neramificat) (Tabelele 5.2, 5.3).

Tabelul 5.2. Varianța genotipică și fenotipică pentru caracterele agromorfologice la formele de orz cu spic ramificat (SC₂ - SC₃) în dependență de an

Caractere	$\bar{x} \pm Es$	Vg	Vph	Ve	CVG%	CVF%	h ² ,%	AG, %
SC₂ (2014, 2020)								
LSP, cm	11,75±0,20	0,33	0,40	1,61	4,87	5,36	82,33	9,10
LUI, cm	17,61±0,74	14,44	15,22	17,86	21,59	22,16	94,90	43,32
NI	5,37±0,08	0,15	0,16	0,25	7,18	7,44	93,17	14,29
NFF	0,35±0,10	0,17	0,19	0,37	118,29	123,74	91,37	232,92
SC₃ (2020, 2022)								
NI	6,10±0,10	0,06	0,08	0,17	4,13	4,64	79,17	7,56
NFF	1,10±0,25	0,90	0,98	0,78	86,35	90,00	92,06	170,68
GBSP	0,98±0,11	1,50	1,57	526,55	71,00	72,60	93,08	103,07
GBPL	1,73±0,27	0,17	0,19	0,15	42,28	44,07	92,02	83,54
NBPL	51,30±6,70	707,81	760,46	0,68	51,86	53,75	95,65	143,04
MMB	32,16±2,13	114,14	120,26	61,21	33,56	34,44	94,91	67,34
SC₄ (2020, 2022)								
LUI, cm	17,57±0,80	9,73	10,67	14,13	17,75	18,59	91,17	34,92
NI	6,13±0,09	0,13	0,14	0,19	5,87	6,15	91,07	11,54
NBSP	31,70±1,54	57,75	60,50	41,24	23,97	24,54	95,46	48,25
NBPL	52,40±4,47	121,50	157,24	536,02	21,04	23,93	77,27	38,09
GBSP	1,07±0,08	0,18	0,19	0,09	40,22	40,87	96,84	81,52
GRBPL	1,76±0,19	0,62	0,67	0,74	44,48	46,21	92,61	88,17
MMB	31,84±1,83	76,09	80,17	61,21	27,40	28,12	94,91	54,99

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 și contribuția semnificativă a genotipului asupra expresării fenotipice a caracterelor.

Evaluarea gradului de variabilitate a caracterelor ce țin de arhitectura plantei (TLP, LUI, LSP, NI) au prezentat un grad mic (<10%) sau mediu (10 - 20%) pentru variația genotipică și fenotipică, cu excepția LUI (SC₂). Iar caracterele ce determină productivitatea (NFF, NBSP, NBPL, GBSP, GBPL, MMB) au variat puternic (>20%), cu excepția NBSP (SC₄, spic neramificat). Heritabilitatea în sens larg (h²) a 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) (Tabelele 5.2, 5.3).

Tabelul 5.3. Variația genotipică și fenotipică pentru caracterele agromorfologice la formele de orz cu spic neramificat (SC₂-SC₃) în dependență de an

Caractere	$\bar{x} \pm Es$	Vg	Vph	Ve	CVG%	CVF%	h ² , %	AG, %
SC₂ (2014, 2020)								
TLP	78,64±3,76	71,67	75,24	96,30	10,76	11,03	95,26	21,64
NI	5,48±0,81	0,06	0,07	0,22	4,48	4,78	87,92	8,65
NFF	0,88±0,02	1,39	1,45	1,77	132,56	135,66	95,48	266,83
SC₃ (2020, 2022)								
NFF	2,05±0,13	1,22	1,45	2,25	53,88	58,64	84,43	101,99
NBSP	24,25±0,66	32,86	34,45	15,85	23,64	24,20	95,40	47,56
NBPL	63,75±3,17	1437,11	1551,27	1141,63	59,47	61,78	92,64	117,91
GRSP	0,97±0,08	0,21	0,22	0,06	47,06	47,67	97,42	95,68
GBPL	2,57±0,13	3,47	3,69	2,23	72,49	74,78	93,96	144,75
SC₄ (2020, 2022)								
TLP	72,29±4,56	38,75	42,78	40,32	8,61	9,05	90,57	16,88
NI	6,40±0,52	0,30	0,32	0,20	8,56	8,84	93,75	17,07
NFF	1,40±0,99	0,66	0,72	0,64	57,83	60,61	91,05	113,68
NBSP	27,00±5,62	18,27	19,22	9,54	15,83	16,24	95,03	31,79
NBPL	57,20±3,21	609,38	642,50	331,22	43,16	44,31	94,84	86,58
GRSP	1,11±0,64	0,16	0,16	0,03	35,54	35,90	98,04	72,49
GBPL	2,27±0,78	1,92	1,98	0,63	60,88	61,88	96,79	123,39
MMB	37,80±2,54	66,46	67,23	7,78	21,56	21,69	98,84	44,16

Valorile înalte ale h² la caracterele analizate la ambele forme de orz de primăvară indică despre contribuția majoră a variației genotipice asupra celei fenotipice, stabilitatea exprimării fenotipice în diferite condiții ale mediului și răspunsul așteptat la selecție a indicilor respectivi. În scopul precizării efectului final al selecției este necesar de determinat relația directă dintre indicele h² și răspunsul la selecție, care se referă la avantajul genetic (AG) al caracterelor respective. Heritabilitatea înaltă asociată cu avantajul genetic ridicat (AG > 20%) a fost atestată pentru toate caracterele ce determină direct productivitatea: NFF (SC₂-SC₄), NBSP, NBPL, GBSP, GBPL, MMB la ambele forme de orz în generațiile SC₃, SC₄ (2020-2022) și indicele LUI (SC₂) la formele cu spic ramificat. De asemenea, în cercetările realizate de noi, pentru caracterul TLP (SC₂, SC₄, 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.

În ceea ce privește indicele NI (SC₂-SC₄, ambele forme), valorile avantajului genetic au variat de la moderate spre joase (AG < 10%), iar caracterul LSP (SC₂, spic ramificat) a prezentat heritabilitate înaltă cuplată cu un avantaj genetic scăzut. 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.

Un alt indice important care ajută la luarea deciziei în cadrul selecției directe sau indirecte conferă coeficientul de corelare [17, 22, 27]. Informația despre natura și magnitudinea coeficientului de corelare contribuie la precizarea criteriilor de selecție pentru ameliorarea simultană a diferitelor caractere, asociate productivității plantei și selectării combinațiilor dorite [26].

În rezultatul estimării coeficientului de corelare Pearson (r) pentru 9 combinații de caractere la formele de orz s-a atestat asocierea semnificativă, pozitivă medie (r = 0,3 - 0,7) și puternică (r > 0,7) atât între indicii 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 (Figura 5.5).

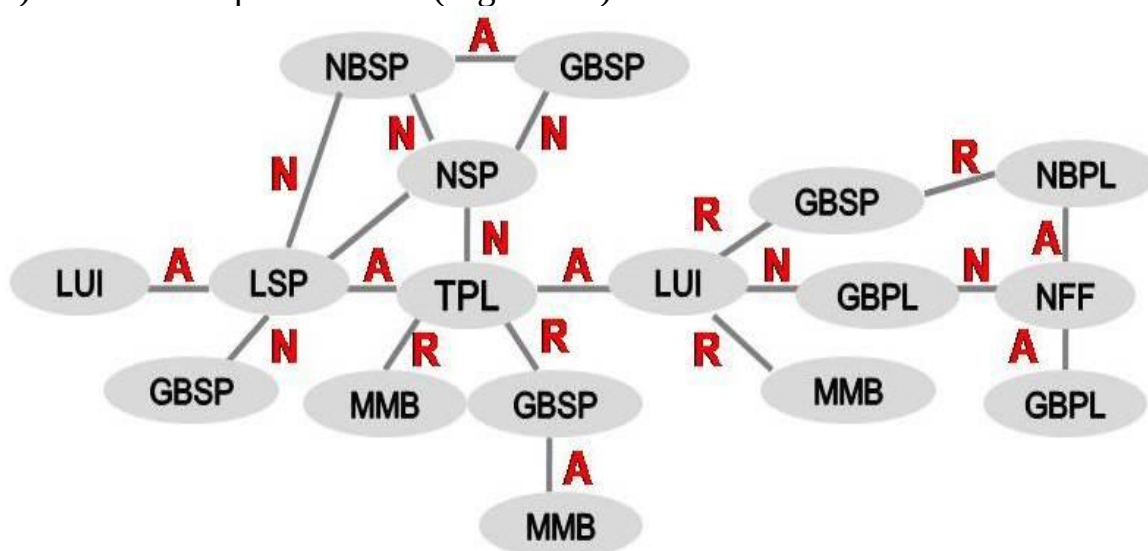


Fig. 5.5. Interrelațiile între elementele productivității în aspect transgenerațional:
A – ambele forme; N – spic neramificat; R – spic ramificat

Prin urmare, 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 ale 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 dezvoltarea mecanismelor implicate în genetica arhitecturii spicului și elementelor ce determină indirect productivitatea boabelor în condiții de temperaturi înalte.

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, [3, 7]).
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, [7]).
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, [7]).
5. Evaluarea a 570 de somaclone (SC_0) fertile obținute de la donori iradiați cu razele gama (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 de tipul *spic ramificat* (Unirea 100 Gy), caracter determinat de factori de mediu, prioritar de temperatură (cap. 4, [5, 31]).
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, [9]).
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, [19]).

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, [8, 10, 29]).
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 SELECTIVĂ

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., 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.
3. **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.
4. **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.
5. **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, Chișinău, Republica Moldova: Tipografia Academiei de Științe a Moldovei, 2013, p. 19.
6. **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, Chișinău. 2014, pp. 204-208.
7. **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, Chișinău. *Lucrări științifice. Agronomie*. CE UASM, 2014, vol. 41. pp. 302-305.
8. **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.
9. **GRIGOROV, T.**, SMEREA, S., ANDRONIC, L., Variabilitatea caracterelor agro-morfologice 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 climatice*, Conferința științifico-practică cu participare internațională, 4-5 septembrie 2020, Pașcani. Chișinău: 2020, pp. 153-161.
10. **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. Tipogr. "PrintCaro", 2021, pp. 149-152.
11. ANDRONIC, L. Viruses as triggers of DNA rearrangements in host plants. In: *Can. J. Plant Sci.* 2012, vol.92, pp.1083–1091.
12. ANDRONIC L., JACOTA, A., BUJOREANU, V., **GRIGOROV, T.** Genotoxicity of barley stripe mosaic virus in infected host plants. In: *Cent. Eur. J. Biol.* 2010 a, vol. 5 (5), pp. 633-640
13. 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.
14. 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.
15. BOYKO, A., KOVALCHUK, I. Genetic and epigenetic effects of plant–pathogen interactions: An evolutionary perspective. In: *Molecular Plant*, 2011, pp.1-10.

16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. **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, Ediția a VI-a, 3-4 octombrie, Chișinău. Centrul Editorial-Poligrafic al USM, 2022, pp. 53-55.
20. HARWOOD, W.A. An Introduction to Barley: The Crop and the Model. In: *Methods Mol Biol.* 2019, vol.1900, pp.1-5.
21. 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.
22. NEYHART, J., LORENZ, A., SMITH, K. Multi-trait improvement by predicting genetic correlations in breeding crosses. In: *G3 Genes/Genomes/Genet.* 2019, vol. 9, pp.3153–3165.
23. PM 7/126. Electron microscopy in diagnosis of plant viruses. Buletin OEPP/EPPO, 2015, vol. 45(3), 450- 453.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. WADAN, A. Correlation and regression analysis in barley. In: *World Ess. J.* 2013, vol., 1 (3), pp. 88 -100.
28. 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.
29. **ГРИГОРОВ, Т.** Изменчивость количественных признаков ячменя под влияние вирусной инфекции отдельно или в сочетании с гамма-излучениями в М₀-М₂ поколениях. *Плодоводство и ягодоводство России.* Москва, 2012, vol. 46 (1), pp. 170-177.

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

Articole în reviste științifice din bazele de date Web of Scenice și SCOPUS

1. ANDRONIC, Larisa; JACOTA, Anatol; BUJOREANU, Valeriu; **GRIGOROV, Tatiana.** Genotoxicity of barley stripe mosaic virus in infected host plants. In: *Cent. Eur. J. Biol*, 2010, nr. 5(5), pp. 633-640.

Articole în reviste științifice (de peste hotare)

2. **ГРИГОРОВ, Татьяна.** Изменчивость количественных признаков ячменя под влияние вирусной инфекции отдельно или в сочетании с гамма-излучениями в М₀-М₂ поколениях. *Плодоводство и ягодоводство России.* Москва, 2012, vol. 46 (1), pp. 170-177.

Articole în reviste științifice din Registrul Național al revistelor de profil, categoria B

3. ANDRONIC, Larisa; JACOTA, Anatol; **GRIGOROV, Tatiana**; BUJOREANU Valeriu. Studiul dividerilor mitotic în meristemele radiculare la orz în diverse condiții de infecției virale. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2009, nr. 3(309), pp. 74-81.
4. **GRIGOROV, Tatiana**; SMEREA, Svetlana; ANDRONIC, Larisa; BERZOI, Valentina. 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.

Articole în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

5. **GRIGOROV, Tatiana**. 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.
6. **GRIGOROV, Tatiana**. 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.
7. **GRIGOROV, Tatiana**; SMEREA, Svetlana. 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.
8. **GRIGOROV, Tatiana**; SMEREA, Svetlana. 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.
9. **GRIGOROV, Tatiana**. 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. Chișinău: Tipogr. "PrintCaro", 2021, pp. 149-152.

Articole în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

10. **GRIGOROV, Tatiana**; SMEREA, Svetlana; ANDRONIC, Larisa. Variabilitatea caracterelor agro-morfologice 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 climatice*, Conferința științifico-practică cu participare internațională, 4-5 septembrie 2020, Pașcani. Chișinău: 2020, pp.153-161.

Teze în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

11. **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.
12. **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.

Teze în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

13. **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.

14. **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
15. **GRIGOROV, Tatiana**; ANDRONIC, Larisa; SMEREA, Svetlana; TEMNICOV, Evghenii. 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, Republica Moldova: Centrul Editorial-Poligrafic al USM, 2022, pp. 53-55.

Teze în lucrările în conferințelor științifice naționale cu participare internațională

16. **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. Chișinău: „Editerra Prim” SRL, 2010, p.107.
17. **GRIGOROV, Tatiana**. 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 AȘM, 2013, p. 19.
18. **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.
19. **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, Republica Moldova: Tipografia "Print-Caro", 2019, p.40.
20. TEMNICOV, Evgheni; **GRIGOROV, Tatiana**; ANDRONIC, Larisa; MĂRÎI, Liliana; SMEREA, Svetlana. 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.

Teze în lucrările în conferințelor științifice naționale

21. **GRIGOROV, Tatiana**. Inducerea morfogenezei calusului la orzul de primăvară supus acțiunii infecției virale și radiației gama. In: *Genetica și fiziologia rezistenței plantelor*, Conferința științifică In memoria academicianului Anatolie Jacotă, 21 iunie 2011, Chișinău, Ch.: Tipografia Centrală, 2011, p. 137.

Brevete de invenții

22. ANDRONIC, Larisa; **GRIGOROV, Tatiana**; BUJOREANU, Valeriu. *Procedeu de obținere a recombinanților de orz de primăvară*. Brevet de invenție nr. 251 din 22.04.2010. In: BOPI nr.8, 2010, pp. 28-29.

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 (298), 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 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 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 IGFPP, iar linia mutantă *ram* – cercetătorilor grupului Genetica și ameliorarea cerealelor păioase (IGFPP) 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 298 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 298 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 соматоклонов ячменя; о действия вируса и гамма-лучей на цитогенетические и биохимические показатели каллуса и регенерантов ячменя; анализ влияния вируса и гамма-лучей на соматоклональные 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 соматоклонов 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 соматоклонов 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 ИГФЗР, а мутантная линия с разветвленным колосом - исследователям отдела Генетики и Селекции злаков (ИГФЗР) для вовлечения в процесс селекции.

GRIGOROV TATIANA

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

162.01. GENETICĂ VEGETALĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

Aprobat spre tipar: 17.11.2023	Formatul hârtiei A4
Hârtie offset. Tipar digital	Tiraj 50 ex.
Coli de tipar: 3.00	Comanda nr. 172

Tipografia PRINT-CARO

str. Columna, 170

tel.: 022-85-33-86