

3. Blagodatskij, S. A., Bogomolova, I. N., Blagodatskaâ, E. V. Mikrobnââ biomasa i kinetika rosta mikroorganizmov v černozemah pri različnom sel'skohozâjstvennom ispol'zovanii. *Mikrobiologîâ*, T. 77, № 1, 2008, s. 113-120.
4. Frunze, N. I. Počvennaâ mikrobnââ biomasa kak rezerv biogennyh élementov. *Agrohimiâ*, № 9, 2005, s. 20 - 23.
5. Guzev, V. S., Zvâgincev, D. G. Biometričeskij analiz kletok bakterij v počve. *Mikrobiologîâ*, T. 72, № 2, 2003, s. 221-227.
6. Homutova, T. É., Demkina, T. S., Demkin, V. A. Ocenka summarnoj i aktivnoj biomassy raznovozrastnyh podkurganyh počv. *Mikrobiologîâ*, T. 73, № 2, 2004, s. 241-247.
7. Polânskaâ, L. M., Golovčenko, A. V., Zvâgincev, D. G. Mikrobnââ biomasa v počvah. *Doklady Akademii Nauk*, № 144, 1995, s. 846-848.
8. Zavarzin, G. A. Izučenie mikrobnogo raznoobraziâ v Institute mikrobiologii im. S.N.Vinogradskogo. *Mikrobiologîâ*, T. 73, № 5, 2004, s. 598-612.

Data prezentării articolului – 20.09.2012

CZU 633.15:631.52.

APRECIEREA COMPARATIVĂ A DIFERITOR INDICI DE DISCRIMINARE A LINIILOR ÎNRUDITE DE PORUMB

S.BRUMA

Institutul de Fitotehnie „Porumbeni”

Abstract. The paper presents studies on the morphological characters and genetic indices (yield and heterosis) in order to assess the associations between related inbred lines of maize. The results of evaluating a set of 12 sister lines and 20 lines with 25, 50 and 75% of common donors established a low discrimination capacity of the relationship degree on the basis of the morphological and agronomical characters. More precise tests on distinctivity can be done on the basis of grain yield and heterosis. The experiments on 54 test crosses of 4 germplasm groups with 25 lines as parental forms indicated the efficiency of the genetic diversity index DG compared to the heterosis index H when differentiating the related material.

Key words: Distinctivity, Genetic diversity, Heterosis, Morphological characters, Morphological data, Related inbred lines.

INTRODUCERE

Diferențierea liniilor consangvinizate de porumb în scopul aprecierii gradului de rudenie și clasificării acestora în grupe de germoplasmă sau heterotice se efectuează prin diferite metode. La discriminarea primară se folosește metoda pedigreului, care oferă informație referitoare la proveniența genealogică a materialului inițial de selecție. În baza caracterelor morfologice liniile se asociază în clase fenotipice și conform recomandărilor UPOV diferențele după un caracter sau mai multe se consideră ca nivel de confirmare a distinctivității. Metoda genetică are ca element discriminatoric nivelul de heterozis după producția de boabe, realizat în test încrucișări sistemice de tip topcross sau dialel. Menționăm că în literatura de specialitate deosebirile mai mici de 25% heterozis se consideră nesemnificative și mostrele comparate sunt clasificate ca similare genetic (O. Smith, J. Smith, 1992). Pentru identificarea liniilor și hibridilor de porumb pe larg se folosesc tehnologii biochimice și moleculare, care au ca markeri spectrele electroforetice ale zeinei și izoenzimelor, polimorfismul fragmentelor de ADN (tehnologia RFLP) și succesiunea nucleotidelor la amplificarea ADN-ului prin reacția în lanț a polimerazei (tehnologia PCR).

Eficacitatea metodelor pentru diferențierea materialului de selecție este suficient analizată în literatura de specialitate (J. Smith, O. Smith, 1989a; 1989b; O. Smith et al., 1990; 1991). Cercetări relativ limitate au fost efectuate cu linii consangvinizate înrudite, care la etapa actuală predomină în programele de ameliorare a porumbului. Diferențierea liniilor surori, create din o singură sursă de material inițial și a liniilor înrudite cu proveniență din diverse surse cu genitori comuni, permite stabilirea identității acestora, element necesar în procesul de selecție și brevetare. Scopul lucrării – totalizarea cercetărilor referitoare la evaluarea similarității/distinctivității liniilor înrudite efectuate sub conducerea științifică a profesorului S. Musteața.

MATERIAL ȘI METODĂ

Ca obiect de studiu au servit 12 linii surori create din populația sintetică MKP33 cu bază genetică largă. Mostrele respective s-au încrucișat în sistem dialel incomplet – $n(n-1)/2$ și cele 66 testîncrucișări au fost diferențiate după 28 caractere morfologice și producția de boabe. În următoarea experiență, ca model genetic, au servit 20 linii, inclusiv 6 cu 75%, 8 cu 50% și 6 cu 25% în genotip a germoplasmei donatorului comun D27 din grupa heterotică BSSS-B37 și D29 din grupa Iodent. Liniile au fost încrucișate cu donatorii înrudiți și evaluate în 2005 – 2006 după producție și umiditate a boabelor. Discriminarea de la donatori s-a efectuat după 34 caractere morfologice a ghidului UPOV și 23 caractere ameliorative. În perioada anilor 2009-2011 au fost studiate 54 încrucișări înrudite realizate cu 7 linii îndurate din complexul heterotic Euroflint, 6 linii Iodent, 5 linii Dent timpuriu și 7 linii din grupa de germoplasmă BSSS-B37. Liniile și testîncrucișările s-au experimentat în culturi comparative de orientare pe parcele cu o suprafață de 9.8 m² în 2 repetiții. La estimarea indicelui de heterozis s-a folosit formula clasică: $H = [(F_1 - P_{med}) / P_{med}] \times 100$, unde F_1 – producția de boabe a testîncrucișărilor și P_{med} – producția formelor parentale. Indicele diversității genetice a fost calculat în ecuația: $DG = 100 - [(H_{max} - H_{exp}) / (H_{max} - P_{exp})] \times 100$, unde H_{max} – producția hibridilor martori cu forme parentale din grupe heterotice alternative, H_{exp} – producția testîncrucișărilor și P_{exp} – media producției pe grupa liniilor înrudite (S. Musteața, S. Mistreț, 2002). Coeficienții de variație (V) și corelație (r) s-au estimat după metodele statistice descrise de către B. Dosepov (1985).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Liniile surori cu proveniență din populația sintetică MKP33, creată cu participarea a 8 linii timpurii și 2 tardive, au fost studiate în anii 1997-1998. Datele experimentale obținute la discriminare în baza metodei fenotipice și producției de boabe a 66 încrucișări au fost transformate în valori ale indicelui diversității genetice DG și cota caracterelor morfologice distinctive. Rezultatele redată în tabelul 1 arată că indicele DG a variat de la zero la combinația 2712/92 x 2713/92 până la 88.4% la 2527/92 x 2557/92. Din totalul mostrelor comparate la două s-a semnalat rudenie genetică apropiată (DG mai mic de 30%), la 58 perechi de linii – legături de rudenie medii (DG 30-70%) și genetic mai îndepărtate (DG mai mare de 70%) s-au remarcat 6 perechi de linii. După caracterele morfologice testîncrucișările se deosebeau de la 14.3%, ceea ce constituie 4 caractere, până la 75%, adică 21 caractere. În conformitate cu recomandările UPOV, toate liniile surori (cu pedigreu comun) se consideră cu deosebiri esențiale între ele. Remarcăm că din cele 28 caractere morfologice asocieri pozitive sau negative au manifestat: 1) perioada apariției anterelor și stigmatelor (înfloritul organelor reproductive); 2) culoarea antocianică a anterelor și glumelor, stigmatelor și rahisului; 3) colorația tecii frunzelor și a internodurilor; 4) lungimea știuletelui și numărul rândurilor de boabe; 5) numărul ramificațiilor laterale, lungimea lor și

Tabelul 1

Diferențierea liniilor surori în baza metodelor genetice și fenotipice

| N | Liniile | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 | 2527/92 | | 54.9 | 88.4 | 41.2 | 77.9 | 56.4 | 38.0 | 21.0 | 57.3 | 41.0 | 38.2 | 59.9 |
| 2 | 2529/92 | 21.4 | | 68.2 | 52.4 | 58.4 | 49.8 | 61.6 | 58.8 | 79.6 | 55.4 | 38.6 | 58.8 |
| 3 | 2557/92 | 64.3 | 42.8 | | 54.7 | 51.5 | 60.3 | 54.9 | 32.4 | 44.8 | 40.8 | 45.3 | 54.7 |
| 4 | 2562/92 | 46.4 | 60.7 | 28.6 | | 57.9 | 64.2 | 49.6 | 43.4 | 72.5 | 51.7 | 49.8 | 67.4 |
| 5 | 2588/92 | 67.8 | 28.6 | 50.0 | 32.1 | | 78.1 | 60.9 | 59.2 | 54.7 | 54.9 | 59.0 | 59.7 |
| 6 | 2589/92 | 60.7 | 32.1 | 39.3 | 46.4 | 17.8 | | 41.0 | 71.1 | 79.2 | 64.6 | 65.9 | 58.4 |
| 7 | 2596/92 | 75.0 | 67.8 | 71.4 | 60.7 | 57.1 | 60.7 | | 39.3 | 65.5 | 52.2 | 45.9 | 34.3 |
| 8 | 2701/92 | 57.1 | 46.4 | 39.3 | 50.0 | 42.8 | 32.1 | 71.4 | | 52.8 | 50.2 | 46.1 | 44.6 |
| 9 | 2705/92 | 64.3 | 42.8 | 32.1 | 28.6 | 35.7 | 39.3 | 67.8 | 17.8 | | 49.4 | 38.2 | 43.4 |
| 10 | 2712/92 | 53.6 | 39.3 | 25.0 | 32.1 | 35.7 | 35.7 | 60.7 | 25.0 | 21.4 | | 0.0 | 43.4 |
| 11 | 2713/92 | 53.6 | 50.0 | 25.0 | 35.7 | 39.3 | 35.7 | 57.1 | 21.4 | 17.8 | 14.3 | | 32.0 |
| 12 | 854/92 | 67.8 | 57.1 | 35.7 | 32.1 | 42.8 | 39.3 | 71.4 | 35.7 | 32.1 | 21.4 | 32.1 | |

Notă: deasupra diagonalei - indicele diversității genetice DG; sub diagonală - % de caractere morfologice distincte.

densitatea spiculețelor pe panicul. Probabil aceste legături între caracterele morfologice au majorat esențial cota celor distincte la unele linii, în special la 2527/92 și 2596/92 cu o medie foarte înaltă. Așadar, în experiența respectivă rezultatele experimentale au indicat eficacitate joasă a metodei fenotipice în comparație cu metoda genetică.

Rezultatele experimentale ale cercetărilor cu liniile consangvinizate din trei grupe (după datele genealogice) cu o cotă stabilită a donatorilor comuni în genotip sunt redată în tabelul 2. Deosebirile între grupele de linii în baza caracterelor morfologice distincte de donatori sunt destul de clare. În prima grupă cu distinctivitate de 25% a genotipurilor studiate, cota caracterelor a variat în intervalul 2.9-17.6%, care corespunde unui și șase caractere distinctive. Cele 8 linii cu 50% similaritate/distinctivitate genealogică au înregistrat o medie de 24.6% și o variație mai largă a indicilor fenotipici cu deosebiri după 5-17 caractere. La ultima grupă de mostre cu 25% distinctivitate de la donator intervalul de variație a constituit 20.6-50.0% cu valori medii de 35.8% deosebiri fenotipice. În experiența respectivă diferențierea liniilor de la donatori în baza metodei fenotipice s-a dovedit a fi mai efectivă, comparativ cu selecțiunea liniilor surori. Discriminarea mostrelor după quantumul caracterelor ameliorative a evidențiat diferențe în prima grupă de linii cu o medie de 29.0% și mai apropiate în următoarele grupe de rudenie în baza datelor pedigreeului. Folosirea producției de boabe ca indice de diferențiere a arătat că valorile medii, corespund

Tabelul 2

Diferențierea liniilor de la donatorii comuni incluși în materialul inițial

| Nr. d/o | Specificări | Grupele de germoplasmă | | | |
|---------|--|------------------------|------------|------------|------------|
| | | Dent timpuriu | BSSS-B37 | Euroflint | Iodent |
| 1 | Încrușări înrudite studiate | 10 | 14 | 14 | 14 |
| 2 | Media producției de boabe, q/ha | 47.5 | 58.8 | 52.9 | 59.4 |
| 3 | Intervalul de variație a producției, q/ha | 36.3-57,6 | 38.7-64.2 | 27.0-62.3 | 50.2-64.8 |
| 4 | Media indicelui H, % | 52.2 | 99.3 | 115.5 | 55.5 |
| 5 | Intervalul de variație a indicelui H, % | 24.3-78.9 | 20.1-170.2 | 17.7-184.1 | 31.9-104.5 |
| 6 | Coeficientul de variație a indicelui H, % | - | - | 43.9 | 27.2 |
| 7 | Media indicelui DG, % | 49.6 | 60.3 | 55.8 | 51.8 |
| 8 | Intervalul de variație a indicelui DG, % | 14.6-79.7 | 13.1-73.9 | 4.9-45.0 | 30.9-67.7 |
| 9 | Coeficientul de variație a indicelui DG, % | - | - | 15.6 | 18.6 |
| 10 | Diferența valorilor medii H-DG, % | -2.6 | -39.0 | -59.6 | -3.7 |

cu gradul de contribuție a genotipului donatorilor în genomul liniilor consangvinizate. Diferențele între prima și ultima grupă de rudenie genealogică au constituit 20,2q/ha boabe. O situație similară se observă și în cazurile utilizării indicilor de heterozis H și a diversității genetice DG, care perfect reflectă deosebirile între mostre cu trei gradații de rudenie genetică. Rezultatele cercetărilor respective afirmă capacitatea discriminatorică înaltă a nivelului de heterozis calculat prin ambele formule. Ținând cont de aceste concluzii, în anii 2009-2011 au fost realizate experiențe în scopul analizei comparative a indicilor H și DG sub aspectul influenței condițiilor climaterice asupra valorilor acestora. Menționăm că cadrul natural a fost suficient de reprezentativ pentru obiectivele preconizate, înregistrând devieri semnificative după regimul termic și pluviometric. Pe parcursul perioadei de vegetație a porumbului timpuriu (lunile mai-august) cantitatea de precipitații atmosferice a constituit 140 mm în 2009, 501 mm în 2010 și 255 mm în anul 2011 și temperaturi medii ale aerului, respectiv de 20.6°C, 21.2°C și 19.8°C. În culturi comparative a anilor 2009-2010 s-au experimentat 24 încrușări înrudite sintetizate cu 5 linii din grupa heterotică Dent timpuriu și 7 linii din grupa BSSS-B37. Alt set de 28 variante înrudite, create cu 7 linii Euroflint și 6 din grupa Iodent, au fost studiate timp de trei ani. Pentru evaluarea nivelului de heterozis în testări s-au inclus toate formele parentale și 4 hibridi martori realizați cu linii din grupe heterotice alter-native. Rezultatele generalizate (tab. 3) arată că valorile medii pe secțiunea încrușărilor înrudite a constituit 80.6% pentru indicele H cu o variație semnificativă în intervalul 52.2-115.5%, comparativ cu 54.4% a indicelui diversității genetice și amplituda de 49.6-60.3%. Coeficientul de variație a indicelui H în medie pe 28 variante (35.5%) s-a dovedit a fi mai înalt cu 18.4%, comparativ cu indicele DG. Menționăm că

variație nesemnificativă (V mai mic de 10%) a indicelui H au înregistrat 2 variante, medie – 4 variante și semnificativă (V mai mare de 20%) – 22 încrucișări înrudite, pe când după indicele DG în categoriile respective s-au plasat 12, 10 și 6 încrucișări. Cele mai înalte valori ale coeficientului de variație a indicelui H s-au semnalat în grupa variantelor cu germoplasmă Euroflint (43.9%) cu o capacitate joasă de adaptare la condițiile stresante ale anului 2009.

Tabelul 3

Compararea efectului de heterozis estimat prin indicii H și DG

| Nr. d/o | Specificări | Grupele de germoplasmă | | | |
|---------|--|------------------------|------------|------------|------------|
| | | Dent timpuriu | BSSS-B37 | Euroflint | Io dent |
| 1 | Încrucișări înrudite studiate | 10 | 14 | 14 | 14 |
| 2 | Media producției de boabe, q/ha | 47.5 | 58.8 | 52.9 | 59.4 |
| 3 | Intervalul de variație a producției, q/ha | 36.3-57,6 | 38.7-64.2 | 27.0-62.3 | 50.2-64.8 |
| 4 | Media indicelui H, % | 52.2 | 99.3 | 115.5 | 55.5 |
| 5 | Intervalul de variație a indicelui H, % | 24.3-78.9 | 20.1-170.2 | 17.7-184.1 | 31.9-104.5 |
| 6 | Coeficientul de variație a indicelui H, % | - | - | 43.9 | 27.2 |
| 7 | Media indicelui DG, % | 49.6 | 60.3 | 55.8 | 51.8 |
| 8 | Intervalul de variație a indicelui DG, % | 14.6-79.7 | 13.1-73.9 | 4.9-45.0 | 30.9-67.7 |
| 9 | Coeficientul de variație a indicelui DG, % | - | - | 15.6 | 18.6 |
| 10 | Diferența valorilor medii H-DG, % | -2.6 | -39.0 | -59.6 | -3.7 |

Rezultatele cercetărilor efectuate cu un volum reprezentativ de încrucișări înrudite (138 variante) sintetizate cu participarea a 47 linii consangvinizate cu divers grad de rudenie genealogică au fost utilizate la calcularea coeficientului de corelație (r) între indicii de diferențiere. Datele prezentate în tabelul 4 atestă că în cadrul liniilor surori s-au semnalat legături slabe între caracterele morfologice, producția de boabe și nivelul de heterozis ($r=0.084-0.184$), iar producția de boabe a manifestat asociere puternică cu indicii H ($r=0.816$) și DG ($r=0.902$). Între indicii folosiți la diferențierea a 20 linii de la donatorii comuni s-au stabilit corelații puternice ($r=0.730-0.997$), cu excepția datelor pedigreeului și caracterele ameliorative ($r=0.485$). Producția de boabe la cele 52 încrucișări înrudite semnificativ se asociază cu valorile indicilor DG ($r=0.865$) și manifestă corelații medii cu indicele H ($r=0.520$).

În procesul de clasificare a liniilor în grupe heterotice sau subgrupe mai înguste, asociate cu liniile elită, un element important revine identificării metodelor cu capacitate discriminatorică înaltă și principiilor de sistematizare în clase de rudenie. Cercetările cu trei metode au stabilit că fiecare din ele au un anumit domeniu de utilizare datorită limitelor de diferențiere. Datele pedigreeului sunt relativ informaționale, întrucât liniile noi nu întotdeauna moștenesc egal genele formelor parentale datorită recombinărilor și selecțiilor dirijate pe parcursul consangvinizărilor succesive. Caracterele morfologice, tradițional folosite pentru descrierea fenotipului, manifestă o anumită variabilitate condiționată de interacțiunile cu mediul ambiant și corelații între unele din ele. Producția de boabe, ca indice integral al caracterelor morfologice și ameliorative, prezintă rezultatul final al efectelor de interacțiune a genelor și este un criteriu mai obiectiv de discriminare genetică. Transformarea valorilor absolute a producției în indicii de heterozis H și diversității genetice DG permite o apreciere mai obiectivă a distinctivității liniilor, folosind în acest scop valorile minimale de discriminare, respectiv 25% și 30%. Indicele de heterozis, datorită includerii în calcule a producției de boabe a liniilor concrete, are o variabilitate mai înaltă pe ani, comparativ cu indicele diversității genetice. Valorile indicelui DG permit gruparea liniilor după gradul de rudenie în: 1) similare – heterozis mai mic de 30%; 2) genetic apropiate – 30-70%; 3) genetic îndepărtate – 70-90% și 4) din grupe heterotice alternative – heterozis mai mare de 90% (S.Musteața i dr. 2009). Pentru facilitarea procedurii de calculare se propune varianta: $DG=(H_{exp}-P_{exp})/(H_{max}-P_{exp})\times 100$, unde H_{exp} – producția testincrucișărilor, P_{exp} – producția medie a grupei de linii și H_{max} – producția hibridilor martori realizați cu linii din grupe heterotice alternative. Formula respectivă poate fi utilizată și în cazurile aprecierii gradului de rudenie genetică între linii consangvinizate cu deosebiri esențiale genealogice și cu apartenență la grupe de germoplasmă distinctă.

Tabelul 4

Gradul de asociere a indicilor utilizați la diferențierea liniilor surori și înrudite

| Nr. d/o | Indicii asociați | Nr. de variante studiate | Coeficientul de corelație, r |
|---------|---|--------------------------|------------------------------|
| 1 | Caracterele morfologice – producția de boabe | 66 | 0,184 |
| 2 | Caracterele morfologice – indicele H | 66 | 0,126 |
| 3 | Caracterele morfologice – indicele DG | 66 | 0,084 |
| 4 | Producția de boabe – indicele H | 66 | 0,816 |
| 5 | Producția de boabe – indicele DG | 66 | 0,902 |
| 6 | Datele pedigreului – caracterele morfologice | 20 | 0,730 |
| 7 | Datele pedigreului – caracterele ameliorative | 20 | 0,485 |
| 8 | Datele pedigreului – producția de boabe | 20 | 0,812 |
| 9 | Producția de boabe – caracterele morfologice | 20 | 0,856 |
| 10 | Producția de boabe – indicele H | 20 | 0,861 |
| 11 | Producția de boabe – indicele DG | 20 | 0,997 |
| 12 | Producția de boabe – indicele H | 52 | 0,520 |
| 13 | Producția de boabe – indicele DG | 52 | 0,865 |

CONCLUZII

1. Datele genealogice și caracterele morfologice pot fi utilizate la diferențierea primară a liniilor consangvinizate, în special la comparările pare cu formele parentale ale materialului inițial de selecție.

2. Discriminarea în baza producției de boabe oferă posibilitatea de identificare mai largă și estimarea nivelului heterozisului prin intermediul indicelui diversității genetice DG poate fi considerată ca metodă eficientă în procesul de clasificare a liniilor consangvinizate.

3. Cunoașterea gradului de rudenie genetică a liniilor facilitează alegerea formelor parentale la crearea materialului inițial, sintetizarea combinațiilor hibride și modificarea formei materne a hibridilor simpli de porumb.

BIBLIOGRAFIE

1. Dosphehov, B.A. *Metodika polevogo opyta (s osnovami statističeskoj obrabotki rezul'tatov issledovanij)*, Moskva, Agropromizdat, 1985, 351s.
2. Musteața, S., Mistreț, S. Estimarea diversității genetice în cadrul liniilor consangvinizate de porumb cu pedigreu comun. *Cercetări de genetică vegetală și animală*. 2002, v.7, p.168-176.
3. Musteața, S.I., Mistreț, S.I., Bruma, S.G. Sravnitel'nyj analiz kriteriev opredeleniâ otličimosti u rodstvennyh linij kukuruzy. *Kukuruza i sorgo*, № 6, 2009, s.18-24.
4. Smith, J.S.C., Smith, O.S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize. I. The use of morfological traits as descriptors. *Maydica*, 1989, v. 34, p.141-150.
5. Smith, J.S.C., Smith, O.S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize. II. The utility of morfological, biochemical and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica*, 1989, v. 34, p.151-161.
6. Smith, O.S., Smith, J.S.C., Bowen, S.L. et al. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F₁ grain yield, grain yield heterozis and RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*. 1990, v.80, p.833-840.
7. Smith, J.S.C., Smith, O.S., Bowen, S.L. et al. The descriptors and assessment of distances between inbred lines of maize. III. A revised scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines utilizing DNA RFLPs. *Maydica*, 1991, v.36, p.213-226.
8. Smith, O.S., Smith, J.S.C. Measurement of genetic diversity among maize hybrids: Comparison of isozymic, RFLP, pedigree and heterosis data. *Maydica*, 1992, v.37, p.53-60.

Data prezentării articolului – 03.05.2012