

CZU:633.15:631.527:581.4

**MODELAREA SISTEMULUI DE MARKERI
ÎN AMELIORAREA PORUMBULUI**

**Partea 2. Posibilitățile de marcare prin compoziția biochimică a
bobului și prin formele moleculare de zeină**

*Comarova G., Batîru Gr., *Rotari E., Rotari A., Bounegru S., Cojocari D.
Universitatea Agrară de Stat din Moldova
Institutul de Fitotehnie „Porumbeni”

Abstract: The paper reflects the second part of the research related to the experimental analysis of the possibilities of using in *Zea mays* L. of some genetic models with a genome with the pronounced expression of the marker systems at the morphological, biochemical and molecular levels, focusing on biochemical markers from the group of metabolites responsible for grain quality and protein markers of zeins (PMZ) in maize. It was found that the use of PMZ based on computerized automation of

electrophoretic data processing is the most sensitive marking level (among the levels studied) and makes it possible to identify both the eliminatory and enriching effect of the genes of the maize endosperm structure. To increase the efficiency of selection for maize quality, the authors recommend, in parallel with the use of morphological markers (according to UPOV requirements), to use protein markers that increase methodological accuracy and save experimental time for evaluating and selecting the initial breeding material.

Key-words: maize, seed metabolites, lysine, protein markers, electrophoresis, zein

Introducere

Cum s-a menționat în argumentarea științifică a primei părți a articolului „Modelarea sistemului de markeri în ameliorarea porumbului”, în momentul de față, testarea de stat a soiurilor pentru identificare și patentabilitate în 68 de țări (inclusiv Republica Moldova) se realizează conform metodelor naționale ale țărilor participante din UPOV. Ele sunt bazate pe determinarea caracteristicilor morfologice și fiziologice distinctive, gradul de expresie a cărora se pretează la o descriere exactă.

Datorită faptului că caracterele morfologice caracterizează interacțiunea dintre genotip și mediul extern și, în consecință, nu permit determinarea variabilității unei gene structurale foarte specifice (sau a unui complex de gene) care controlează o trăsătură specifică din punct de vedere economic, în ultimul deceniu, din ce în ce mai multă atenție a oamenilor de știință a început să atragă problema extinderii sistemului de markeri în ameliorarea plantelor [KOHOBALJOB, 2013].

În 2011, la cea de-a 45-a sesiune ordinară a UPOV, a fost adoptat un ghid privind posibilitatea utilizării markerilor biochimici și moleculari pentru aprecierea DUS [UPOV, 2007], însă pe exemplul cercetărilor cu un număr limitat de culturi.

În ultimele decenii, activitatea științifică în această direcție s-a dovedit a fi cea mai eficientă într-un aspect relativ unilateral - identificarea genomului culturilor agricole la nivel de markeri proteici și moleculari [COMAROVA et al, 2016; IDREES, IRSHAD, 2014; MICLĂU, 2018]. Cu toate acestea, eficacitatea acestei abordări pentru procesul de ameliorare depinde de sistematizarea cunoștințelor despre utilizarea complexă a markerilor la trei niveluri: morfologic, biochimic și genetic (molecular).

În acest scop, în ipoteza de cercetare generală a lucrării prezentate, s-a pus accent pe utilizarea în scopurile indicate a modelelor genetice care

posedă un genom cu o expresie pronunțată a tuturor sistemelor de markeri enumerate: mutații cu gene ale structurii endospermului (făinos - *opaque2*, zaharat - *sugary2*, ceros - *waxy1*), ce îmbunătățesc calitățile nutritive și furajere ale bobului de porumb și se utilizează eficient în programele de ameliorare a porumbului pentru calitatea bobului [PALII, 2014].

Această lucrare reflectă a doua parte a cercetării, ce se concentrează pe o gamă largă de markeri biochimici: produse ale metabolismului intermediar și final, precum și forme moleculare ale unuia dintre primii produși ai genelor - fracția de prolamină a bobului de porumb - zeina.

Scopul final al acestor studii este de a compara rezultatele obținute cu rezultatele experimentale din prima parte a lucrării prezentate privind identificarea tradițională a liniilor de porumb cu gene ale structurii endospermului la nivelul markerilor morfologici (conform cerințelor UPOV).

Material și metode

În calitate de material biologic au fost folosite 11 linii de porumb. Pe baza acestor linii au fost utilizate genotipuri cu următoarele gene ale structurii endospermului: *opaque2* (*o2*), *sugary2* (*su2*), *waxy1* (*wx1*), și analogii lor normali. În total, în cercetările efectuate au fost utilizate 26 genotipuri.

Compoziția chimică a liniilor de porumb a fost determinată la Analizatorul cu Unde Infraroșii «Scanner – Model 4250» destinat pentru analiza-expres a calității producției agricole [ROTARI, 2011].

Studierea formelor moleculare a zeinei (FMZ) s-a efectuat prin metoda electroforezei (EF) în gelul de poliacrilamidă, în soluție tampon acidă cu uree [SM 233:2003].

Calcularea formulelor spectrelor electroforetice obținute, compilarea matricelor de profil zein- proteic pentru genotipurile studiate au fost efectuate pe baza folosirii software-ului FOREZ elaborat de inginerul de proiectare A.Adamciuc pe baza metodologiei tehnice propuse de G.Comarova [KOMAPOBA et al, 2003, 2012].

Rezultate și discuții

Pentru fiecare dintre cele 26 genotipuri a fost efectuată o pașaportizare generală a valorii nutritive după un complex de parametri biochimici: proteine brute, grăsimi brute, amidon, celuloză și cenușă.

Conform acestor indici, nu a fost găsită nici o legătură obiectivă în deosebiriile dintre valorile cantitative în acumularea acestor metaboliți,

cea ce indică absența unei diferențe semnificative în parametrii valorii nutritive a boabelor dintre mutanți și analogii lor normali.

Tabelul 1. Studiul gradului de marcarea *expresiei genei o2* după indicii biochimici ai semințelor de porumb

Nr d/o	Genotipul	În % din substanța uscată [$\Delta = (norm-o2)$]						Δ lizină în proteina
		Δ proteine	Δ lipide	Δ amidon	Δ celuloză	Δ cenușă	Δ lizină	
	2	3	4	5	6	7	8	9
1	C81	+1,24	+0,83	-0,09	+0,03	+0,1	-0,13	-1,19
2	MK131G	-0,04	-0,07	+0,16	-0,04	+0,32	-0,16	-1,22
3	SL343	+0,04	-0,38	+0,01	-0,06	-0,35	-0,17	-1,33
4	W64A	+0,87	-0,86	+0,29	+0,03	-0,09	-0,13	-1,2
5	MK 01	+0,41	-0,07	-0,37	-0,01	-0,4	-0,12	-0,75
6	W153 R	-0,85	+0,11	+0,45	-0,01	+0,4	-0,16	-1,06
7	P502 P	-0,28	-1,12	+0,13	-0,02	+0,98	-0,24	-1,78
8	P346P	+0,09	+0,07	-0,01	-0,03	-0,09	-0,07	-0,56
9	P346K	+0,33	+0,73	-0,62	0	-0,24	-0,04	-0,38

Pe baza analizei parametrilor biochimici, care determină valoarea nutritivă a boabelor de porumb, se poate aprecia doar posibilitatea de markare a unui genotip individual prin unii din acești indici, și anume:

Tabelul 2. Studiul gradului de marcarea a *expresiei genei wx1* după indicii biochimici ai semințelor de porumb

Nr. d/o	Genotipul	În % din substanța uscată [$\Delta = (norm-wx1)$]						Δ lizină în proteina
		Δ proteine	Δ lipide	Δ amidon	Δ celuloză	Δ cenușă	Δ lizină	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	MK 01 +/+	-0,21	+0,21	+0,12	+0,03	+0,57	+0,01	+0,41
2	B73 +/+	+0,11	+0,06	+0,83	-0,02	-0,09	-0,02	-0,16
3	A632 +/+	-0,38	+0,13	+0,61	-0,04	0	-0,05	-0,3
4	W64A +/+	+0,86	-0,09	-0,27	+0,07	+0,41	0	-0,17

- o creștere semnificativă a conținutului de proteine în bobul formelor *opaque2* ale liniilor W153R și P502P și în boabele formei ceroase a liniei A632;

- o scădere semnificativă a conținutului de proteine în bobul cu gena *o2* pentru liniile C81, W64A și MK01, în boabele formei ceroase ale liniei W64A și în boabele cu gena *su2* a liniilor A632 și W64A;

- o creștere evidentă a conținutului de lipide la analogii *o2* ai liniilor SL343, W64A, P502 P, P346 P și la boabele cu gena *su2* a liniei W64A.

Tabelul 3. Studiul gradului de marcarea a *expresiei genei su2* după indicii biochimici ai semințelor de porumb

Nr d/ o	Genotipul	În % din substanța uscată/ $\Delta = (norm-su2)$						Δ lizină în proteina
		Δ proteine	Δ lipide	Δ amidon	Δ celuloză	Δ cenușă	Δ lizină	
1	A632+/+	+1,41	+0,98	+0,61	-0,03	+0,2	-0,1	-1,07
2	W64A+/+	+0,44	-0,91	+0,04	+0,06	-0,05	-0,05	-0,46

Caracteristicile evidențiate, pe de o parte, pot fi interpretate pentru a analiza efectul pleiotropic al genei corespunzătoare pe fundalul acestui genotip, iar pe de altă parte, sub aspectul aplicativ, poate fi utilizat numai pentru selecția individuală, în conformitate cu indicii calității biochimice.

Cu toate acestea, cei mai distinctivi markeri ai formelor mutante au fost observați prin indicii de biochimie statică, care caracterizează efectul biochimic corespunzător genei endospermale studiate (*o2*, *su2*, *wx1*). Conform datelor din tabelul 1 (coloanele 8, 9), s-a constatat o creștere semnificativă a conținutului de lizină în proteină pentru toate cele nouă linii de porumb (în comparație cu analogii lor normali): în medie, cu 41,8% mai mult decât media, caracterizând conținutul de lizină în proteina bobului analogului normal. Astfel, s-au obținut dovezi experimentale despre eficacitatea utilizării ca marker biochimic al acțiunii genei *o2* indicatorul „conținut de lizină în proteină” – parametru al unei verigi specifice a metabolismului proteic, cu valoare economică.

Rezultatele analizelor biochimice, prezentate în tabelul 4 pentru două linii, reprezentate atât prin mutații cu gena *sugary2*, cât și cu gena *waxy1*, ne permit să afirmăm următoarele:

1) Efectul biochimic al genei *su2* este exprimat printr-o creștere bruscă a conținutului total de glucide (în medie, de 4 ori);

2) Gena *wx1* influențează la creșterea conținutul de amilopectină în amidon (în medie, cu 22% mai mult ca analogul normal), iar fracția de amilopectină din molecula structurală a amidonului, comparativ cu fracția de amiloză, crește semnificativ (tab. 4, coloana 8).

Prin urmare, markerii biochimici din grupul metaboliților din categoria de calitate a porumbului oferă o marcarea semnificativ mai precisă a mutațiilor cu gene ale structurii endospermului, deoarece reflectă efectul biochimic al acțiunii acestor gene. Cu toate acestea, pentru evaluarea cu succes a acțiunii genelor la nivelul metaboliților statici, este necesară

selectarea și aprobarea metodelor individuale specifice pentru identificarea biochimică a acestor markeri.

Tabelul 4. Studiul gradului de marcarea a *expresiei genelor su2 și wx1* după conținutul de amiloză și amilopectină în amidon a semințelor de porumb

Nr. d/o	Linia	Genotip	În % din substanța uscată		În % din amidon		Raportul amiloza/ amilopectin
			glucide	amidon	amiloză	amilopectină	
1	A632	+/+	2,40	69,72	18,50	81,50	1 : 4,4
2		su ₂ /su ₂	6,06	69,11	18,80	81,20	1 : 4,3
3		wx ₁ /wx ₁	1,02	69,11	0,50	99,50	1 : 199
4	W64	+/+	0,80	69,68	18,50	81,50	1 : 4,4
5		su ₂ /su ₂	6,25	69,64	25,50	74,50	1 : 2,9
6	A	wx ₁ /wx ₁	2,49	69,95	0,30	99,70	1 : 332

În procesul de ameliorare, este foarte important să avem la dispoziție metode expres pentru marcarea detaliată a materialului de selecție. Trebuie să avem în vedere faptul că orice proces metabolic într-o celulă vegetală depinde de funcțiile de reglare ale sistemelor enzimatică și trebuie să susținem postulatul tradițional al biologiei moleculare, conform căruia proteinele reprezintă primul produs metabolic al lucrului genelor. De aceea, următorul pas în această lucrare a fost studierea gradului de eficiență a utilizării markerilor proteici pentru identificare manifestări acțiunii genelor *opaque2 (o2)*, *sugary2 (su2)* și *waxy1 (wx1)*.

Pentru a obține informații complete care să permită interpretarea datelor cercetărilor electroforetice ale fracției prolaminice (zeinei) genotipurilor de porumb, experimentul a fost realizat în următoarele etape:

1. Obținerea electroforegramelor profilurilor proteice ale mutanților de porumb cu genele *o2*, *su2*, *wx1* și analogii lor normali. Figura 1 prezintă o serie de pașapoarte electroforetice (EF) inițiale care demonstrează apariția profilurilor proteice imediat după fixarea mișcării componentelor subpeptidice ale zeinei în gel și colorarea lor. Pentru fiecare bandă EF, vizual, se pot observa o serie de zone peptidice în calitate de markeri, care determină specificitatea genotipului cercetat.

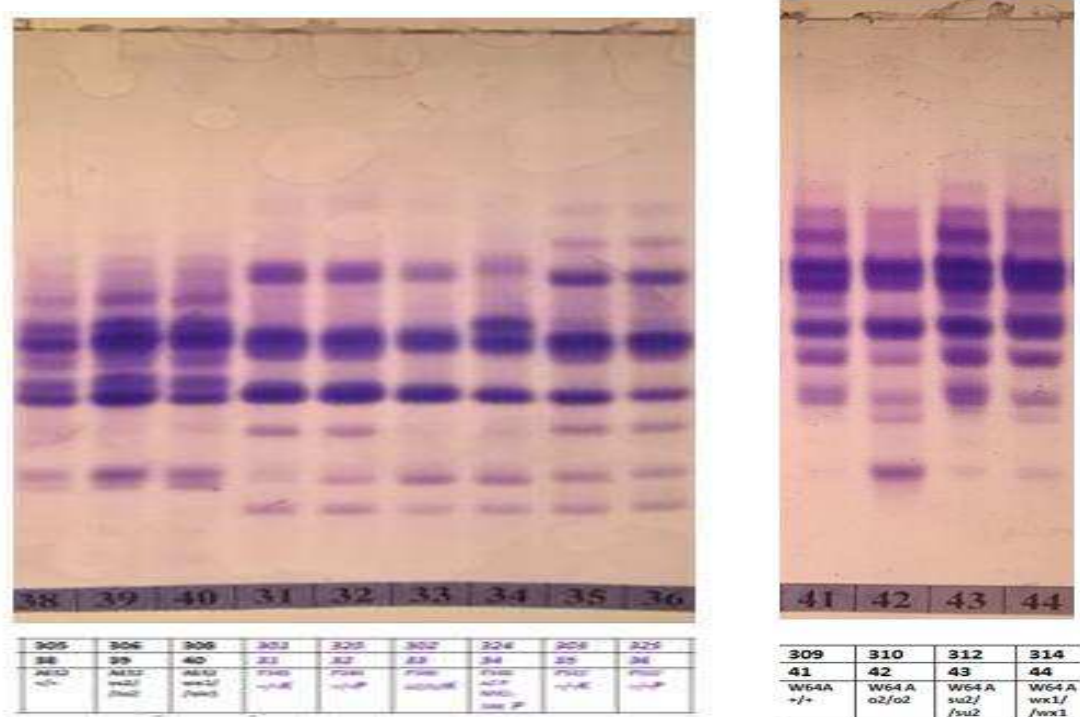


Fig.1. Electroforegrame ale zeinei din endospermul boabelor liniilor mutante de porumb: A632, P346K, P346P, P502P, W64A.

2. Documentarea digitală a electroforegramelor obținute:

2.1. Electroforegramele de poliacrilamidă în stare proaspătă, s-au utilizat pentru a calcula formulele spectrelor de zeină ale endospermului din boabele fiecărui genotip [KOMAPOBA et al., 2012] – un exemplu de astfel de formule este prezentat în tabelul 5 – pentru toate formele mutante și analogul lor normal al liniei W64A.

În mod similar au fost calculate formulele digitale ale electroforegramelor proteinei de rezervă (zeină), din endospermul porumbului pentru toate liniile mutante studiate și analogii lor normali, care au fost pregătite pentru prelucrarea computerizată ulterioară și crearea matricilor electroforetice folosind programul „FOREZ” [KOMAPOBA et al., 2003].

2.2. Ca rezultat - după modelarea pe calculator a formulelor acestor spectre electroforetice a zeinei, s-au obținut matrici de electroforegrame ce constau din forme moleculare a zeinei (FMZ) fiecare având mobilitatea electroforetică relativă (Rf) egală cu 0,1.

Pe exemplul matricii profilurilor electroforetice ale zeinei din endospermul liniei W64A cu genele *o2*, *su2*, *wx1* și analogul lor normal (+/+), prezentate în figura 2, se observă cât de largă este gama de posibilități pentru identificarea markerilor genelor structurii endospermului la porumb după

Tabelul 5. Formulele electroforegramelor proteinei de rezervă din endospermul bobului liniei de porumb W64A cu genele *o2*, *su2*, *wx1* și analogul lor normal, pregătite pentru prelucrarea computerizată și crearea matricilor electroforetice

Genotipul iniei W64A	<i>+/+</i>	<i>o2/o2</i>	<i>su2/su2</i>	<i>wx1/wx1</i>
Diapazon rf_x	<u>36-37</u>	<u>35-37</u>	<u>30-32</u>	<u>35-37</u>
	<u>39-41</u>	<u>39-41</u>	<u>35-36</u>	<u>40-41</u>
	<u>45-48</u>	<u>44-48</u>	<u>38-41</u>	<u>45-47</u>
	<u>49-51</u>	<u>49-51</u>	<u>44-47</u>	<u>49-51</u>
	<u>53-55</u>	<u>57-60</u>	<u>48-51</u>	<u>53-54</u>
	<u>57-60</u>	<u>63-66</u>	<u>53-54</u>	<u>57-60</u>
	<u>63-65</u>	<u>72-73</u>	<u>56-60</u>	<u>63-65</u>
	<u>67-70</u>	<u>74-75</u>	<u>62-65</u>	
	<u>72-73</u>	<u>76-77</u>	<u>67-71</u>	
		<u>86-88</u>	<u>73-73</u>	<u>72-73</u>
			<u>74-75</u>	<u>87-88</u>
			<u>76-77</u>	
			<u>87-88</u>	

spectrele EF ale zeinei. În legătura cu aceasta apare întrebarea dacă este posibil să fie efectuată simplificarea metodologică a procesului de identificare a markerilor proteici, ce manifestă polimorfism bogat în fracția zeinică de prolamină?

Până în prezent, programul „FOREZ” a fost utilizat pentru modelarea computerizată, pentru stocare și pentru sinteza automată a spectrelor electroforetice hibride din spectrele EF ale formelor parentale bazate pe principiul codominării [KOMAPOBA et al, 2012].

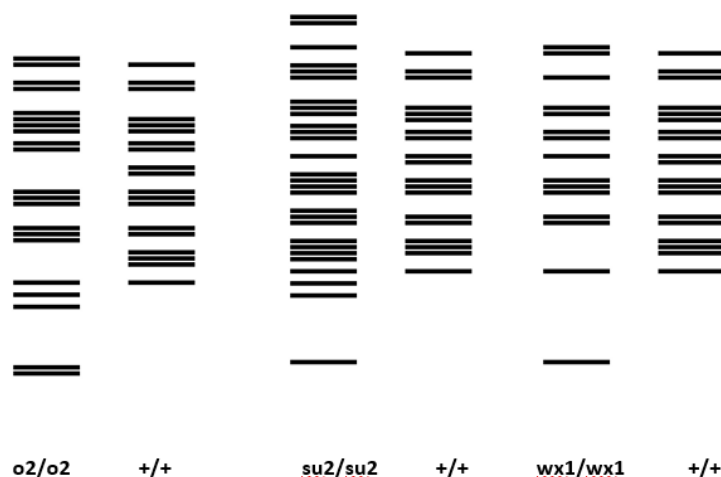


Fig.2. Matricile profilului electroforetic al zeinei endospermului liniei de porumb W64A cu genele *o2*, *su2*, *wx1* și analogul lor normal (*+/+*).

În lucrarea prezentată, pentru prima dată a fost verificată experimental o nouă propunere tehnică din partea Dr. Galina Comarova (secția

„Biologie vegetală”, Departamentul Agronomie și Mediu), anume: utilizarea posibilității de sinteză automată a două spectre electroforetice comparate ale liniilor de porumb mutante și normale pentru marcarea rapidă a expresiei genelor structurii endospermului la nivelul markerilor proteici.

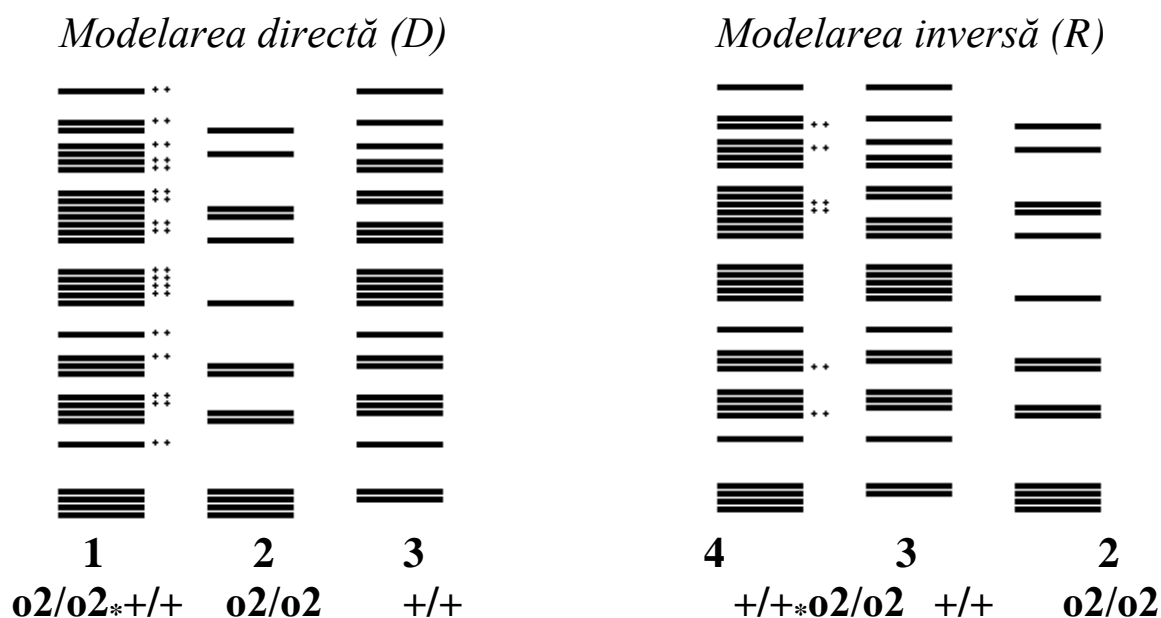


Fig.3. Rezultatele marcării EF a liniei C81 cu gena *o2* și analogul ei normal (+ / +) la nivelul moleculelor proteice.

Astfel, de exemplu, în baza de date a programului „FOREZ” se includ formulele de calcul pentru spectrele EF a două genotipuri ale liniei C81 în conformitate cu principiul modelării directe (D) și modelării inverse (R) (fig. 3).

Modelarea directă (D):

- inițial în baza de date este introdusă o formulă de calcul care caracterizează spectrul EF a liniei cu gena *o2/o2* (fig. 3D – spectrul 2);
- după care în baza de date se introduce formula EF ale liniei normale + / + (fig. 3.D – spectrul 3);
- în rezultatul combinării automate a formulelor acestor două genotipuri după principiul codominării, pe panou este afișată matricea EF (fig. 3.D – spectrul 1), pe care sunt notate (automat) markerii efectului eliminării FMZ ca urmare a acțiunii genei *o2* asupra fracției de prolamină a proteinei endospermei de porumb (zeina), adică, sunt indicate automat markerii formelor moleculare de zeină (FMZ), care dispar din molecula de proteină sub influența genei *o2*.

Modelarea inversă (R):

- în baza de date este introdusă o formulă de calcul care caracterizează spectrul EF a liniei normale +/+ (fig. 3.R – spectrul 3);

- în baza de date se introduce formula EF ale liniei cu gena *o2/o2* (fig. 3. R – spectrul 2);

- ca rezultat de combinare automată a formulelor acestor două genotipuri pe principiul codominării, pe panou este afișată matricea EF (fig. 3.R – spectrul 4), pe care sunt notate (automat) markerii efectului îmbogățirii FMZ ca urmare a acțiunii genei *o2* asupra fracției de prolamină a proteinei endospermului de porumb (zeina), adică, sunt indicate automat acele FMZ, care pot apărea ca rezultatul a modificărilor structurale ale formelor moleculare de zeină sub influența genei *o2*.

Metodologia descrisă a fost utilizată pentru a realiza marcarea rapidă a tuturor celor 26 de genotipuri de porumb studiate la nivelul markerilor de zeină. Ca urmare, a fost obținută posibilitatea efectuării analizelor cantitative a efectului de eliminare și/sau îmbogățire al acțiunii genelor structurii endospermului. Conform datelor din tabelul 6, cota-parte de variabilitate în acțiunea

Tabelul 6. Analiza comparativă a caracteristicilor cantitative ale markerilor proteici care caracterizează efectul genei endospermale *opaque2 (o2)* asupra fracției de prolamină din bobul de porumb

Nr. d/o	Genotipul	Numărul markerilor		% markeri proteici	
		Efectul eliminator al genei <i>o2</i>	Efectul îmbogățitor al genei <i>o2</i>	Efectul eliminator al genei <i>o2</i>	Efectul îmbogățitor al genei <i>o2</i>
1	C81	18	6	58	19
2	MK 131	5	6	20	24
3	SL 343	13	2	46	7
4	W64A	5	5	19	19
5	MK 01	11	6	55	30
6	W153 R	13	5	48	19
7	P502 P	12	4	55	18
8	P346 P	7	2	37	11
9	P346 K	7	2	33	10
	min	5	2	19	7
	max	18	6	58	30

variabilitate în acțiunea de eliminare a genei *o2* (de la 19 la 58%) depășește semnificativ nivelul modificărilor de marker care caracterizează

efectul îmbogățitor al genei *o2* (de la 7 la 30%). Trebuie menționat că această legitate se observă pentru majoritatea liniilor studiate. Singura excepție prezintă linia MK 131.

Conform tabelului 7, expresia genei *wx1* după markerii proteici ai zeinei este pur specifică pentru fiecare genotip studiat.

Tabelul 7. Analiza comparativă a caracteristicilor cantitative ale markerilor proteici care caracterizează efectul genei *waxy1* (*wx1*) asupra fracției de prolamină în bobul de porumb

Nr. d/o	Genotipul	Numărul de markeri		% markeri proteici	
		Efectul eliminator al genei <i>wx1</i>	Efectul îmbogățitor al genei <i>wx1</i>	Efectul eliminator al genei <i>wx1</i>	Efectul îmbogățitor al genei <i>wx1</i>
1	W64A	6	1	29	5
2	A632	2	4	10	19
3	MK01	7	7	35	35
4	B73	5	5	28	28
	min	2	1	10	5
	max	7	7	35	35

Tabelul 8. Analiza comparativă a caracteristicilor cantitative ale markerilor proteici care caracterizează efectul genei *sugary2* (*su2*) asupra fracției de prolamină în bobul de porumb

Nr. d/o	Genotipul	Numărul de markeri		% markeri proteici	
		Efectul eliminator al genei <i>su2</i>	Efectul îmbogățitor al genei <i>su2</i>	Efectul eliminator al genei <i>su2</i>	Efectul îmbogățitor al genei <i>su2</i>
1	W64A	3	10	10	32
2	A632	7	9	28	36

În același timp, rezultatele prezentate în tabelul 8 demonstrează clar predominanța efectului îmbogățitor al genei *su2* asupra fracției de prolamină a endospermului mutant (diapazonul de variație a markerilor proteici este de 32-36%, care prezintă aproape de 2 ori mai mare decât efectul eliminator al acestei gene).

Concluzii

1. Markerii biochimici din grupul metaboliților din categoria de calitate a boabelor asigură o marcă semnificativă mai precisă, deoarece reflectă efectul biochimic al genelor structurii endospermului: o creștere

semnificativă a conținutului de lizină în proteină a fost constatată la toate cele 9 linii de porumb cu gena *o2* (în comparație cu analogii lor normali) – în medie cu 41,8%; efectul biochimic al genei *su2* este exprimat printr-o creștere accentuată a conținutului de zaharuri totale (în medie, de peste 4 ori); gena *wx1* determină creșterea conținutului de amilopectină în amidon (22% mai mult decât analogul normal), iar cota-parte de amilopectină din molecula structurală de amidon se ridică semnificativ.

2. Utilizarea markerilor proteici ai zeinei de porumb pe baza automatizării computerizate a procesării datelor electroforetice, este cel mai sensibil nivel de marcare (dintre nivelurile studiate) și ne permite să identificăm atât efectele de eliminare, cât și efectele de îmbogățire ale genelor structurii endospermului bobului de porumb.

3. Pentru sporirea eficienței ameliorării la calitate a culturii *Zea mays* L., paralel cu utilizarea markerilor morfologici (în conformitate cu cerințele UPOV), se recomandă folosirea markerilor proteici care sporesc exactitatea metodologică și reduc timpul experimental în procesul aprecierii și selectării materialului inițial de ameliorare.

Bibliografie

1. COMAROVA, G., ROTARI, A., ROTARI, E. The new way of evaluating the protein polymorphism for Maize breeding and seed production. Conferința Internațională a Universității de Științe Agronomice și Medicină Veterinară din București „Agricultura pentru viață, viața pentru agricultură” .Scientific Papers. Series A. Agronomy, Vol. LIX, 2016, pp .257-260. ISSN 2285-5785.

2. IDREES, M., IRSHAD, M. Molecular markers in plants for analysis of genetic diversity: a review. European Academic Research. 2014, vol. 2, pp 1513–1540.

3. MICLĂUȘ, M. Unlocking the full potential of 2,000 maize inbred lines for nowadays societal needs using state of the art molecular biology tools. In: International congress on oil and protein crops. Abstract Book. Chisinau, 2018, p.80.

4. PALII, A. Cercetări privind ameliorarea și genetica porumbului efectuate în cadrul Universității Agrare de Stat din Moldova. Culegerea jubiliară „Institutul de Fitotehnie” Porumbeni” - 40 ani de activitate științifică, Pașcani, 17 septembrie 2014, pp. 59-69.

5. ROTARI, A. Dezvoltarea cercetărilor biochimice, fiziologice și biotehnologice în ameliorare și producerea semințelor de porumb în

Republica Moldova. Ameliorarea porumbului și utilizarea androsterilității citoplasmatică în producerea de semințe. Chișinău, 2011, pp. 132-153.

6. SM 233:2003. Determinarea purității biologice a liniilor consangvinizate și a gradului de hibridare la semințele hibridilor de porumb de prima generație prin metoda de electroforeză a proteinelor. Departamentul „Moldova-Standard” Chișinău, 2003. 27 p.

7. UPOV. Maize – Zea mays L. Guidelines for the conduct of test for distinctness uniformity and stability. Geneva, 2007, 69 p.

8. КОМАРОВА, Г., РОТАРЬ, А., АДАМЧУК, А. Возможности компьютерного моделирования для паспортизации гибридов кукурузы методом электрофореза. Simpozion Științific Internațional “70 ani ai Universității Agrare de Stat din Moldova”, Chișinău, 2003, pp. 38-40.

9. КОМАРОВА. Г., РОТАРЬ. Е., РОТАРЬ. А. Методологические подходы к изучению полиморфизма зеина как основы оценки чистоты линий, степени гибридности и определения эффекта гетерозиса на уровне белковых молекул. Înregistrată la Agenția de Stat pentru Proprietatea Intelectuală a R.Moldova (AGPI), CERTIFICAT de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe. Seria OȘ Nr. 3369 din 08 05.2012, Chișinău, 72 p.

10. КОНОВАЛОВ, Ю. и др. Общая селекция растений. Санкт Петербург. Москва: Краснодар, 2013, 477 с. ISBN 978-5-8114-1387-4.