

7. LOVÁNNIKOV, P. T. Èkonomičskaâ èffektivnost' proizvodstva èfiromasličnyh cul'tur v Moldavii. Kišinev: Kartâ Moldovenâskè, 1965. 148 s.

CZU 633.15:631.527.7

## CU PRIVIRE LA STUDIUL UNOR FORME TETRAPLOIDE DE PORUMB *OPAQUE-2*

**BATÎRU Gr.**

**Universitatea Agrară de Stat din Moldova**

**Summary.** This paper aims to present the results on study of tetraploid maize forms containing *opaque-2(o<sub>2</sub>)* gene that determines a high lysine content in grain protein, so as to harness the biochemical effect of this mutation at the tetraploid level. Tetraploid *o<sub>2</sub>* forms develop thicker cobs with bigger grains in irregular rows. Grain weight is higher for tetraploids and their component parts (embryo, endosperm, pericarp+tip cap) show high variability in their weight and quotas. Analysis of the segregation pattern of *o<sub>2</sub>* mutation of maize tetraploid forms showed random chromosomal segregation in a phenotypic ratio of 35:1, which is confirmed by  $\chi^2$  test application. With ploidy level increased the amount of grain protein and fat content was reduced. Lysine content in grain protein containing *o<sub>2</sub>* gene increased in proportion to the dose level in triploid and, partly, in the hexaploid endosperm.

**Key words:** diploids, lysine, *opaque-2*, tetraploids, *Zea mays L.*

### INDRODUCERE

Poliploidia este un fenomen larg răspândit în natură și a jucat un rol important în evoluție și ameliorarea plantelor (Udall, Wendel, 2006). Porumbul (*Zea mays L.*) s-a răspândit în cultură în formă diploidă ( $2x=20$ ) și nu are forme poliploide naturale, cu excepția triploizilor, care apar rar și sunt, de regulă, sterili (Alexander, Becket, 1963). Din seria poliploidă experimentală a porumbului, importanța practică prezintă formele tetraploide ( $4x=40$ ) caracterizate prin unele particularități morfologice, fiziologice și biochimice valoroase, dar și prin unele particularități negative ca: fertilitatea redusă, dezvoltare mai lentă, perioadă de vegetație mai lungă, productivitate scăzută, ș.a., astfel că, aceștia nu concurează cu cei mai buni hibrizi diploizi (Коварский, Обершт, Чалык, 1970; Хаджинов, Щербак, 1974; Sockness, Dudley, 1989). Cercetările efectuate în ultimul timp au relevat posibilități vaste de exploatare a genomului tetraploid în studii privind 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), dar și obținerea unor populații sintetice cu calități culturale valoroase (Харѣфов, 2012).

În cadrul Universității Agrare de Stat din Moldova, se studiază posibilitatea utilizării poliploidiei în ameliorarea porumbului la calitatea bobului. În această lucrare prezentăm rezultatele cu privire la studiul unor forme tetraploide de porumb în genotipul cărora s-a încorporat gena *opaque-2(o<sub>2</sub>)*, care condiționează un conținut înalt de lizină în proteina din bob, în vederea valorificării efectului biochimic al acestei mutații la nivel tetraploid.

### MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetările au fost efectuate la catedra de Biologie vegetală a Universității Agrare de Stat din Moldova și în cadrul Institutului de Fitotehnie "Porumbeni" în anii 2010-2013 sub conducerea m. cor. al AȘM, profesorului universitar Andrei Paliu. Ca material inițial au servit hibridul simplu de porumb cu conținutul majorat de proteină și lizină Chișiniovschi 307PL, cu endospermul *o<sub>2</sub>*, hibridul simplu Porumbeni 331Mrf și populația tetraploidă sintetică B cu consistența normală

(obișnuită) a endospermului. Aplicarea colchicinei în concentrație de 0,15% cu adaos de dimetilsulfoxid prin injecție în faza de 3-4 frunze în zona apexului asupra plantulelor hibridului Chișiniovschi 307PL, a permis obținerea formelor tetraploide  $o_2$ , incluse în cercetările ulterioare (Palii A., Batfîru Gr., 2011).

După recoltare a fost evaluată cota fracțiilor anatomice ale boabelor (endosperm, embrion, pericarp+vârf) prin separarea și cântărirea la balanța de torsionare a fiecărei fracții în cadrul mai multor știuleți-familii ale formei tetraploide  $o_2$ , (în comparație cu forma diploidă inițială), hibridului simplu diploid Porumbeni 331Mrf, dar și a sinteticului tetraploid B. Această metodă a fost aplicată și în cazul boabelor segregante după gena  $o_2$  de pe știuleții tetraploizi.

Analiza biochimică a boabelor a fost efectuată prin metoda spectroscopiei în infraroșu la dispozitivul de model IR 4500 (SUA) în laboratorul de biochimie al Institutului de Fitotehnie "Porumbeni", sub conducerea d-lui doctor în biologie Rotari Eugen și suportul consultativ al d-lui dr. hab. Rotari Alexandru, iar conținutul aminoacizilor proteici a fost determinat prin metoda cromatografiei de schimb ionic la aminoanalizatorul automat de tip T339M în laboratorul *Fiziologia stresului, Adaptării și Sanocreatologiei Generale* al Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM sub îndrumarea nemijlocită a d-nei doctor în biologie Svetlana Garaeva, căroră autorul lucrării le aduce sincere mulțumiri.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Știuleții dezvoltați pe plantele tetraploide  $o_2$  au avut o grosime mai mare ca știuleții diploizi, boabele formate au fost mai mari și repartizate în rânduri neregulate, însă umplerea cu boabe a știuleților a fost, în majoritatea cazurilor, mai slabă. Masa medie a unui bob tetraploid a fost mai mare cu aproximativ 18% decât cea a unui bob diploid, dar au fost și familii care au cedat diploizilor în medie cu 7% în greutate.

Printre familiile tetraploide  $o_2$  au fost și unele ale căror boabe și-au menținut nivelul de umplere chiar și în condiții neprielnice, cum au fost cele din anul 2012, ceea ce denotă posibilitatea de selectare a unor forme tetraploide valoroase. Studiul cu privire la modificările structural-anatomice ale boabelor determinate de nivelul de ploidie a relevat că masa embrionului la boabele tetraploide  $o_2$  a sporit diferit cu aceeași tendință la unele dintre forme de a avea un avantaj substanțial față de diploizi.

De asemenea, pericarpul boabelor s-a dovedit a fi mai gros și nemijlocit mai greu comparativ cu cel al boabelor diploide. Analiza cotei fracțiilor în bob a demonstrat că la unii știuleți tetraploizi, embrionii au avut o pondere mai mare în bob ( $\approx 14\%$ ), iar la alții o cotă sau la nivelul diploizilor ( $\approx 12\%$ ), sau sub nivelul acestora (9-11%). Cota pericarpului la tetraploizi, la fel, a avut o pondere mai mare (7-12%) comparativ cu diploizii (6%).

În studiu a fost analizat și modul de segregare a genei  $o_2$  la formele tetraploide (cromozomală sau cromatidică aleatorie). După cum se cunoaște, gena  $o_2$  este o genă recesivă, situată în cromozomul 7 în locusul 16 în apropiere de centromer și la formele diploide se moștenește monogenic segregând în generația a doua într-un raport clasic mendelian de 3:1 (Палий А. Ф., 1989; Vasal S. K., 2001).

În cazul tetraploizilor, analiza știuleților din generația a doua ( $F_2$ ) obținuți prin autopolenizarea unui duplex  $O_2O_2o_2o_2$  a rezultat un raport empiric de segregare de 34,33:1, aproape de segregarea teoretică 35:1. În urma aplicării testului  $\chi^2$  privind monohibridarea după gena  $o_2$  am obținut o valoare  $\chi^2=0,055$ , ceea ce a demonstrat că gena  $o_2$  se transmite la tetraploizii porumbului după modelul segregării cromozomale aleatorii.

Analizele biochimice efectuate asupra materialului luat în studiu au scos în evidență unele deosebiri (tab. 1).

La formele tetraploide  $o_2$  nivelul de proteină în bob a fost în medie cu 17% mai mare față de forma diploidă mutantă Chișiniovschi 307 PL și cu 30% mai mare decât la hibridul diploid Porumbeni 331 MRF cu endospermul obișnuit, iar față de sinteticul B tetraploid, nu s-au constatat

diferențe.

Conținutul de lipide în boabele tetraploide a fost mai scăzut comparativ cu cel al formei diploide mutante și, practic, la un nivel cu cel din boabele diploide normale, iar conținutul celulozei a fost similar cu cel din boabele diploide.

**Tabelul 1. ANALIZA BIOCHIMICĂ A BOABELOR DIPLOIDE ȘI TETRAPLOIDE DE PORUMB, RECOLTA 2011**

Genotipul	Ploidia	% din substanța uscată a bobului			
		proteină	amidon	lipide	celuloză
Porumbeni 331 MRf +/+	2x	10,93	70,91	4,82	...
Sinteticul B +/+	4x	13,04	69,58	3,72	3,77
Chișiniovschi 307 PL $o_2$	2x	12,05	71,88	4,98	4,03
	4x	14,07	68,71	3,88	4,03

Cu mărirea nivelului de ploidie la formele  $o_2$  s-a constatat și o tendință de sporire a conținutului unor aminoacizi proteinogeni cum sunt acidul aspartic, treonina, serina, acidul glutamic, tirozina, alanina, reducerea conținutului de prolină, glicină, valină, cisteină, izoleucină, histidină, arginină, iar conținutul de leucină, lizină, metionină și amoniac, a prezentat o tendință neclară.

Unul din obiectivele cercetării a fost studiul mai aprofundat al influenței mutației  $o_2$  asupra conținutului de aminoacizi, în mod special lizina, în formele de porumb tetraploid în dependență de numărul de doze.

Datorită constituției triploide a endospermului la boabele diploide și hexaploidă la cele tetraploide am obținut la formele diploide genotipuri ce conțin în endosperm 0, 1, 2, 3 alele (doze) a unei gene, iar la cele tetraploide, respectiv a unor forme ce conțin 0, 2, 4, 6 doze a genei în endosperm.

Rezultatele au arătat că conținutul de lizină a crescut proporțional cu doza doar la nivel diploid, iar la nivel tetraploid a variat cu o tendință neclară de reducere în varianta ce conține 4 doze din 6 posibile. Totuși în endospermul ce conține doza maximă de 6 alele recesive  $o_2$  conținutul de lizină a fost superior tuturor celorlalte doze de la nivelul diploid și tetraploid.

Este de menționat și efectul pleiotropic al dozei genei  $o_2$  asupra celorlalți aminoacizi. La formele diploide și tetraploide, un spor al conținutului de aminoacizi conform numărului de doze  $o_2$  s-a constatat și la arginină, iar conținutul de glicină la formele diploide a tins să crească, iar la tetraploizi – să descrească.

### CONCLUZII

1. La nivel tetraploid știuleții de porumb sunt mai groși, rândurile cu boabe se repartizează neregulat, boabele sunt mai mari cu masa variabilă în raport cu boabele diploide.
2. Sub influența nivelului de ploidie masa fracțiilor anatomice ale boabelor au avut un caracter variabil, iar cota lor în bobul întreg a prezentat unele valori pozitive pentru embrion și pericarp.
3. Gena recesivă  $o_2$  în genomul formelor tetraploide, la fel ca și la cele diploide, se moștenește monogenic, conform legilor mendeliene ale eredității, segregând în generația  $F_2$  într-un raport de 35:1.
4. Dublarea numărului de cromozomi la porumbul diploid a fost însoțită de un spor al cantității de proteine în bob și de o reducere a conținutului de grăsimi. Conținutul de lizină în proteina din boabele ce posedă gena  $o_2$  crește proporțional cu mărirea numărului de doze în endosperm, la nivel diploid și parțial la nivel tetraploid.

### BIBLIOGRAFIE

1. PALII, A., BATÎRU, G. Obținerea experimentală a formelor tetraploide de porumb opaque-2. În: *Ameliorarea porumbului și utilizarea androsterilității citoplasmice în producerea de semințe*. Materialele conf. intern. cons. m. cor.al AȘM Tihon Cealnic – 90 ani de la naștere. Chișinău, 2011. p. 88-97.

2. КОВАРСКИЙ, А. Е., ОБЕРШТ, В. М., ЧАЛЫК, Т. С. Опыт селекции кукурузы на тетраплоидном уровне в условиях Молдавии. Изв. АН МССР, сер. биол. и хим. наук, 1970, т. 4. с. 84-85.
3. ПАЛИЙ, А. Ф. Генетические аспекты улучшения качества зерна кукурузы. Кишинёв, 1989. 175 с.
4. ХАДЖИНОВ, М. И., ЩЕРБАК, В. С. Полиплоидия у кукурузы. Теоретические и практические проблемы полиплоидии. Москва: Наука, 1974. с. 27-42.
5. 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.
6. ALEXANDER, D. E., BECKET, J. B. Spontaneous triploidy and tetraploidy in maize. Journal of Heredity, 1963, Vol. 54, №3. p. 103-106.
7. GUO, M., DAVIS, D., BIRCHLER, J. A. Dosage effects on gene expression in a maize ploidy series. Genetics, 1996. 142, p. 1349 – 1355.
8. PENNINGTON, P. D., et al. When genomes collide: aberrant seed development following maize interploidy crosses. Ann. Bot., 2008. p. 101, 833-843.
9. RIDDLE, N. C. et al. Gene expression analysis at the intersection of ploidy and hybridity in maize. Theor. Appl. Genet., 2010. p. 120, 341–353.
10. RIDDLE, N. C., KATO, A., BIRCHLER, J. A. Genetic variation for the response to ploidy change in Zea mays L. Theor. Appl. Genet., 2006. p. 101–111.
11. RIDDLE, N. C., BIRCHLER, J. A. Comparative analysis of inbred and hybrid maize at the diploid and tetraploid levels. Theor. Appl. Genet., 2008. p. 116, 563–576.
12. SOCKNESS, B. A., DUDLEY, J. W. Morphology and yield of isogenic diploid and tetraploid maize inbreds and hybrids. Crop Sci., 1989. p. 1029 – 1032.
13. UDALL, J. A., Wendel J. F. Polyploidy and crop improvement. Crop. Sci., 2006, 46 (S1), p. S3-S14.
14. VASAL, S. K. High quality protein corn. Specialty corns, Arnel R. Hallauer, 2nd ed. CRC Press, 2001. p. 93-137.
15. WANG, Ze-li et al. The quadraplex tetraploids hybrids and duplex tetraploids hybrids are responsible for heterosis and inbreeding depression in maize. Agr. Sci. China, 2005, 4(7). p.486-493.
16. YAO, H. et al. Phenotypic and gene expression analyses of a ploidy series of maize inbred Oh43. Plant. Mol. Biol., 2011. p. 237-251.

CZU 633.11:631.5

## ANALIZA CONSUMULUI ȘI A RANDAMENTULUI DE CONVERSIE A ENERGIEI INVESTITE ÎN AGROECOSISTEMUL GRÎULUI DE TOAMNĂ

*RACoviȚA Gh.*

**Universitatea Agrară de Stat din Moldova**

**Summary.** This article deals with the research of the energy values of winter wheat agroecosystems in terms of production, crop year 2012, the emphasis being placed on analysis of the technological sheet used.

Study of energy indices invested in winter wheat agro ecosystems provides information on improving the energy efficiency of each single point and denotes criteria of technologies implementation that will ensure the consumption reduction in energetic agro ecosystems and enhance production profitability, while protecting biotic and a biotic elements. Research has shown that there is a significant difference between the harvest values and conversion coefficient of energy invested in winter wheat Flore (weeds), the average yield obtained in the field and the one declared by the entrepreneur.

Detailing and using the energy balance for each link by setting the share of energy spent indicate possible ways of improving the efficiency of processes, which induce further production and distribution in the agro-food sector. The current system of practiced agriculture is an extensive one that due to lack of reasonable investment and ratings at the energetic level exhausts parts of agroecosystem, including the potential fertility of the soil.

**Key words:** agro, energy conversion, potential and real yield, winter wheat, yield.

### INTRODUCERE

Conceptul de agroecosistem exprimă corelația dintre mediul înconjurător și activitatea societății umane. Pentru supravețuire, agroecosistemele au fost create de om în locul ecosistemelor