

EFFECTUL RAZELOR GAMMA ASUPRA FRECVENȚEI MACROMUTAȚIILOR LA FASOLEA PENTRU PĂSTĂI CU CREȘTERE DETERMINATĂ, ÎN GENERAȚIA M₂

GAMMA RAYS EFFECT UPON THE MACROMUTATIONS FREQUENCY AT SOME DWARF POD BEANS VARIETIES IN M₂ GENERATION

Violeta SIMIONIUC
U.S.A.M.V. Iași

Abstract: The effect of gamma rays upon the M₀ seeds was extended in M₂ too. In this generation were established the spring and survival rate and the macromutations frequency (chlorophyllian and qualitative characters mutations) for a better estimation of the radiosensitivity and mutability degree at the analysed pod beans cultivars (Cape, Valja, Galbena de Moldova and Atlantic).

Efectul iradierii semințelor se prelungește și în a doua generație mutagenă. În lucrare sunt prezentate rezultatele unor observații și determinări privind influența razelor gamma la fasolea pentru păstăi cu creștere determinată, în generația M₂, cu referire la gradul de răsărire și supraviețuire al plantelor în câmp, frecvența mutațiilor clorofiliene și a celor ce afectează unele caractere alternative. Aceste determinări au fost necesare pentru o cât mai completă apreciere a mutabilității materialului biologic și a eficacității diferitelor doze de radiații gamma aplicate semințelor M₀.

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul biologic al generației M₂ a fost reprezentat de 1250 de plante M₁ din variantele iradiate cu radiații gamma în doze de 5, 10 și 15 Kr, aparținând la patru soiuri de fasole pentru păstăi cu creștere determinată (trei soiuri cu păstăile verzi: Cape, Valja și Atlantic și un soi cu păstăile galbene, respectiv Galbenă de Moldova).

Astfel, toate plantele ajunse la maturitate din variantele iradiate ale generației M₁ au fost recoltate separat și, în anul următor, s-au semănat câte 15 semințe din fiecare plantă M₁ (o plantă – un rând), fiecare al zecelea rând fiind semănat cu soiul martor, neiradiat, constituindu-se astfel generația M₂. Această generație a fost reprezentată de 1250 de descendențe din variantele iradiate ale celor patru soiuri, cu un număr total de 13610 plante ajunse la maturitate. Semănatul s-a realizat manual, la distanța de 50 cm între rânduri și circa 20 cm între plante pe rând.

Datele obținute în urma observațiilor și determinărilor efectuate au fost prelucrate statistic conform modelelor consacrate, menționate în literatura de specialitate (Saulescu et al., 1967; Ardelean, 1994; Leonte, 1996).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Gradul de răsărire al plantelor în câmp

Cercetările efectuate la diferite specii (Biserka-Ilieva Staneva, 1970; Nicolae, 1978; Tirdea, 1984; Simioniu, 2002) privind gradul de răsărire al plantelor în generația M₂, au dus la concluzia aproape generalizată că manifestarea

caracterului respectiv în această generație este corelată negativ cu mărirea dozelor de iradiere, într-o măsură mai mare sau mai mică, în funcție de tipul radiațiilor folosite, de cultivar și de influența factorilor de mediu.

Analizând reacția celor patru soiuri de fasole pentru păstăi în generația M_2 , în ceea ce privește gradul de răsărire al plantelor, se observă că procentul plantelor răsărite se reduce odată cu creșterea mărimii dozelor de iradiere (aplicate în fază unică la semințele M_0) însă, în comparație cu generația M_1 , această reducere nu mai este la fel de drastică (tabelul 1).

Tabelul 1

Influența iradierii asupra gradului de răsărire al plantelor, în generația M_2
(% față de numărul semințelor semănate)

SOIUL	CAPE	VALJA	GALBENĂ DE MOLDOVA	ATLANTIC
Mt-neiradiat	96,8	93,1	98,4	97,9
5 Kr	93,2	89,6	94,9	95,1
10 Kr	88,7 ^o	84,1 ^o	88,9 ^o	89,9 ^o
15 Kr	78,8 ^{oo}	80,5 ^{oo}	82,4 ^{oo}	79,6 ^{oo}
DL 5%	4,9	4,1	6,6	7,6
DL 1%	9,0	7,5	12,0	14,0
DL 0,1%	19,9	16,7	26,8	31,1

Plantele variantelor martor-neiradiat au răsărit într-o proporție cuprinsă între 93,1% la soiul Valja și 98,4% la soiul Galbenă de Moldova, astfel că, pentru toate cele patru soiuri, procentul mediu de plante răsărite a fost de 96,5%.

Din datele prezentate, se poate observa că cele patru soiuri s-au comportat destul de uniform ca urmare a influenței celor trei doze de iradiere cu raze gamma.

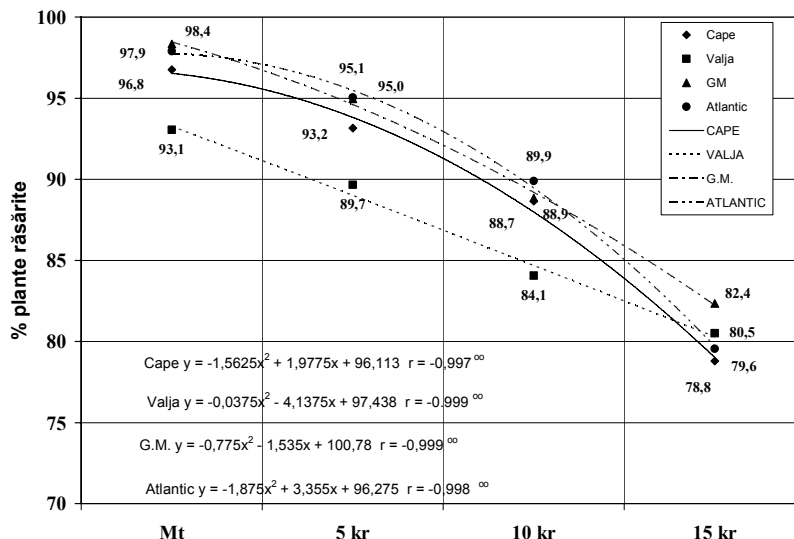


Fig. 1. Influența razelor gamma asupra gradului de răsărire al plantelor, în generația M_2

Doza de 10 Kr a determinat cel mai mic procent de plante răsărite la soiul Valja (84,1%), iar la doza de 15 Kr, gradul de răsărire al plantelor a fost cuprins între 78,8% la soiul Cape și 82,4% la soiul Valja.

Prin derivarea ecuațiilor regresiei pătratice, se poate conchide că, la nici unul din soiurile experimentate, nu s-au observat efecte de stimulare a răsăririi plantelor la doza de 5 Kr (figura 1).

Valorile coeficienților de corelație, distinct semnificative la toate cele patru soiuri analizate, indică existența unor corelații negative între procentul plantelor răsărite în generația M₂ și dozele de iradiere cu raze gamma.

Gradul de supraviețuire al plantelor în câmp

Efectul tratamentelor de radioinducere a mutațiilor la plante se răsfrânge destul de puternic și în a doua generație după iradiere, ca urmare a ajungerii în stare homozigotă a alelelor mutante recesive, multe dintre acestea fiind dăunătoare sau chiar letale. Drept urmare, o parte din plantele generației M₂ la care, în urma segregării, ajung în stare homozigotă asemenea alele mutante, fie mor imediat după ce răsar, fie înaintează o perioadă de timp în vegetație, după care pier.

Din datele prezentate în tabelul 2, se observă că plantele variantelor martor ale celor patru soiuri s-au caracterizat printr-un grad de supraviețuire cuprins între 90,9% la soiul Valja și 96,2% la soiul Galbenă de Moldova, procentul mediu de supraviețuire în generația M₂ nefiind mult inferior în comparație cu cel al plantelor răsărite.

Față de generația M₁, procentul plantelor supraviețuite la variantele iradiate ale celor patru soiuri a fost mai mare, dar dependent în continuare de mărimea dozelor de iradiere.

Referitor la reacția la iradiere a celor patru soiuri în generația M₂, se remarcă soiul Valja, la care procentul plantelor răsărite a fost inferior celorlalte soiuri, în cazul tuturor variantelor de tratament. În comparație cu martorul netratat, doza de 10 Kr a determinat o reducere a proporției plantelor ajunse la maturitate la 73,4% (diferență distinct semnificativă), iar la doza de 15 Kr, au răsărit 60,5% din semințele semănate, rezultând o diferență negativă foarte semnificativă.

Tabelul 2

Influența iradierii asupra supraviețuirii plantelor în câmp, în generația M₂ (% față de numărul semințelor semănate)

SOIUL	CAPE	VALJA	GALBENĂ DE MOLDOVA	ATLANTIC
Mt-neiradiat	94,6	90,9	96,2	93,5
5 Kr	89,4	83,0	93,3	88,0
10 Kr	83,9°	73,4°°	80,7°	82,6°
15 Kr	74,0°°	60,5°°°	72,6°°	68,8°°
DL 5%	9,6	7,2	9,6	7,2
DL 1%	17,6	13,2	17,6	13,2
DL 0,1%	39,0	29,3	38,9	29,3

La celelalte trei soiuri – Cape, Galbenă de Moldova și Atlantic, efectele iradierii în generația M₂ au fost destul de uniforme. Doza de 10 Kr a determinat o reducere a proporției plantelor supraviețuite până la 80,7% la soiul Galbenă de Moldova și 83,9% la soiul Cape, iar doza de 15 Kr a determinat reducerea distinct semnificativă a gradului de supraviețuire al plantelor, cea mai mică valoare procentuală fiind înregistrată la soiul Atlantic (68,8%).

Doza de 5 Kr a avut, de asemenea, efecte de reducere a proporției plantelor supraviețuite, în comparație cu populațiile martor dar, la toate cele patru soiuri, diferențele față de soiurile martor au fost destul de mici și neasigurate statistic.

Dintre cultivarele analizate, se poate afirma că, sub aspectul gradului de supraviețuire al plantelor în M₂, soiul Cape a fost cel mai puțin sensibil, iar soiul Valja, cel mai sensibil la influența iradierii, confirmându-se astfel, încă o dată, că valoarea DL 50 la soiul Valja este situată la aproximativ 12 Kr, față de soiul Cape, la care DL 50 este de 15 Kr. Celelalte două soiuri, Galbenă de Moldova și Atlantic, au o radiosensibilitate intermediară primelor.

Prelucrarea grafică a acestor rezultate (figura 2), cu ajutorul ecuațiilor regresiei pătratiche, demonstrează dependența procentului de plante ajunse la maturitate de mărimea dozelor de iradiere, coeficienții de corelație având valori negative și distinct semnificative la toate cele patru soiuri analizate.

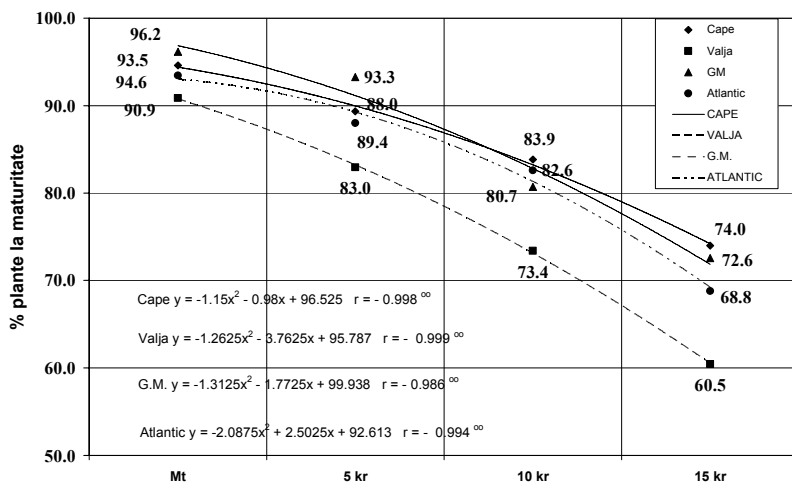


Fig. 2. Influența razelor gamma asupra gradului de supraviețuire al plantelor în generația M₂

Frecvența mutațiilor clorofilene

Un criteriu important de apreciere a mutabilității materialului biologic și a eficacității agenților mutageni este și frecvența mutațiilor clorofilene în generația M₂. Aceasta s-a estimat prin raportarea numărului mutațiilor clorofilene la 100 de plante din generația M₂ (Gane, 1966; Aasteveit, 1968; Nicolae, 1978; Țirdea, 1984).

Mutațiile clorofilene apărute în generația M₂ (tabelul 3), ușor de recunoscut în fenotipul plantelor, au apărut cu o frecvență variabilă de la un soi la

altul dar, la toate cele patru soiuri studiate, frecvența mutațiilor clorofilene a crescut odată cu creșterea dozelor de iradiere cu raze gamma.

Doza de 5 Kr nu a determinat la nici un soi apariția unui număr semnificativ de astfel de mutații. În schimb, dozele de 10 și 15 Kr au avut ca efect în generația M₂ apariția mai multor plante cu mutații clorofilene, în proporții diferite, în funcție de cultivar.

Tabelul 3

Influența iradierii asupra frecvenței mutațiilor clorofilene, în generația M₂
(la 100 plante M₂)

SOIUL	CAPE	VALJA	GALBENĂ DE MOLDOVA	ATLANTIC
Mt-neiradiat	0,00	0,00	0,02	0,00
5 Kr	2,55	3,98	2,14	3,85
10 Kr	4,38	6,13	4,04	5,40
15 Kr	6,52	10,71	7,78	9,43
DL 5%	3,44	3,32	3,49	4,39
DL 1%	6,31	6,10	6,41	8,06
DL 0,1%	13,99	13,52	14,21	17,85

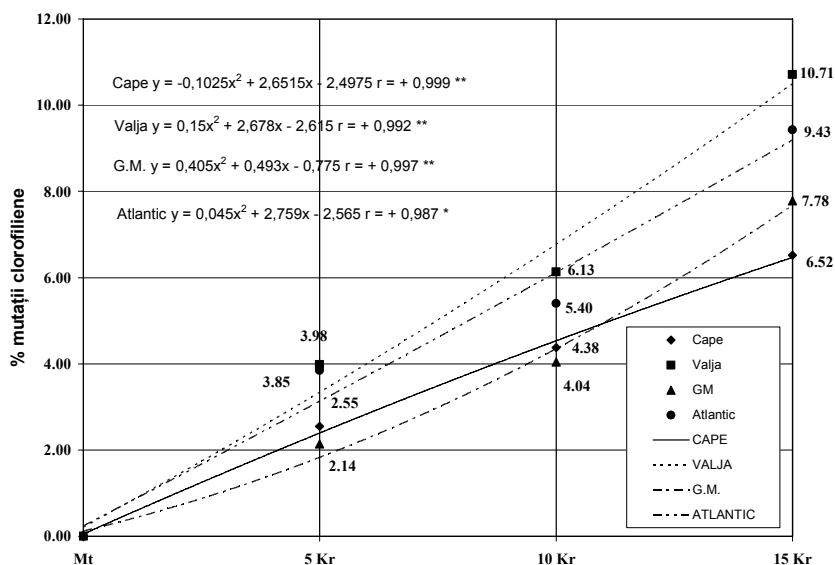


Fig. 3. Influența razelor gamma asupra frecvenței mutațiilor clorofilene în generația M₂

Astfel, cea mai mare frecvență a mutațiilor clorofilene a fost indusă în generația M₂ de dozele de 10 și 15 Kr la populațiile corespunzătoare ale soiului Valja, cu diferențe distinct semnificative, de 6,13%, respectiv 10,71% față de martorul netratat.

La soiurile Cape și Galbenă de Moldova, frecvența mutațiilor clorofilene în populațiile M₂ nu a diferit mult de la un soi la altul, acestea având valori

semnificativ mai mari la doza de 10 Kr (4,38% la soiul Cape și 4,04% la soiul Galbenă de Moldova) și distinct semnificativ mai mari în descendențele M₂ rezultate în urma iradierii cu doza de 15 Kr, cu valori cuprinse între 6,52% la soiul Cape și 7,78% la soiul Galbenă de Moldova.

La soiul Atlantic, deși "modelul" de reacție este asemănător soiurilor Cape și Galbenă de Moldova, frecvența mutațiilor clorofiliene a avut valori ceva mai mari, astfel că, la doza de 15 Kr, s-au înregistrat 9,43% mutații clorofiliene.

Se dovedește, încă o dată, că radiosensibilitatea soiului Valja este ceva mai accentuată decât a celorlaltor trei soiuri experimentate și, indiferent de soi, între frecvența mutațiilor clorofiliene și dozele de iradiere cu raze gamma există o strânsă și directă dependență. La toate cele patru soiuri analizate, au rezultat valori pozitive, distinct semnificative ale coeficienților de corelație (figura 3).

Frecvența mutațiilor pentru caractere alternative în generația M₂

Ca urmare a faptului că majoritatea mutațiilor radioinduse, la speciile autogame, sunt recesive, ele nu pot fi evidențiate fenotipic decât în generația M₂, în urma homozigotării respectivelor gene mutante (Dubinin; 1966; Nicolae, 1978; Ardelean, 1986; Tirdea, 1996).

Iradieria semințelor celor patru soiuri de fasole pentru păstăi oloage a determinat apariția, în populațiile M₂, a unor mutații ale caracterelor calitative ale plantelor, ușor de evidențiat în fenotipul acestora (tabelul 4). Aceste date confirmă rezultatele obținute în experiențe de inducere a mutațiilor la fasolea pentru păstăi, cu radiații X, de Ardelean et al, 2001, Costin-Săudan Lucia, 2000.

Tabelul 4

Influența iradierii asupra frecvenței mutațiilor caracterelor alternative, în generația M₂

Soiul	Nr. total de plante analizate	Plante cu tip de creștere modificat		Plante cu culoarea păstăilor modificată		Plante cu culoarea boabelo modificată		Total plante mutante	
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Cape	3816	2	0,05	2	0,05	1	0,02	5	0,13
Valja	2773	7	0,25	4	0,14	3	0,10	14	0,50
Galbenă de Moldova	3692	5	0,13	1	0,02	-	-	6	0,16
Atlantic	3321	-	-	3	0,09	4	0,12	7	0,21
Total M ₂	13602	14	0,10	10	0,07	8	0,05	32	0,24

Din datele prezentate se poate observa că frecvența mutațiilor pentru principalele caractere calitative a fost de 0,24%, ceea ce înseamnă că folosirea iradierii cu raze gamma la cele patru soiuri de fasole pentru păstăi poate fi o metodă indicată pentru inducerea unui grad mai mare de variabilitate și deci, pentru a crea premiza unei selecții eficiente în populațiile generației M₂.

Caracterul cel mai afectat de mutații a fost tipul de creștere, cu o frecvență a mutantelor cu creștere volubilă de 0,10%, urmat de culoarea modificată a păstăilor (0,07% din întreaga populație M₂).

În ceea ce privește frecvența totală a plantelor mutante pentru caracterele calitative, pentru fiecare soi în parte, se poate observa că soiul Valja se caracterizează printr-o valoare net superioară a frecvenței mutațiilor (0,50%), față de celelalte trei soiuri. Un grad de mutabilitate intermediar s-a înregistrat la soiurile Atlantic (0,21%) și Galbenă de Moldova (0,16%), iar cea mai mică frecvență a mutațiilor pentru caractere calitative s-a înregistrat la soiul Cape. Datele prezentate reliefează dependența frecvenței mutațiilor caracterelor alternative de radiosensibilitatea soiurilor experimentate.

Plantele mutante pentru caractere calitative nu s-au remarcat prin valori superioare ale caracterelor cantitative de interes în determinarea productivității. Acestea au fost reținute și urmărite în generația M_3 , fiind apreciate și studiate îndeosebi pentru valoarea lor teoretică, în scopul identificării determinismului genetic – dominant sau recesiv, al caracterelor afectate.

CONCLUZII

1. Gradul de răsărire al plantelor în câmp a fost corelat negativ cu mărirea dozelor de iradiere cu raze gamma, cele patru soiuri având o reacție destul de uniformă la iradiere. Astfel, procentul plantelor răsărite s-a micșorat nesemnificativ la doza de 5 Kr, semnificativ la doza de 10 Kr, iar doza maximă de iradiere a determinat o reducere distinct semnificativă a gradului de răsărire al plantelor în câmp, cu până la 18,3%.

2. Ca urmare a homozigotării unor gene mutante letale sau semiletale, numărul plantelor ajunse la maturitate în generația M_2 a scăzut la toate cele patru soiuri, în strânsă corelație cu mărirea dozelor de iradiere aplicate semințelor M_0 .

4. Mutațiile clorofilene, în generația M_2 , ușor de recunoscut în fenotipul plantelor, au apărut cu o frecvență variabilă de la un soi la altul dar, la toate cele patru soiuri studiate, frecvența mutațiilor clorofilene a manifestat o strânsă și directă dependență față de creșterea dozelor de tratamente cu radiații gamma.

5. În populațiile M_2 ale celor patru soiuri s-au identificat și mutații ale unor caractere calitative, respectiv plante cu tendință de creștere nedeterminată, plante cu culoarea păstăilor modificată și plante cu boabe de altă culoare decât cea inițială.

6. Frecvența mutațiilor, pentru caracterele calitative menționate, de 0,24% pe întreg ansamblul generației M_2 , indică faptul că folosirea iradierii cu radiații gamma la cele patru soiuri de fasole pentru păstăi cu creștere determinată poate fi o metodă indicată pentru inducerea unui grad ridicat de variabilitate al unor astfel de caractere și pentru a crea premiza unei selecții eficiente în populațiile generației M_2 .

7. Caracterul calitativ cel mai afectat de mutații a fost tipul de creștere al plantei (0,10%), urmat de culoarea modificată a păstăilor (0,07%), soiurile cu păstăi verzi suferind mutații ale culorii păstăilor într-o măsură mult mai mare față de soiul Galbenă de Moldova, la care s-a identificat doar o plantă cu păstăi de culoare verde.

BIBLIOGRAFIE

1. **Aastveit, K., 1968** - *Effects of combinations of mutagens on mutation frequency in barley*, In: Mutation in Plant Breeding, II, A.I.E.A. Vienna.
2. **Ardelean, M., 1986** - *Ameliorarea plantelor horticole*, Curs, Tipo. Agronomia, Cluj-Napoca.
3. **Ardelean, M., 1994** - *Ameliorarea plantelor horticole*, Îndrumător de lucrări practice, Tipo. Agronomia, Cluj-Napoca.
4. **Ardelean, M., Săudan, Lucia, Savatti, M., Botez, C., Sestraș, R., Cordea, Mirela, 2001** - *Experimental Results on Induced Mutagenesis in Pod Beans*, Bul. USAMV Cluj-Napoca, Seria Hort., Vol.55-56, p. 44-49.
5. **Biserka, Ilieva-Staneva, 1970** - *Investigation of the influence of the gamma rays on the dry beans Phaseolus vulgaris L.*, Ann. Rpt. Bean Improv. Coop. 17, p. 354-367.
6. **Costin-Săudan, Lucia, 2000**, *Inducerea variabilității genotipice și fenotipice la fasolea pentru păstăi cu ajutorul mutagenilor fizici*. Teză de doctorat, U.S.A.M.V. Cluj-Napoca.
7. **Dubin, N.P., 1966** - *Genetica moleculară și acțiunea radiațiilor asupra eredității*, Ed. Științifică, București.
8. **Gane, H., 1966** - *Studies on populations of micromutants in barley and wheat without and with selection*, Induced mutation and their utilisation, Euphytica, I, p. 275-289.
9. **Nicolae, I., 1978** - *Mutageniza experimentală*, Ed. Ceres, București.
10. **Leonte, C., 1996** - *Ameliorarea plantelor horticole, Probleme generale*. Ed. Didactică și Pedagogică, București.
11. **Săulescu N.A., Săulescu N.N., 1967** – *Câmpul de experiență*, Ed. Agrosilvică, București.
12. **Simioniu, Violeta, Leonte, C., 2002** - *Studiul unor caractere cantitative la câteva cultivare de fasole de grădină (Phaseolus vulgaris L. var. nanus) în generația M₂*, Lucr. științifice, U.S.A.M.V. Iași, CD-ROM, ISSN 1454-7414, Seria Agricultură.
13. **Simioniu Violeta, 2004** – *Contribuții la crearea de noi genotipuri la fasolea pentru păstăi cu creștere determinată (Phaseolus vulgaris L.) prin mutageneză*, Teză de doctorat, U.S.A.M.V. Cluj-Napoca.
14. **Țirdea, GH., 1984** - *Contribuții la crearea unor linii noi de linte (Lens esculenta Moench.) prin folosirea agenților mutageni*, Teză de doctorat, Institutul Agronomic Iași.
15. **Țirdea, GH., 1996** – *Genetică*, Curs litografiat, U.A.M.V. Iași.