

STUDIU COMPARATIV AL FERTILITĂȚII LA
TRIFOIUL ROȘU DE TRANSILVANIA DI-ȘI TETRAPLOID

de I. NEGRUȚIU

NEGRUȚIU, I., 1973 (Inst. Agr. Cluj), *A comparative study of the fertility in di- and tetraploid red clover of Transylvania*. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, VII, 61-65. Data on the fertility potential and the selfcompatibility degree of di- and tetraploids are presented under cross- and self-, free- and artificial pollination conditions in certain developmental stages 0 to 30 days after pollination.

Prescurtări folosite în text: PIL - polenizare încrucișată liberă; PIA - polenizare încrucișată artificială; APA - autopolenizare artificială; APS - autopolenizare spontană; SE - saci embrionari; OD și oD - ovare și respectiv ovule în dezvoltare (normale, fertile); OA și oA - ovare și ovule avortate; OICA și oICA - ovare și ovule în curs de avortare; PS - gradul de legare (la 30 zile de la polenizare).

Introducere. Lucrarea de față și-a propus ca printr-o experiență comparativă di-tetraploizi să determine potențialul fertil în diferite etape de dezvoltare în cursul embriogenezei pe materialul nostru biologic în condiții de PIL, PIA, APA și APS. Experiența urmărește, în intervalul polenizare-formarea semințelor, dezvoltarea ovarelor și respectiv a embrionilor, stabilind procentele de ovule și ovare în dezvoltare, avortate și în curs de avortare (categorie pe care am introdus-o pentru a putea preciza mai corect modul în care se reduce fertilitatea în cursul etapelor studiate), procentul de legare, dezvoltarea a două ovule/ovar, dimensiunile medii ale ovulelor. Se apreciază și consecințele autopoloidizării asupra fenomenului fertilității.

În studiul problemelor legate de fertilitate (6, 3, 4, 9, 10) s-a constatat că explicația numărului mai mare de ovule avortate la tetraploizi se poate datora:

- unui număr mai mare de SE avortați, aceasta fiind o caracteristică a trifoiului roșu. Numărul de saci embrionari aberanți este mai mare la tetraploizi (19,7% față de 14,1% la diploizi);
- unui număr mai mare de ovule nefecundate;
- unui număr mai mic de ovule cu embrioni formați. În principiu însă se pare că avortarea embrionilor nu este o caracteristică la tetraploizi.

În lipsa fecundării oosfera și nucleul secundar se dezintegrează după 4 zile la tetraploizi și după 8 zile la diploizi. În multe ovare competiția dintre cele două ovule în dezvoltare duce la avortul uneia din ele în diferite etape înainte de maturitate, de obicei în primele 10 (chiar 7) zile de la polenizare, avortul fiind mai frecvent în ovulele inferioare. La tetraploizi ovula superioară crește mai puternic, în timp ce ovula inferioară se dezintegrează mai repede decât la

diploizi. S-a constatat prezența unor embrioni necrotici și a altor anomalii chiar la 4 zile de la polenizare.

La diploizi s-a calculat SE %, oD %, PS % pe plante cu fertilitate ridicată (H) și scăzută (L) (tab. 1).

Tabelul 1

	H	L
% SE	75-90	30-63
% oD	63-76 (85% din % SE)	18-37,8 (60% din % SE)
% PS	34-41 (55% din % oD)	4,5-9,45 (25% din % oD)

Datele privind reacția trifoiului la autopolenizare în urma APS și APA sînt următoarele (tab. 2):

Tabelul 2

Grad de ploidie	APS	APA
2 ×	0,10%	3,2%
4 ×	0,11 și 0,11-35%	30,0 și 40-95%

Dimensiunile ovulelor la diploizi variază între 0,45-0,82/0,28-0,54 mm (înainte de polenizare). La tetraploizi, la 8-12 zile de la polenizare, diametrul ovulelor superioare a fost cu 52,5 procente mai mare decît la diploizi.

MATERIAL ȘI METODA. Experiențele au fost făcute în vara anului 1971, folosind ca material biologic plante de trifoi roșu diploid, soiul Select-1 și generația C₅ autotetraploidizată a acestui soi, la coasa I-a.

Izolarea capitulelor, notarea datei înfloritului, polenizările artificiale (autopolenizarea artificială s-a făcut prin frecarea capitulului între degete) respectă uzanțele metodologice din literatură. Recoltările s-au făcut după cum urmează: a) pentru analizele de laborator, la 15-18 zile de la data înfloritului în cazul polenizării încrucișate libere și a autopolenizării spontane și la 5-6, 10-11 și 15-16 zile de la polenizare pentru variantele polenizării artificiale; b) pentru stabilirea procentului de legare capitulele s-au recoltat la 30 de zile de la polenizare, respectiv de la data înfloritului.

Materialul recoltat pentru analizele de laborator a fost inclus în parafină și secționat la 15 microni. S-au făcut observații histomorfologice, embriologice și măsurători biometrice asupra peste 3000 ovule din 1682 de ovare.

REZULTATE ȘI DISCUȚII. 1) *Polenizarea încrucișată liberă.* Datele obținute sugerează faptul că la 15 zile de la polenizare în majoritatea ovarelor normale (65,05% la 2 × și 60,50% la 4 ×) se formează o singură sămînță. Numai 3,35% la 2 × și 1,26% la 4 × formează două ovule în dezvoltare/ovar. Se constată un procent dublu de ovare și de 2,7 ori mai mare de ovule ICA la diploizi.

Procentul de ovare și ovule normale este mai mare la diploizi. Fertilitatea ovarelor tetraploide reprezintă 92,8-93% față de diploizi. La 15 zile, dimen-

siunile medii ale ovulelor sînt 1,97/1,19 mm pentru diploizi și 2,43/1,47 mm pentru tetraploizi. Dimensiunile mai mari ale sămînței tetraploide (128% față de diploizi) se datorează creșterii mai intense a ovulelor tetraploide în perioada dinaintea de ancheză, în intervalul 5-15 zile valorile cu care creșterea ovulelor și tetraploide fiind practic egale. Se dezvoltă cu precădere ovula superioară din ovar.

Datele privind procentul de legare sînt sub semnul întrebării, datorită atacului puternic de Apion, în special la diploizi. Rămîn totuși sugestive limitele în care variază procentul de legare (0-34%) comparativ cu 60,50% OD după 15 zile de la polenizare la tetraploizi.

Tabelul 3

Grad de ploidie	Nr. ovule	OD%	PS%	Limite de variabilitate
2 ×	486	1,64	0,33	0-3,50
4 ×	256	2,34	1,71	0-9,90

2) *Autopolenizarea spontană.* Se constată de asemenea un procent mai mare de avorturi la tetraploizi care se datorează în principal categoriei 2 oA/ovar. La diploizi în schimb avem un procent mai mare de ovare și ovule ICA.

3) *Polenizarea încrucișată artificială.* În urma PIA procentul de ovare și ovule normale este mai mare decît în cazul PIL (tab. 4).

Tabelul 4

Grad de ploidie	OD%		oD%	
	PIL	PIA	PIL	PIA
2 ×	65,05	73,07	34,20	36,54
4 ×	60,50	67,74	30,88	33,87

În plus, procentul de ovare și ovule ICA este mai mic decît la polenizarea liberă; există deci condiții mai sigure de dezvoltare a unor embrioni normali în cazul PIA.

Tabelul 5

Nr. zile de la polenizare	Nr. ovule	OD%		Din care		OICA%	oICA%	OA%	oA%	din care 2 oA/ovar
		OD%	oD%	2 oD/ovar	un oD/ovar					
5-6 zile	84	80,95	48,80	16,66	32,14	9,52	15,47	9,52	35,71	9,52
10-11 zile	154	81,81	41,59	1,30	40,29	6,49	4,54	11,69	53,90	11,69
15-16 zile	124	67,74	33,87	0	33,87	3,22	1,61	29,03	64,51	29,03

La tetraploizi între 10-11 și 15-16 zile de la polenizare procentul de ovare normale scade mai mult decît în intervalul 0-5 (6) zile. În același timp gradul de reducere al procentului de ovule normale este mai uniform în cele trei etape.

Se reduce evident procentul de ovare cu două ovule normale/ovar. Rezultă că reducerea fertilității se face la început mai ales pe seama avortării cîte unei ovule din cele două dintr-un ovar normal. În continuare acest proces se desfășoară în paralel cu avortul din unele ovare și a celei de a doua ovule (vezi și tabelul 6). Aceeași concluzie se conturează observînd un procent mai mare de ovule avortate în intervalul pînă la 10 zile de la polenizare și aceasta în special la tetraploizi, pentru ca în intervalul 10–15 zile creșterea procentului de ovare avortate să fie mai mare decît în intervalul 5–10 zile atît la diploizi cît și la tetraploizi. Reducerea procentului de ovule ICA la tetraploizi este mai mare în intervalul 5–10 zile de la polenizare, în timp ce reducerea procentului de ovare ICA este mai uniformă în timp. Majoritatea vor avorta în intervalul 10–15 zile.

Tabelul 6

Nr. zile de la polenizare	Diploizi				Tetraploizi			
	ICA		Avortate		ICA		Avortate	
	ovare	ovule	ovare	ovule	ovare	ovule	ovare	ovule
5–6 zile	26,08	31,16	7,24	28,99	9,52	15,47	9,52	35,71
10–11 zile	22,50	20,00	12,50	44,37	6,49	4,54	11,69	53,90
15–16 zile	3,85	2,84	23,07	60,57	3,22	1,61	29,03	64,51

Se observă un procent de ovule avortate mai mare la tetraploizi decît la diploizi în special în intervalul 0–5 zile și de asemenea ponderea mai mare la diploizi a ovarelor și ovulelor ICA, cu precădere în primele două etape: 0–5 și 5–10 zile. Se poate deduce un procent mai mare de saci embrionari avortați înainte de polenizare la tetraploizi, procent care probabil nu depășește însă decît cu 5–10% pe cel al sacilor embrionari avortați la diploizi. Consultînd tabelul 7, se pare că după fecundare procentul cu care se reduce fertilitatea este cam același la cele două nivele de ploide (avînd în vedere și plusul de 5–10% de saci embrionari avortați la tetraploizi față de diploizi). Avortarea embrionilor, ca factor de reducere a fertilității — așa cum precizează și literatura de specialitate, nu pare să fie o caracteristică a tetraploizilor comparativ cu diploizii. Ar rezulta că ploidizarea afectează fertilitatea mai degrabă în macrosporogeneză comparativ cu evoluția aceluiași fenomen la diploizi.

În ce privește procentul de ovare normale, se pare că acesta se reduce în intervalul 15–30 zile cu valori cel puțin egale cu cele din intervalul pînă la 15 zile (vezi tabelele 7 și 6).

Tabelul 7

Grad de ploidie	A + ICA (15 zile)		Normale (15 zile)		% PS (30 zile)
	ovare	ovule	ovare	ovule	
2 ×	26,92–35,05	63,41–65,79	65,05–73,07	34,20–36,54	19,80–26,30
4 ×	32,25–39,50	66,12–69,11	60,50–67,74	30,88–33,87	20,60–21,90

(date suplimentare privind PS% ne-au fost puse la dispoziție de doctorandul Zeno Barbur care a lucrat în aceleași condiții)

Astfel în intervalul 0–15 zile fertilitatea ovarelor se reduce cu:
 100 – (65–73%) OD = 35–27% A + ICA la diploizi și
 100 – (60–67%) OD = 40–37% A + ICA la tetraploizi, iar în intervalul 15–30 zile:

69% OD – (26,3–19,8)% PS = 42,7–49,2% A pentru 2 × și
 63,5% OD – (21,9–20,6)% PS = 40,6–42,9% A pentru 4 ×.

Nu același lucru se poate spune despre reducerea procentului de ovule normale, care este mai mare (aproximativ 60–70%) în intervalul pînă la 15 zile, situație evidențiată și în literatură.

4) *Autopolenizarea artificială.* Procentul de ovare și ovule normale este mult redus față de PIA; se înregistrează diferențe evidente între di- și tetraploizi.

Procentul de ovare și ovule normale este mai mare decît în cazul APS, la fel și procentul de sămînță.

Tabelul 8

Grad de ploidie	APA			APS		
	OD%	oD%	PS%	OD%	oR%	PS%
	2 ×	0–3,84	0–1,92	2,92	1,64	0,82
4 ×	12,38–28,84	6,19–14,12	8,58	2,34	1,56	1,71

Procentul de ovare ICA și avortate se reduce și respectiv crește mult, mai ales în intervalul 10–15 zile pentru ambele grade de ploidie și aceasta în special pe seama avortării și a celei de a doua ovule din ovar. În ce privește ovulele ICA și avortate, între etape diferențele sînt mai uniforme.

Apare evident că prin autopoloidizare gradul de autocompatibilitate al trifoiului crește în mod considerabil.

BIBLIOGRAFIE

- DAMISCH, W. (1963) — *Biologisches Z. Blat.*, **82**, 3, V–VI.
- DENWARD, F. (1963) — *Hereditas*, **49**: 189.
- HULEWICZ, T. L. (1963) — *Genet. Pol.*, **4**, 2.
- HULEWICZ, T. L., T. MACKIEWICZ, (1963) — *Der Zuchter*, **33**, 1.
- KENDALL, W. A. (1968) — *Th. Appl. Gen.*, **38**: 351–354.
- MACKIEWICZ, T. (1965) — *Genet. Pol.*, **6**, 7–2.
- NITZSCHE, W. (1967) — *Agrobotanica*, **7**, 2.
- PANFIL, C. și col. (1973) — Contribuții la studiul fertilității trifoiului roșu de Transilvania autotetraploid.
- POVILAITIS, B., J. W. BOYES (1959) — *Canad. J. Pl. Sc.*, **39**, 3.
- POVILAITIS, B., J. W. BOYES (1960) — *Canad. J. Bot.*, **38**: 507.

Reproduced with permission of the copyright owner. Further reproduction prohibited without permission.