

## UNELE PARTICULARITĂȚI ALE FORMELOR DIPLOIDE ȘI TETRAPLOIDE DE PORUMB *OPAQUE-2*

PALII A., BATÎRU Gr.

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

**Abstract.** This paper aims to present the results of studying some peculiarities of diploid and tetraploid maize forms containing *opaque-2(o2)* gene used in maize breeding programs for grain protein quality. Tetraploid *o2* forms were shorter in size and had thicker stems and internodes, panicles had thicker branches, especially the central one, but the number of branches and leaf width was genotype specific. Tetraploid ears showed reduced fertility and higher grains weight than diploids. Biochemical analysis revealed a higher protein and lower lipid and starch content in tetraploid kernels as compared to diploid ones.

**Key words:** *Zea mays* L., Diploid, Tetraploid, *Opaque-2(o2)*, Protein, Lysine.

### INTRODUCERE

Poliploizii sunt organisme ce conțin seturi multiple de cromozomi. Acest fenomen este larg răspândit în natură jucând un rol important atât în evoluția angiospermelor, cât și în programele de ameliorare a plantelor (Udall, Wendel, 2006). Porumbul (*Zea mays* L.) este o specie diploidă ( $2x=20$ ) ce nu are o serie poliploidă naturală, cu excepția triploizilor, care apar rar și sunt, de regulă, sterili (Alexander, Becket, 1963). Primele forme tetraploide ( $4x=40$ ) de porumb au fost obținute în SUA, de către L. F. Randolph (1932), ulterior și în alte țări. Încă de la primele cercetări s-a constatat că aceste forme de porumb prezintă unele particularități morfologice, fiziologice și biochimice valoroase (plante viguroase, rezistență la temperaturi scăzute, conținut ridicat de proteine în boabe, ș.a.), dar și însușiri nefavorabile (fertilitate redusă, dezvoltare mai lentă, perioadă de vegetație mai lungă, recoltă scăzută, ș.a.) ce nu au permis utilizarea lor în producție (Коварский, Обершт, Чалык, 1970; Хаджинов, Щербак, 1974; Sockness, Dudley, 1989a, 1989b). Tetraploizii porumbului și-au găsit utilitate în diverse cercetări privitor la variabilitatea genetică (Riddle et al., 2006, 2008), manifestarea inbreeding-ului și heterozisului (Wang et al., 2005), echilibrul genomic al endospermului (Pennington et al., 2008), expresia și efectul de doză al genelor (Guo, Davis, Birchler, 1996; Riddle et al., 2010; Yao et al., 2011). Unii cercetători menționează și obținerea unor populații sintetice cu calități culturale valoroase (Харѳов, 2012).

În această lucrare prezentăm rezultatele cu privire la studiul unor particularități la formele diploide și tetraploide de porumb în genotipul cărora este incorporată gena *opaque-2(o2)*, utilizată în practica ameliorării porumbului la calitatea proteinei din bob.

### MATERIAL ȘI METODE

Cercetările au fost efectuate la catedra de Biologie vegetală a Universității Agrare de Stat din Moldova și în cadrul Institutului de Fitotehnie "Porumbeni" în anul 2013. În calitate de material biologic au servit hibridii simpli de porumb Chișiniovschi 307PL și hibridul Chișiniovschi 401 L, ambii având incorporat în genotip gena *o2*, ce determină un conținutul majorat de lizină în bob. Formele tetraploide ale acestor hibridi au fost obținute prin utilizarea colchicinei (Palii, Batîru, 2011).

În timpul vegetației plantelor s-a studiat influența posibilă a nivelului de ploidie asupra următoarelor caractere: înălțimea plantelor, lungimea și lățimea frunzei, înălțimea de inserție a știuletelui, lungimea internodului adiacent știuletelui, lungimea și numărul de ramuri ale paniculului, precum și, lungimea ramurii centrale a paniculului. După recoltarea știuților, au fost studiați principalii indici reproductivi: lungimea știuleților, diametrul știuletelui și rahisului, numărul de rânduri cu boabe, masa știuletelui, randamentul boabelor, gradul de umplere cu boabe, masa 1000 boabe și densitatea boabelor.

Analizelor biochimice ale boabelor au fost efectuate prin metoda de spectroscopiei în infraroșu la dispozitivul IR 4500 (SUA), aplicând și metode clasice, în laboratorul de biochimie al Institutului de Fitotehnie "Porumbeni" (șef de laborator, dr. E. Rotari). Datele colectate au fost prelucrate statistic în programul StatGraphics Centurion XV.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

La începutul perioadei de vegetație, atât plantele tetraploide (4x) obținute din hibridul Chișiniovschi 307 PL, cât și cele ale hibridului Chișiniovschi 401 L nu s-au deosebit semnificativ de plantele diploide (2x) originale de la care au fost obținute. Diferențe au fost observate ulterior după vigoarea plantelor, grosimea tulpinii, aspectul frunzelor și paniculului, care s-au accentuat treptat, spre maturizare, astfel că, în faza de înflorire, plantele tetraploide aveau un habitus diferit de cel al plantelor diploide de la care au provenit (fig. 1).

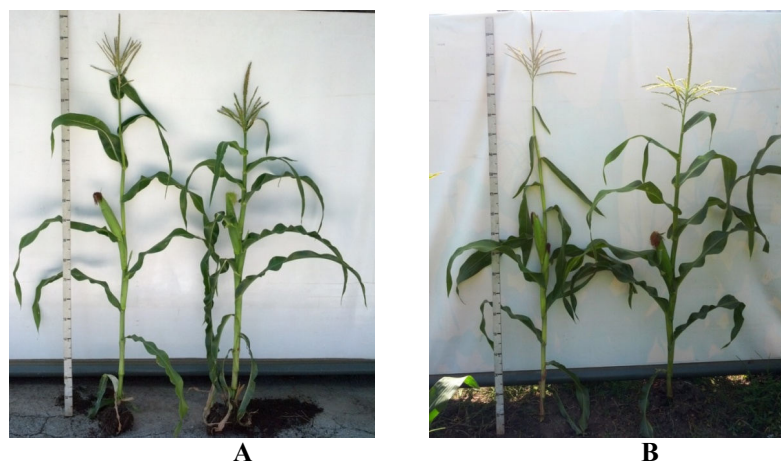


Fig.1. Aspectul fenotipic al unei plante diploide și tetraploide a hibridului Chișiniovschi 307 PL (A) și Chișiniovschi 401 L (B), anul 2013

Tabelul 1

Caractere morfologice ale plantelor diploide și tetraploide de porumb *opaque-2*

Caracterul	Genotipul			
	Chișiniovschi 307 PL		Chișiniovschi 401L	
	2x	4x	2x	4x
	M±m, cm	M±m, cm	M±m, cm	M±m, cm
Talia plantelor, cm	187,69±6,70	167,54±5,81*	195,61±10,32	196,67±14,36
Lungimea frunzei, cm	77,12±2,67	77,39±2,70	76,22±3,37	74,60±4,62
Lățimea frunzei, cm	8,37±0,27	8,41±0,40	9,44±0,37	11,87±0,63*
Înălțimea de inserție a știuletelui, cm	56,92±4,27	58,04±5,01	64,28±5,43	71,13±6,90
Lungimea internodului adiacent știuletelui, cm	15,21±0,77	12,32±0,59*	15,17±1,20	15,27±1,25
Lungimea paniculului, cm	30,69±1,28	33,36±1,26*	38,64±3,05	41,07±3,04
Numărul de ramuri ale paniculului, inclusiv centrală	15,39±1,59	11,61±1,56*	13,33±1,73	19,67±2,46*
Lungimea ramurii centrale a paniculului, cm	20,21±1,33	26,39±1,31*	28,00±1,79	28,33±3,26

\*P<0,05

Analiza statistică a indicilor studiați a arătat că la hibridul Chișiniovschi 307 PL diferențe semnificative s-au obținut după: talia plantelor, lungimea internodului adiacent știuletelui, numărul de ramuri ale paniculului și lungimea ramurii centrale a paniculului, iar diferențe nesemnificative – după lungimea și lățimea frunzei, înălțimea de inserție a știuletelui și lungimea paniculului (Tab.1).

În cazul hibridului Chișiniovschi 401 L, diferențe statistice s-au constatat doar după lățimea frunzei și numărul de ramuri ale paniculului, care s-au dovedit a avea valori mai mari comparativ cu forma diploidă. Această manifestare fenotipică este deosebită de cea a hibridului Chișiniovschi 307 PL. La acesta din urmă numărul de ramuri ale paniculului a fost mai redus la formele tetraploide, iar lățimea frunzei nu s-a deosebit.

Plantele tetraploide obținute din hibridul Chișiniovschi 307 PL au format știuleți cu o grosime mai mare ca știuleții diploizi, iar boabele dezvoltate au fost mai mari și repartizate în rânduri haotice. Știuleții tetraploizi ai hibridului Chișiniovschi 401 L nu s-au deosebit evident după grosime de cei de la forma diploidă, dar au dezvoltat boabe vădit mai mari (Fig.2 A, B). Gradul de umplere a știuleților la ambii hibridi tetraploizi a fost în majoritatea cazurilor mai redus.

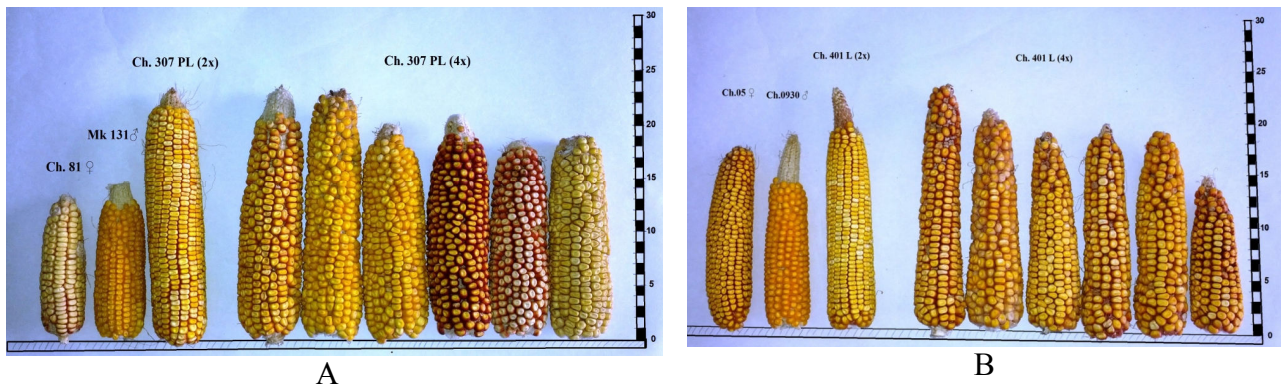


Fig. 2. Ştiuleţi diploizi şi tetraploizi ai hibridului Chişiniovschi 307 PL (A) şi Chişiniovschi 401 L (B), recolta 2013

Datele obţinute arată că la tetraploizii studiaţi se remarcă o depreciere a lungimii ştiuleţilor în raport cu hibridii iniţiali. La hibridul Chişiniovschi 307 PL, lungimea ştiuleţilor la tetraploizi a fost mai mare decât la formele diploide din generaţia a doua, totodată, valori mai mari s-au constatat şi după diametrul ştiuleţilor, diametrul rahisului, numărul de rânduri cu boabe şi masa a 1000 de boabe, iar valori mai scăzute la randamentul boabelor, gradul de umplere şi densitatea boabelor. La hibridul Chişiniovschi 401 L valori mai mari s-au constatat la randamentul boabelor şi masa a 1000 de boabe, iar valori mai reduse la gradul de umplere; ceilalţi indici se situează intermediar generaţiilor diploide studiate. Randamentul mai ridicat al boabelor la acest hibrid este legat de grosimea rahisului, ponderea căruia este mult mai mică comparativ cu cea a hibridului Chişiniovschi 307 PL, ce are un rahis evident mai gros. Manifestarea diferită a acestor doi hibridi indică influenţa genotipului în expresia caracterelor.

Tabelul 2

**Analiza unor caractere reproductive la formele diploide şi tetraploide de porumb *o2***

Caracterul	Chişiniovschi 307 PL			Chişiniovschi 401 L		
	2x		4x	2x		4x
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
Lungimea ştiuletelui, cm	22,13	16,18	19,23	22,00	18,13	18,07
Diametrul ştiuletelui, cm	4,70	4,23	5,07	4,68	3,80	4,50
Diametrul rahisului, cm	2,98	2,54	3,46	2,85	2,24	2,80
Numărul de rânduri cu boabe	16,87	15,09	17,81	18,00	14,50	14,90
Masa ştiuletelui, g	267,71	129,26	191,20	297,37	124,63	162,80
Randamentul boabelor, %	79,71	79,76	71,87	77,40	79,94	78,20
Gradul de umplere cu boabe, %	94,50	77,62	62,85	90,50	77,35	61,60
Masa 1000 boabe, g	272,20	231,70	319,20	272,10	228,10	386,00
Densitatea boabelor, g/ml	1,14	1,15	1,10	1,16	1,18	1,16

Analizele biochimice efectuate asupra materialului luat în studiu au scos în evidenţă unele deosebiri esenţiale dintre formele diploide şi tetraploide (Tab.3)

Tabelul 3

**Caracteristica biochimică a formelor diploide şi tetraploide de porumb *opaque-2*, recolta din anul 2013**

Indici	Chişiniovschi 307 PL		Chişiniovschi 401 L	
	2x	4x	2x	4x
Proteină	11,79	12,09	11,55	12,31
Amidon	71,70	69,88	71,88	70,16
Lipide	4,98	3,88	4,70	3,51
Celuloză	4,03	4,10	4,13	4,18
Lizină	0,49	0,54	0,49	0,48
Lizină/proteină, %	4,16	4,46	4,24	3,90

Astfel, s-a constatat că, dublarea nivelului de ploidie a contribuit la sporirea cantității de proteină în bob. Totodată, cantitatea de amidon și lipide, la tetraploizi, a avut tendința de a fi mai redusă decât la diploizi, iar cât privește conținutul celulozei, deosebiri esențiale nu s-au remarcat.

### CONCLUZII

1. La nivel tetraploid plantele de porumb devin, de regulă, mai scunde decât cele diploide inițiale, au o tulpină mai groasă, internoduri mai scurte, paniculul având ramura centrală mai groasă și mai lungă, iar numărul de ramificații ale paniculului și lățimea frunzei se modifică în dependență de genotip.

2. Principalii parametri ai știuleților tetraploizi (lungime, grosime, rânduri de boabe, grosimea rahisului, masa boabelor, randamentul de boabe, densitatea boabelor), manifestă dependență considerabilă față de genotipul inițial. De regulă, ploidia este însoțită de reducerea gradului de umplere al știuleților și, respectiv, o sporire a masei 1000 boabe.

3. Formele de porumb tetraploid *opaque-2* conțin un nivel mai ridicat de proteine și mai redus de amidon și lipidelor în boabe comparativ cu cele diploide, în timp ce conținutul de lizină și celuloză se modifică neesențial.

### REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. PALII, A., BATÎRU, G. Obținerea experimentală a formelor tetraploide de porumb opaque-2. In: Ameliorarea porumbului și utilizarea androsterilității citoplasmatică în producerea de semințe: materialele conf. inter. Chișinău, 2011, pp. 88-97.
2. КОВАРСКИЙ, А.Е., ОБЕРШТ, В.М., ЧАЛЫК, Т.С. Опыт селекции кукурузы на тетраплоидном уровне в условиях Молдавии. В: Известия АН МССР. Серия биол. и хим. наук, 1970, т. 4, с. 84-85.
3. ХАДЖИНОВ, М.И., ЩЕРБАК, В.С. Полиплоидия у кукурузы. В: Теоретические и практические проблемы полиплоидии. Москва: Наука, 1974, с. 27-42.
4. ХАТЕФОВ, Э.Б. Семенная продуктивность тетраплоидной кукурузы и пути её повышения в условиях Кабардино-Балкарии: Автореф. дисс. др. биол. наук. Санкт-Петербург, 2012. 45 с.
5. ALEXANDER, D.E., BECKET, J.B. Spontaneous triploidy and tetraploidy in maize. In: Journal of Heredity. 1963, vol. 54, nr 3, pp. 103-106.
6. GUO, M., DAVIS, D., BIRCHLER, J.A. Dosage effects on gene expression in a maize ploidy series. In: Genetics. 1996, vol. 142, pp. 1349-1355.
7. PENNINGTON, P.D. et al. When genomes collide: aberrant seed development following maize interploidy crosses. In: Ann. Bot. 2008, vol. 101, pp. 833-843.
8. RANDOLPH, L.F. Some effects of high temperature on polyploidy and other variations in maize. In: Proc. Natl. Acad. Sci. 1932, vol. 18, pp. 222-229.
9. RIDDLE, N.C., KATO, A., BIRCHLER, J.A. Genetic variation for the response to ploidy change in *Zea mays* L. In: Theor. Appl. Genet. 2006, vol. 114, pp. 101-111.
10. RIDDLE, N.C., BIRCHLER, J.A. Comparative analysis of inbred and hybrid maize at the diploid and tetraploid levels. In: Theor. Appl. Genet. 2008, vol. 116, pp. 563-576.
11. RIDDLE, N.C. et al. Gene expression analysis at the intersection of ploidy and hybridity in maize. In: Theor. Appl. Genet. 2010, vol. 120, pp. 341-353.
12. SOCKNESS, B.A., DUDLEY, J.W. Morphology and yield of isogenic diploid and tetraploid maize inbreds and hybrids. In: Crop Sci. 1989a, vol. 29, pp. 1029-1032.
13. SOCKNESS, B.A., DUDLEY, J.W. Performance of single and double cross autotetraploid maize hybrid with different levels of inbreeding. In: Crop Sci. 1989b, vol. 29, pp. 875-879.
14. UDALL, J.A., WENDEL, J.F. Polyploidy and crop improvement. In: Crop. Sci. 2006, vol. 46(S1), pp. S3-S14.
15. WANG, Ze-li et al. The quadruplex tetraploids hybrids and duplex tetraploids hybrids are responsible for heterosis and inbreeding depression in maize. In: Agr. Sci., China. 2005, nr 4(7), pp. 486-493.
16. YAO, H. et al. Phenotypic and gene expression analyses of a ploidy series of maize inbred Oh43. In: Plant. Mol. Biol. 2011, vol. 75, pp. 237-251.