

## **EXPRESIA FENOTIPICĂ A UNOR GENE DE VERNALIZARE ÎNTR-O POPULAȚIE DE ORZ ÎN GENERAȚIA F<sub>2</sub>, REALIZATĂ PRIN HIBRIDARE ÎNTRE FORME CONTRASTANTE**

**VRN FENOTIPIC EXPRESION GENES IN A F<sub>2</sub> BARLEY POPULATION, OBTAINED BY CROSSING BETWEEN TWO DIFFERENT GENOTIPES**

LILIANA VASILESCU<sup>1</sup>, EUGEN PETCU,  
ALEXANDRU BUDE, ELIANA ALIONTE

### **Abstract**

The three growth habit types of barley are determined by vernalization gene. The winter, facultative and spring growth habit types can be defined based on their allele composition at two vernalization loci. The genetic basis of vernalization can be described by three-locus model, but only two of them are involved in the genetics of vernalization in the cultivated germplasm (*VRN-H1* and *VRN-H2*; von Zitzewitz et al., 2005).

The main purpose of this paper were to determine vernalisation sensitivity in a F<sub>2</sub> population, obtained from a cross between two genotypes carriers of different VRN allele.

Final leaf number is time consuming comparing heading date, but it is a good method for estimate vernalisation requirement.

The obtained results regarding the inheritance of vernalisation can be used for further research in order to create facultative barley genotypes but resistant to winter hardiness.

**Key word:** *VRN* genes, phenotyping, vernalisation, population, final leaf number, heading data, frequency.

**Cuvinte cheie:** gene *VRN*, fenotipare, vernalizare, populație, număr final de frunze, data înspicatului, frecvență.

### **INTRODUCERE**

Pentru anul agricol 2016-2017 se estimează că producția de orz pe plan mondial va atinge nivelul de 140 milioane tone metrice (Ibrahim et al., 2016) la peste 50 milioane ha cultivate, ceea ce înseamnă un impact economic ridicat și totodată cu implicații directe asupra cererii de orz pentru hrană, alimentație și malț (Consiliul Internațional al Cerealelor, 2015).

Producția de orz este întotdeauna influențată de condițiile climatice variabile, de aceea este important ca soiurile de orz să se caracterizeze prin adaptabilitate în diverse condiții de cultivare.

---

<sup>1</sup> Institutul Național de Cercetare Dezvoltare Agricolă Fundulea. E-mail: liliana@ricic.ro

La orz, diferitele stadii de dezvoltare și durata acestora pot influența în mod definitiv producția și calitatea acesteia, pentru că acestea sunt determinate genetic, de mediu și de managementul folosit.

Factorii de mediu importanți care influențează creșterea și dezvoltarea sunt reprezentați de temperatură și fotoperioadă (M c M a s t e r et al., 2003).

Pentru a trece de la perioada vegetativă la cea reproductivă, orzul de toamnă are cerințe de expunere la temperaturi scăzute pentru o perioadă de 4-6 săptămâni, în timp ce orzul de primăvară are cerințe minimale față de temperatură și nu este sensibil în ceea ce privește fotoperioada.

Până în prezent s-a observat că cerințele de vernalizare variază între genotipuri (F r a n c i a et al., 2004). Vernalizarea este controlată de trei gene majore: *VRN-H1* (localizată pe brațul lung al cromozomului 5H; K a r s a i et al., 2005), *VRN-H2* (localizată pe cromozomul 4H) și *VRN-H3* (localizată pe cromozomul 1H), care interacționează epistatic și determină cerințele de vernalizare ale orzului (S z ü c s et al., 2007).

Clasificarea tipului de creștere la orz (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*) este bazată pe cerințele de vernalizare și este divizată în trei: de toamnă, facultativ și de primăvară (K a r s a i et al., 2001).

În vederea determinării cerințelor de vernalizare cea mai simplă fenotipare constă în observații asupra datei înspicături (K a r s a i și colab., 2005) și a numărului final de frunze de pe tulpina principală (F o w l e r et al., 2006).

Obiectivul acestei lucrări a fost determinarea numărului final de frunze și data înspicături într-o populație  $F_2$  obținută în urma încrucișării a doi părinți cu alele *VRN* diferite (facultativ x toamnă), genotipați anterior ca purtători ai genelor *VRN1* și *VRN2* și evaluate pentru numărul de frunze (NFF) și data înspicături (DÎ).

## MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

Au fost selectate două genotipuri de orz cu șase rânduri de boabe în spic pentru a evalua diferențele date de expresia genelor de vernalizare ca răspuns la temperatură.

Încrucișarea a fost realizată între materiale biologice homozigote (create la I.N.C.D.A. Fundulea), soiul Smarald (soi facultativ) și o linie tipică de toamnă, cu o rezistență bună la iernare (F 8-3-01).

Părinții selectați au fost anterior studiați în condiții de vernalizare și nevernalizare. Atât părinții, cât și populația rezultată, au fost fenotipate pentru numărul final de frunze (NFF), data înspicături (DÎ) și înălțimea plantei (ÎP) în condiții de seră și fără vernalizare.

Semințele generației  $F_2$  au fost transplantate în ghivece în stadiul de 1 frunză.

În seră cele 93 de plante și părinții au fost expuse la o temperatură de  $20\pm 2^\circ\text{C}$  și cu lumină suplimentară (16 ore de lumină/8 ore întuneric), fără vernalizare. Numărul final de frunze a fost determinat ca numărul de frunze de pe tulpina principală iar data înspicături, ca numărul de zile de la semănat la apariția aristelor.

Experiența a fost încheiată la 100 de zile după semănat iar plantele care nu au înspicat au primit valoarea de 100 zile ca număr de zile de la semănat la înspicat.

Fenotiparea a fost evaluată cu ajutorul distribuțiilor frecvenței fenotipice și a corelațiilor.

Scopul cercetării este de a estima cerințele de vernalizare prin determinarea numărului final de frunze și a datei înspicatului pe baza unui material inițial nou creat, între genotipuri cu alele VRN diferite.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

A fost analizat răspunsul la vernalizare și expresia genelor în cadrul unei populații F<sub>2</sub>. Genele VRN pentru tipul de creștere al orzului sunt prezentate în tabelul 1. Pentru realizarea comparației, sunt prezentate numărul final de frunze (tabelul 2), tipul de creștere și combinația alelică pentru părinți (vernalizat și nevernalizat) și rezultatele în ceea ce privește numărul final de frunze și numărul de zile de la semănat la înspicat (părinți și F<sub>2</sub>) obținute în seră, în condiții de nevernalizare (tabelul 3).

În urma segregării, s-a observat că liniile ce aparțin tipului de creștere facultativ au prezentat o tranziție rapidă de la faza vegetativă la cea generativă iar cele de toamnă au rămas în stadiul vegetativ (cu un număr total de frați foarte ridicat dar infertili). În generația F<sub>2</sub> au fost plante care au înregistrat valori ale numărului final de frunze mai redus (șase frunze), egal (opt frunze) sau mai ridicat (nouă frunze) prin comparație cu părintele de tip facultativ (șapte frunze) (figura 1).

Din totalul de 93 de plante F<sub>2</sub> analizate, un număr de 27 au înspicat după numai 49 zile de la semănat până în ziua 64 (figura 2), iar restul de 66 de plante rămânând în stadiul vegetativ (caracterizate de un număr mare de frați, dar sterili). Adicional a fost determinată și înălțimea plantelor, aceasta corelându-se semnificativ negativ cu data înspicatului ( $r=-0,39^*$ )

Corelația dintre numărul final de frunze și înălțimea plantei (tabelul 4) a fost distinct semnificativă, de  $r=0,53^{**}$ .

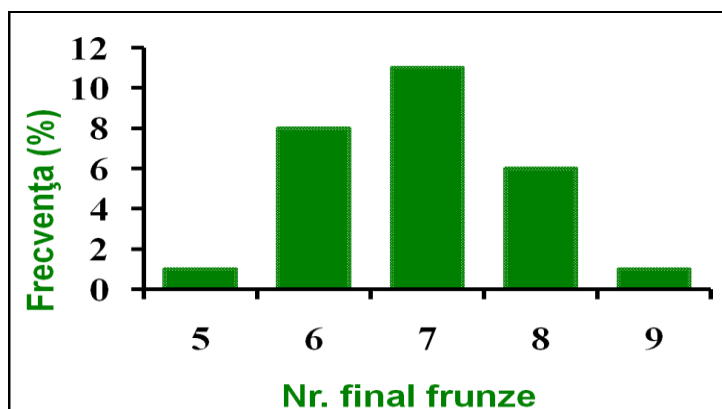


Figura 1 – Frecvența distribuției pentru numărul de frunze al plantelor F<sub>2</sub> din populația Smarald x F 8-3-01  
(Frequency of distribution for leaf number of F<sub>2</sub> - derived Smarald x F 8-3-01 population)

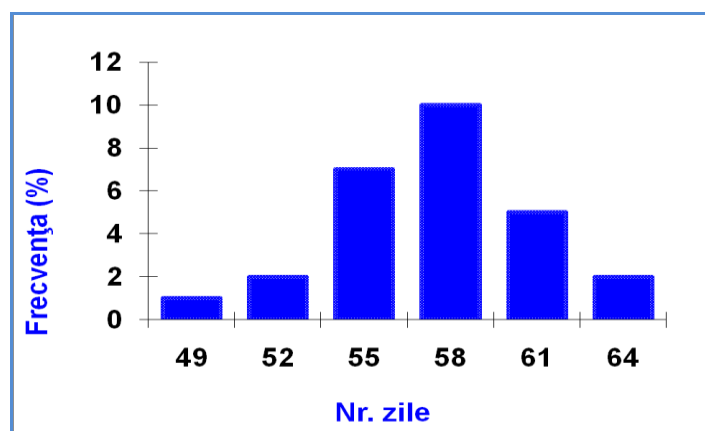


Figura 2 – Frecvența distribuției pentru numărul de zile de la semănat la înspicac al plantelor F<sub>2</sub> din populația Smarald x F 8-3-01  
(Frequency of distribution for days number from sowing to heading of F<sub>2</sub>- derived Smarald x F 8-3-01 population)

Tabelul 1

**Genele VRN pentru tipurile de orz de toamnă, facultativ și de primăvară (homozigote)**  
[VRN genes for winter, facultative and spring barley types (homozigous)]

Fenotip	Genotip
Toamnă	<i>vrn-H1vrn-H1Vrn-H2Vrn-H2</i>
Facultativ	<i>vrn-H1vrn-H1vrn-H2vrn-H2</i>
Primăvară	<i>Vrn-H1Vrn-H1Vrn-H2Vrn-H2</i> <i>Vrn-H1Vrn-H1vrn-H2vrn-H2</i>

Sursa: Lauren Osborn, PhD thesis, 2007. Barley Genetics as a Model for International Collaborative Research, Oregon State University

Tabelul 2

**Numărul final de frunze, tipul de creștere și combinația alelică pentru părinți în cele două tratamente, vernalizați și nevernalizați**  
(Final leaves number, growth type and allelic combination for parents in the two treatments, under vernalization and no-vernalization)

Genotip (vernalizat – 42 zile)	Număr final frunze	Tip de creștere	Alele VRN-H1VRN-H2
Smarald (P1)	6,33±0,5	Facultativ	v1v1v2v2
F 8-3-01 (P2)	6,13±0,9	Toamnă	v1v1V2V2
Genotip (nevernalizat)	Număr final frunze	Tip de creștere	Alele VRN-H1VRN-H2
Smarald (P1)	6,73±0,9	Facultativ	v1v1v2v2
F 8-3-01 (P2)	-	Toamnă	v1v1V2V2

Tabelul 3

Numărul final de frunze și numărul de zile de la semănat la înspicat  
la părinți și populația F<sub>2</sub> în condiții de nevernalizare  
(Final leaves number and days from sowing to heading at parents and F<sub>2</sub> population, under  
no-vernalization conditions)

Genotip	Număr final de frunze (media)	Nr. zile de la semănat la înspicat
Nevernalizat (experiență în seră)		
Smarald (P1)	6,67±0,6	55,0±1,53
F 8-3-01 (P2)	-	-
Smarald / F 8-3-01 (F <sub>2</sub> )	6,93±0,9	56,4±3,4

Tabelul 4

Raportul de corelație între caracterele studiate  
(Correlation ratio between features under study)

Caractere	Număr final de frunze	Data înspicului	Înălțimea plantei
Număr final de frunze (NFF)	1,00		
Data înspicului (DÎ)	0,08	1,00	
Înălțimea plantei (Î)	0,53**	-0,39*	1,00

Semnificativ pentru P=5%.

## CONCLUZII

Datele determinate prin compararea distribuției frecvenței fenotipice, referitoare la numărul final de frunze și data înspicului, sunt aproximativ similare.

Ambele metode pot fi utilizate cu succes în determinarea fenotipului cu cerințe de vernalizare, în condiții de climat controlat.

Rezultatele obținute pot fi utilizate ca bază pentru cercetările ulterioare în ceea ce privește rolul genelor de vernalizare și celelalte componente care definesc tipul de dezvoltare.

Utilizarea materialului inițial, cu fenologie relevantă pentru a înțelege genetica transmiterii genelor de vernalizare, va conduce implicit la stabilitatea cantitativă și calitativă a producției de orz.

## REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- IBRAHIM, A., HARRISON, M., MEINKE, H. AND ZHOU, M., 2016 – *Barley Phenology: Physiological and Molecular Mechanisms for Heading Date and Modelling of Genotype*. Environment-Management Interactions, p. 175-202, <http://dx.doi.org/10.5772/64827>
- IGC, 2003 – *Five-year global supply and demand projections*. International Grain Council Report, [http://www.igc.int/en/downloads/grainsupdate/IGC\\_5yearprojections2015.pdf](http://www.igc.int/en/downloads/grainsupdate/IGC_5yearprojections2015.pdf), 2015.
- MCMMASTER, G., WILHELM, W., 2003 – *Phenological responses of wheat and barley to water and temperature: improving simulation models*. The Journal of Agricultural Science, 2003. 141(02): 129-147.

- FRANCIA, E., RIZZA, F., CATTIVELLI, L., STANCA, A., GALIBA, G. TOTH, B., HAYES, P., SKINNER, J., PECCHIONI, J., 2004 – *Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure'(winter)×'Tremoisi'(spring) barley map.* Theoretical and Applied Genetics, 108:670-680
- KARSAI, I., SZUCS, P., MÉSZÁROS, K., FILICHKINA, T., HAYES, P., SKINNER, J., LÁNG, L., BEDO, Z., 2005 – *The Vrn-H2 locus is a major determinant of flowering time in a facultative× winter growth habit barley (Hordeum vulgare L.) mapping population.* Theoretical and Applied Genetics, 110(8): 1458-1466; 108(4): 670-680.
- KARSAI, I., MÉSZÁROS, K., LÁNG, L., HAYES, P.M. AND BEDO, Z., 2001 – *Multivariate analysis of traits determining adaptation in cultivated barley.* Plant Breed, 120: 217-222.
- FOWLER, B.D., LIMIN, A., HAYES, P.M., COREY, A.E., 2006 – *Low temperature acclimation of barley cultivars used as parents in mapping populations: response to photoperiod, vernalization and phenological development.* Planta, 226: 139-146
- SZÜCS, P., SKINNER, J., KARSAI, I., CUESTA-MARCOS, A., HAGGARD, K.G., COREY, A.E., 2007 – *Validation of the VRN-H2/VRN-H1 epistatic model in barley reveals that intron length variation in VRN-H1 may account for a continuum of vernalization sensitivity.* Mol. Genet. Genomics, 277: 249-261.
- Von ZITZEWITZ, J.P., DUBCOVSKY, J., YAN, L., FRANCIA, E., PECCHIONI, N., CASAS, A., CHEN, T.H.H., HAYES, P.M., SKINNER, J., 2005 – *Structural and functional characterization of barley vernalization gene.* Plant Mol. Bio., 59: 449-467.

Prezentată Comitetului de redacție la 25 octombrie 2017