

DETERMINĂRI DE SUPRAFAȚĂ FOLIARĂ PENTRU FRUNZA STEAG LA UN SET DE LINII DH MUTANTE DE GRÂU^{1*}

SURFACE DETERMINATIONS OF FLAG LEAF FOR A SET OF MUTANT DH WHEAT LINES

STELIANA PAULA DOBRE¹ ȘI CĂTĂLIN LAZĂR¹

Abstract

Due to its positions and functional life span, the flag leaf contribution for grain filling of winter wheat is very important. The variability of leaf form in the mutant wheat lines may be very high and the previous biometric relationships for estimating leaf area based on its length and width need a check for each mutant set. The study of this relationship for a set of 53 double haploid (DH) recombinant mutant lines chosen previously from 544 DH lines is a contribution to a larger effort for characterization of this germplasm.

Leaf area, length and width of flag leaves were determined with the Quick PHOTO MICRO 2.3 software for the scanned images of the flag leaves from 53 DH lines and the initial genotypes. The average scanned leaf area varied between 15 and 36 cm². Three mutant lines presented a larger leaf area than the parental cultivars. The average conversion coefficient calculated for each line was 0.733, but it varied among tested genotypes from 0.688 to 0.781. In case of nine genotypes the application of the coefficient of 0.75 resulted in errors for leaf area larger than 5%.

Key words: Leaf area measurement, flag leaf, double haploid, mutant lines, wheat, *Triticum aestivum* L.

Cuvinte cheie: măsurarea suprafeței foliare, frunză steag, dublu haploizi, linii mutante, grâu, *Triticum aestivum* L.

INTRODUCERE

Datorită poziției sale, foarte apropiate de spic și la suprafața lanului, frunza steag poate intercepta o cantitate considerabilă de energie luminoasă pe care o transformă în hidrați de carbon care vor fi translocați către boabe.

Studiul de față este un component al eforturilor de caracterizare a unui set de linii dublu haploide în vederea folosirii lor în activitatea de ameliorare a grâului și în studiile de fiziologia formării recoltelor.

^{1*}Materialul biologic studiat a fost obținut în cadrul Proiectului de Cooperare Regională RER 5/0/13/ (Coordonare AIEA Viena)

(Mutant biological materials were obtained under PER/05/0/13 (IAEA Vienna coordination))

¹I.N.C.D.A. Fundulea, e-mail: steliana_paula@yahoo.com; lazar_catalin@yahoo.co.uk

Voldeng și Simpson (1967) au arătat că suprafața foliară la grâu este un indicator al productivității, iar frunza steag, fiind cea mai importantă frunză a plantei, poate avea rol semnificativ. Cercetări anterioare efectuate în cadrul I.N.C.D.A. Fundulea au descris relațiile dintre mărirea suprafeței foliare, rata asimilației nete la soiurile de grâu cultivate în România (Petcu și colab., 2007).

Estimarea suprafeței foliare deși insuficientă ca valoare izolată este indispensabilă pentru modelarea evapotranspirației și fotosintezei în perioada de maxim impact al acestor procese. Bremner (1967) a remarcat o scădere a producției de grâu după înlăturarea frunzei steag. Frunza steag are o importanță majoră în viața plantei deoarece contribuie cu aproximativ 75-80% la cantitatea totală de fotoasimilate, cu 75% în procesul de umplere a bobului, cu 41-43% în conținutul de substanță uscată din bob la maturitate, astfel având un rol esențial în productivitatea totală a plantei (Athwal, 1968; Berdhal și colab., 1972; Ibrahim și Elenin, 1977; Liu și colab., 2009). Acest aspect necesită o atenție specială în cazul unor linii complet homozigote, dublu haploide la care variabilitatea genetică inițială a fost indusă prin recombinare și mutagenză artificială.

Montgomery (1911, citat de Chanda și Singh, 2002) a demonstrat că suprafața foliară (A) poate fi estimată cu ajutorul următoarei formule generale:

$$A = k * L * w$$

unde: k – coeficient;

L – lungimea frunzei;

w – lățimea maximă a frunzei.

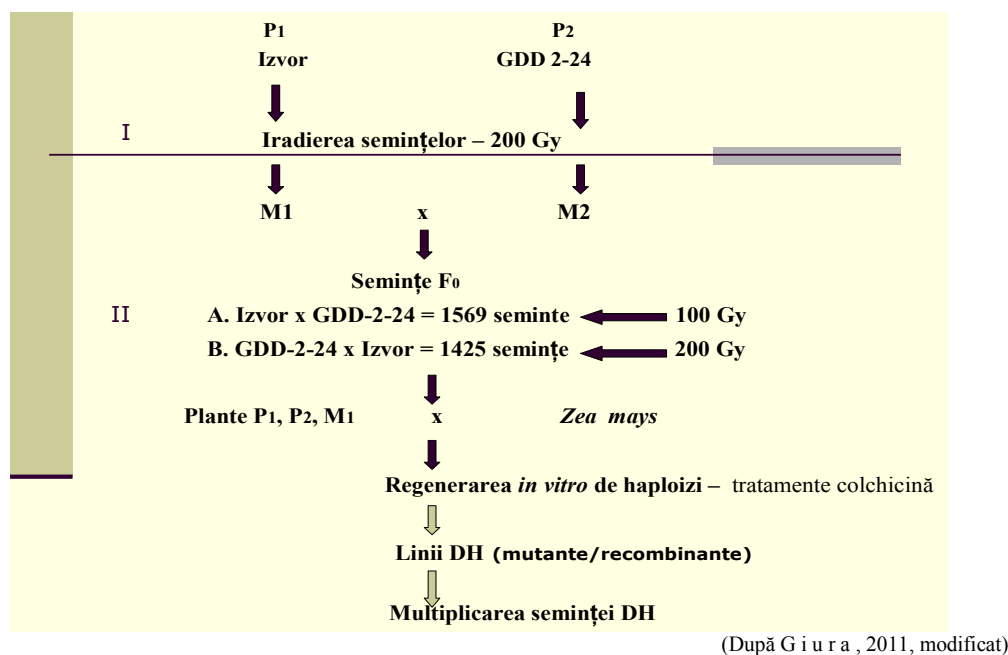
Astfel de modele liniare de estimare a suprafețelor foliare au propuse ulterior la diferite specii (Cristofori și colab., 2008; Pandey și Singh, 2011)

În prezent există pe piața de aparatură științifică mai multe dispozitive care permit estimarea suprafețelor foliare pe frunze individuale (detașate sau nu), însă studiul de față a vizat o soluție mai economică bazată pe un soft deja existent pentru prelucrări de imagini dar utilizat pentru studii de microscopie optică.

MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

Procesul de obținere a liniilor DH mutante folosite în prezentul studiu este prezentat în figura 1. Semințe ale soiului Izvor și ale liniei de ameliorare F00628G-34 (codificată GDD 2-24), câte 50 g fiecare, au fost iradiate cu raze gamma (γ ^{60}Co): 200 Gy pentru fiecare genotip. Plantele obținute (generația M₁) au fost încrucișate direct și reciproc iar semințele rezultate au fost supuse unui nou ciclu de iradiere cu 100 Gy și respectiv 200 Gy. Iradierea semințelor s-a realizat în Centrul de la Seibersdorf AIEA Viena. Semințele iradiate din ambele cicluri au fost germinate în condiții de laborator alături de semințele neiradiate ale celor doi genitori. După parcurgerea stadiului de vernalizare, plantele au fost cultivate în seră, alături de plantele de porumb, acestea din urmă în calitate de parteneri la polenizarea grâului. Etapele ulterioare, respectiv lucrările de hibridare grâu x porumb, aplicarea *in vivo* de fitohormoni, cultivarea *in vitro* de embrioni, regenerarea haploizilor etc., s-au desfășurat conform protocolului folosit în mod curent pentru obținerea de linii DH la grâu (Gura, 1993).

De menționat că genotipurile supuse tratamentelor mutagene sunt reprezentative pentru genofondul creat recent la I.N.C.D.A. Fundulea. Soiul Izvor are pe cromozomul 7A gena de osmoreglare „*or*” (Bănică și colab., 2007, 2008), este rezistent la secetă și se remarcă prin producții ridicate în anii secetoși (Mustăța și colab., 2009). Linia F00628G-34 este rezistentă la încolțirea boabelor în spic, este rezistentă la cădere și are o bună rezistență la unele boli foliare: fainare, mălura comună și septorioză. Linia are în genom translocația 1A/1R, brațul de seară purtând printre altele și genele de rezistență menționate.



(După G i u r a , 2011, modificat)

Figura 1 – Schema de obținere a liniilor recombinante/mutante DH de grâu
(The scheme for obtaining mutant/recombinant)

Cele 53 linii mutante/recombinante analizate, alături de genotipurile parentale, au fost semănate în condiții de câmp în toamna 2012, în perechi de rânduri lungi de 100 cm, cu 20 semințe pe rând și distanțe de 25 cm între rânduri și 50 cm între perechile de rânduri. În primăvara 2013, după înspicăt, un număr de 4-5 frunze steag de la fiecare linie și de la formele parentale au fost fixate cu bandă adezivă pe coli albe pe care erau imprimate segmente de drepte perpendiculare și pătrate de dimensiuni cunoscute și au fost scanate cu un scanner „flatbed” de la o imprimantă multifuncțională. Din imaginile obținute cu ajutorul programului Quick PHOTO MICRO 2.3 folosit pentru microscopie optică au fost determinate lungimile și lățimile frunzelor precum și suprafețele foliare și dimensiunile elementelor de etalonare. Datele obținute au fost prelucrate în Excel. Prin împărțirea

produsului lungimii și lățimii la suprafața măsurată s-a aflat coeficientul k pentru fiecare frunză și genotip în parte.

Pentru a pune în evidență variațiile anuale, suprafețele foliare obținute în 2013 au fost comparate cu valorile obținute în anul 2011 (valori calculate pe baza măsurătorilor de lungime și lățime pentru frunzele steag de la aceleași genotipuri).

Pentru calcularea valorilor procentuale ale erorii induse de folosirea coeficientului de 0,75 pentru conversia produsului lungimii și lățimii frunzei, diferența dintre valoarea măsurată și cea calculată cu ajutorul coeficientului fix înmulțită cu 100 a fost împărțită la valoarea măsurată.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Prelucrarea elementelor de calibrare a permis calcularea unui coeficient de conversie în milimetri a lungimilor măsurate și a suprafețelor în milimetri pătrați. Eroarea de măsurare pentru lungimile etalon a fost de aproximativ un milimetru (indiferent de dimensiunea segmentelor și orientarea lor în plan). Eroarea pentru suprafețele etalon nu a depășit 1,5% chiar și atunci când selectarea punctelor de încadrare pe ecran s-a făcut în ritm alert.

Coeficientul de corelație neasigurat statistic pentru relația dintre lungime și lățime indică necesitatea de a lua în calcul ambele dimensiuni (figura 2).

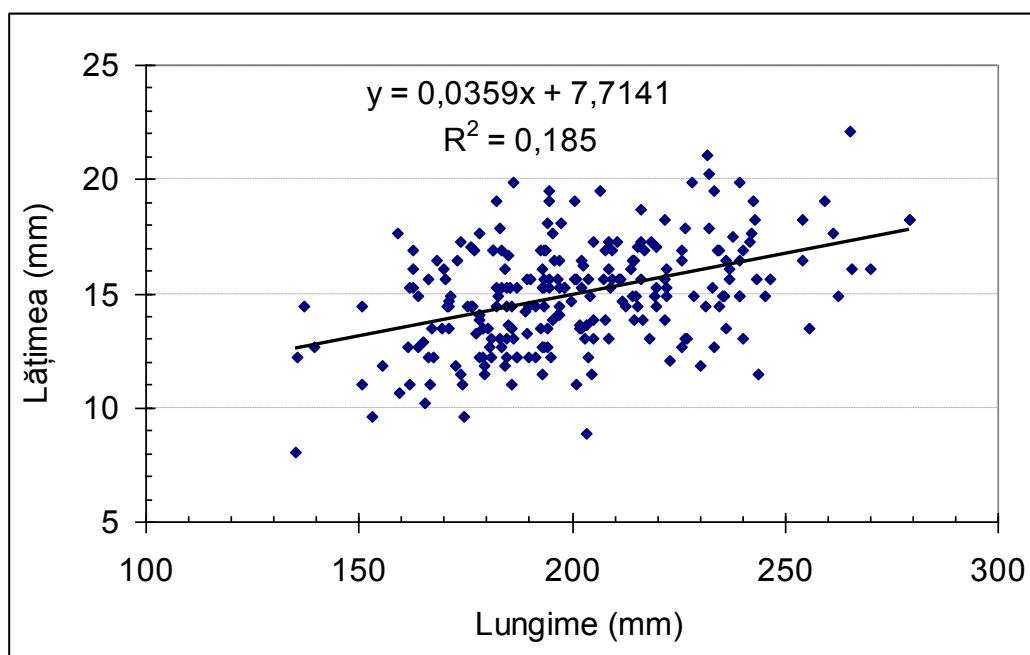


Figura 2 – Relația dintre lungimea și lățimea frunzei steag
(The relationship between length and width of flag leaf)

Deși categoria suprafețelor foliare de (21-24 cm²) a fost cel mai bine reprezentată, 24 de linii au avut suprafețe foliare mai reduse decât linia inițială F00628G-34 (codificată GDD 2-24) iar 3 linii au avut frunze steag mai mari decât soiul Izvor (figura 3). Suprafețele medii ale frunzelor steag au variat între 15 și 36 cm².

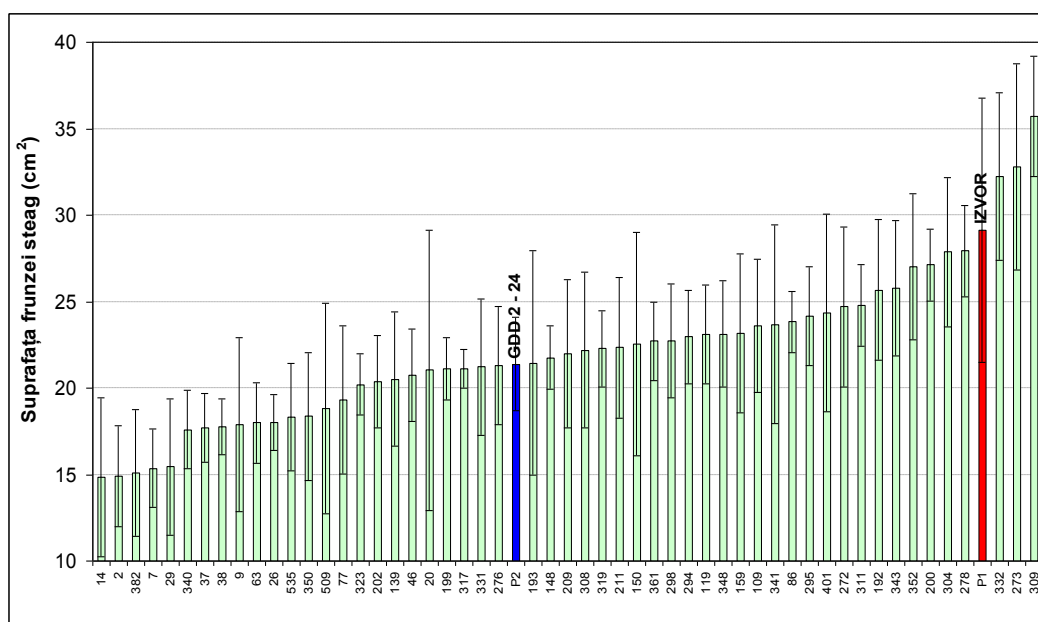


Figura 3 – Variația suprafeței medii a frunzei steag la genotipurile studiate în 2013
(Changes in average surface of the flag leaf from the genotypes studied in 2013)

Comparând rezultatele din 2013 cu cele din 2011 (figura 4), se remarcă valorile mai scăzute ale suprafețelor foliare măsurate în anul 2013, dar există o corelație distinct semnificativă între cele două șiruri de valori iar cele trei linii mutante care au depășit soiul Izvor la acest indicator în 2013 au avut valori apropiate de cele din 2011.

Diferențele dintre suprafețele foliare ale frunzelor steag măsurate în cei doi ani au provenit în principal din modificarea lungimii acestor frunze (figura 5). Maximul histogramei lungimii frunzelor pentru măsurătorile din 2013 a corespuns clasei de 19-19,5 cm² față de anul 2011, când numărul maxim de genotipuri s-au încadrat în clasa 23-23,5 cm². Variația suprafeței liniei inițiale F00628G-34 (codificată GDD 2-24) a urmat această tendință de scădere în timp ce valorile pentru soiul Izvor au fost relativ constante. Determinismul variațiilor interanuale ale suprafețelor foliare reprezintă un subiect de cercetare încă deschis pentru elucidarea căruia sunt necesare noi investigații (Breda, 2003).

Un număr de 22 de genotipuri studiate în 2013 au avut o suprafață medie a frunzei steag care s-a încadrat în clasa 21-24 cm², aceasta fiind clasa preponderentă pentru anul respectiv (figura 6).

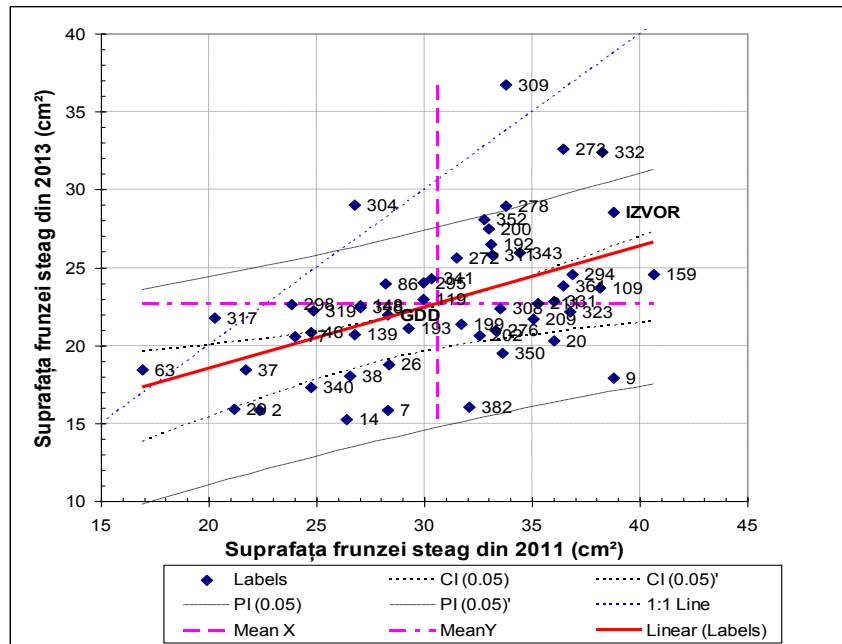


Figura 4 – Relația dintre suprafețele medii ale frunzei din 2011 și 2013
(The relationship between averages of leaf surface from 2011 and 2013)

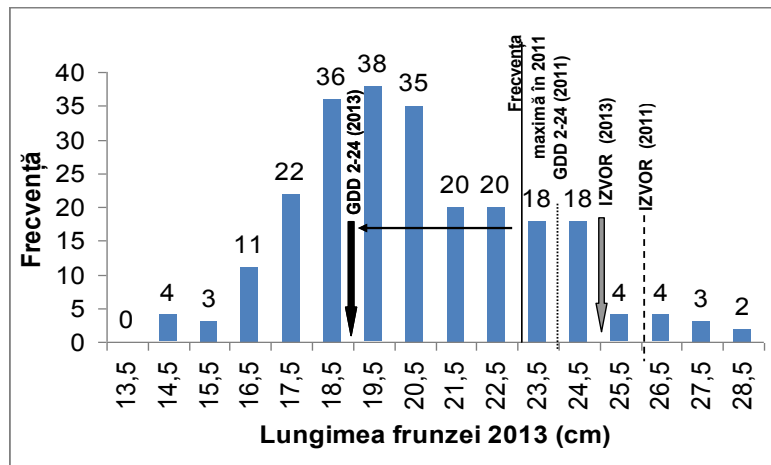


Figura 5 – Histograma lungimii medii (în cm) a frunzei steag pentru anul 2013
(linia verticală continuă indică frecvența maximă pentru anul 2011, săgeata neagră indică lungimea frunzei steag pentru linia parentală F00628G-34, codificată GDD 2-24, a cărei valoare pentru 2011 este indicată prin linie punctată, săgeata gri și linia întreruptă corespund valorilor pentru soiul Izvor din 2013 și respectiv din 2011)

(The histogram of average length, in cm, of the flag leaf for year 2013; the continuous vertical line shows the maximum frequency for the year 2011, black arrow indicates the 2013 length of flag leaf for F00628G-34 parental line, encoded “GDD 2-24”, whose value for the year 2011 is indicated by the dotted line, the gray arrow and the dashed line correspond to the variety Izvor, in 2013 and 2011 respectively)

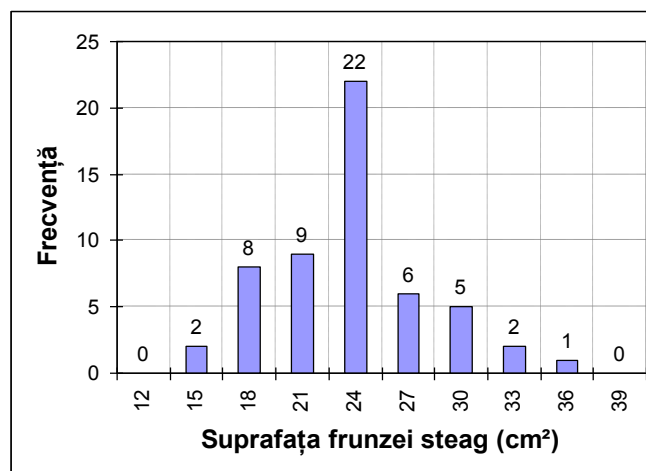


Figura 6 – Histograma suprafeței medii ale frunzei steag pentru anul 2013
(The histogram of average area of flag leaf for year 2013)

Analizând histograma coeficienților k obținuți prin calcul pentru fiecare frunză steag analizată (figura 7), se observă că numărul maxim de cazuri (58) corespund clasei (0,71-0,73) dar clasa (0,73-0,75), în care se încadrează coeficientul uzual $k=0,75$, a avut o mărime foarte apropiată (57 de cazuri), astfel încât se poate pune întrebarea dacă este justificată calcularea acestui coeficient pentru fiecare genotip în parte. Răspunsul la această întrebare depinde de gradul de precizie dorit.

Pe de altă parte, histograma coeficienților k obținuți prin calcul pentru fiecare genotip (figura 8), cu intervale de clasă mai reduse sugerează o distribuție bimodală a valorilor dar care corespunde claselor maximale găsite în histograma anterioară.

Din analiza relațiilor dintre suprafața foliară măsurată și erorile datorate folosirii coeficientului unic de 0,75 se observă că distribuția erorilor este independentă de mărimea suprafeței foliare și că pentru un număr de nouă linii DH valoarea măsurată a suprafeței medii a frunzei steag este cu 5% mai mică decât valoarea rezultată din utilizarea unui coeficient de conversie de 0,75 (figura 9). Dacă se dorește totuși folosirea unui coeficient unic de conversie, pentru acest set de linii se recomandă folosirea unei valori de 0,733.

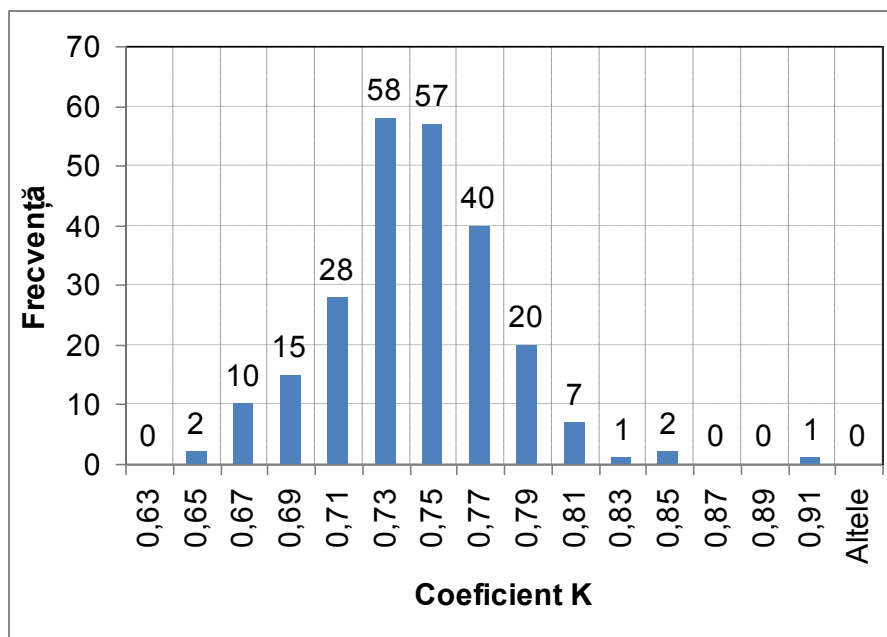


Figura 7 – Histograma coeficienților k pentru anul 2013 (valori calculate pentru fiecare frunză)
(The histogram of k coefficients for 2013; values calculated for each leaf)

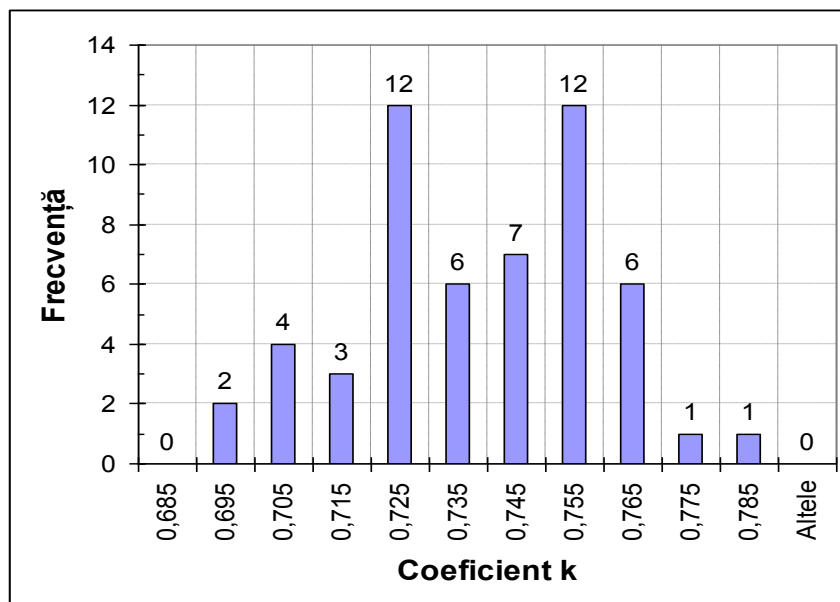


Figura 8 – Histograma coeficienților k pentru anul 2013 (valori calculate pentru fiecare genotip)
(The histogram of k coefficients for 2013; values calculated for each genotype)

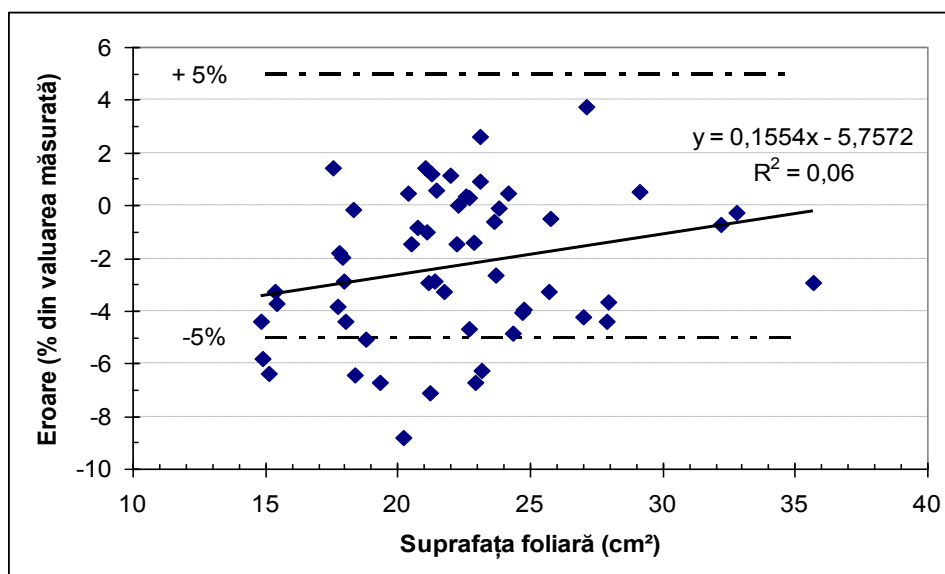


Figura 9 – Relația dintre suprafața măsurată prin scanare și erorile procentuale rezultate din utilizarea unui coeficient k (fix) de 0,75 pentru transformarea produsului dintre lungimea și lățimea frunzei

(The relationship between surface of flag leaf measured by scanning and the percentage errors resulted from the use of a (fixed) k coefficient of 0.75 for converting the product of leaf length and width)

CONCLUZII

Pentru calculul suprafețelor foliare la frunza steag, în cazul unor linii DH de grâu rezultate prin mutagenză, coeficientul de conversie al produsului dintre lungime și lățime utilizat curent (0,75) poate da erori mai mari de 5%.

Erorile rezultate sunt independente de mărimea frunzei și sunt specifice pentru fiecare linie în parte.

Pentru materialul studiat se recomandă fie folosirea coeficienților de conversie calculați pentru fiecare genotip în parte sau a unui coeficient generic de 0,733.

Au fost identificate trei genotipuri mutante cu suprafețe ale frunzei steag mai mari decât la genotipurile parentale.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- ATHWAL, D. S., 1968 – *Concept of plant type and disease resistance in rice breeding*. Manual General Meeting of Ind. Soc. Genet. Plant Breed.
- BĂNICĂ, CONSTANTINA, CIUCĂ, MATILDA, GIURA, A., 2007 – *Pollen grain expression of osmotic adjustment in Romanian winter wheat*. EWAC Newsl. (Proc. EWAC 14th EWAC Conf., Istanbul, Turkey) 14: 100-102
- BĂNICĂ, CONSTANTINA, PETCU, ELENA, GIURA, A., SĂULESCU, N., 2008 – *Relationship between genetic differences in capacity of osmotic adjustment and other physiological measures of drought resistance in winter wheat (*Triticum aestivum* L.)*. Romanian Agric. Res., 25: 7-11.

- BERDHAL, J. D., RASMUSSEN, D. C., MOSS, D. N., 1972 – *Effect of leaf area on photosynthetic rates, light penetration and grain yield in barley*. Crop Sci., 20: 117-180
- BREMNER, P. M., 1967 – *Some aspects of the relationship between growth and yield in wheat*. Ph. D. Thesis, University of Nottingham.
- CHANDA, S. V., SINGH, Y. D., 2002 – *Estimation of leaf area in wheat using linear measurements*. Plant Breeding and Seed Science, 46, 2.
- CRISTOFORI, V., FALLOVO, C., MENDOZA-DE GYVES, E., RIVERA, C. M., BIGNAMI, C., ROUPHAEL, Y., 2008 – *Non-destructive, analogue model for leaf area estimation in persimmon (Diospyros kaki L.f.) based on leaf length and width measurement*. Europ. J. Hort. Sci., 73 (5): 216-221, ISSN 1611-4426.
- GIURA, A., 1993 – *Progress in wheat haploid production*. Proc. 8th Int. Wheat Genet. Symp., Beijing, China: 741-745.
- GIURA, A., 2011 – *Includerea tehnologiei DH într-un protocol de mutagenză la grâu – rezultate preliminare*. An. INCDA Fundulea, LXXVIII, 1: 1-10.
- IBRAHIM, H. A., ELENEIN, R. A. A., 1977 – *The relative contribution of different wheat leaves and awns to the grain yield and its protein content*. Zeitschrift für Acker- und Pflanzenbau, 144: 1-7.
- LIU YONG KANG, LI MING JUN, LI JINGYUAN, LI XIAOJUAN, YANG XINGHONG, TONG YIPING, ZHANG AIMIN, LI BIN, LIN JINXING, KUANG TINGYUN, LI ZHENSHENG, 2009 – *Dynamic changes in flag leaf angle contribute to high photosynthetic capacity*. Chinese Science Bulletin.
- MONTGOMERY, E. G., 1911 – *Correlation studies in corn*. Nebraska Agr. Exp. Sta. Annu. Rep., 24: 108-159.
- MUSTĂȚEA, P., SĂULESCU, N. N., ITTU, G., PĂUNESCU, G., VOINEA, L., STERE, I., MÎRLOGEANU, S., CONSTANTINESCU, E., NĂSTASE, D., 2009 – *Grain yield and yield stability of winter wheat cultivars in contrasting weather conditions*. Romanian Agric. Res., 26: 1-8.
- BREDA, NATHALIE J. J., 2003 – *Ground-based measurements of leaf area index: a review of methods, instruments and current controversies*. Journal of Experimental Botany, 54, 392: 2403-2417.
- PANDEY, S. K., SINGH, HEMA, 2011 – *A simple cost-effective method for leaf area estimation*. Hindawi Publishing Corporation, Journal of Botany, Article ID 658240.
- PETCU, ELENA, ȚERBEA, MARIA, LAZĂR, C., 2007 – *Cercetări în domeniul fiziologiei plantelor de câmp la Fundulea*. An. INCDA Fundulea, LXXV, Volum omagial: 431-458.
- VOLDENG, H. D., SIMPSON, G. M., 1967 – *The relationship between photosynthetic area and grain yield per plant in wheat*. Canadian Journal of Plant Science, 47(4): 359-365.

Prezentată Comitetului de redacție la 14 noiembrie 2014