

EVALUAREA NIVELULUI DE PLOIDIE LA UNELE FORME DE PORUMB CE CONȚIN GENA *OPAQUE-2*

Batîru Gr.¹, Șestacova Tatiana², Nechifor Victoria²

¹Universitatea Agrară de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

²Universitatea Academiei de Științe a Moldovei, Chișinău, Republica Moldova

Porumbul (*Zea mays* L.) este o specie diploidă cu 10 cromozomi în setul de bază. Forme poliploide la porumb au fost obținute pe cale experimentală. Din seria poliploidă experimentală a porumbului prezintă interes formele tetraploide ($4x=40$) care se caracterizează prin unele trăsături morfologice, fiziologice și biochimice valoroase. Cu ridicarea nivelului de ploidie cantitatea de ADN în celule se dublează și respectiv sporesc dimensiunile celulelor. Studiile asupra formelor tetraploide de porumb, au demonstrat că volumul celulelor este dublu doar în fazele meristematice, ulterior atenuându-se odată cu diferențierea celulelor. Această presupune, respectiv, că cantitatea de ADN în unitatea de masă a țesuturilor să difere la formele diploide și tetraploide în dependență de diferența de volum a celulelor.

În cadrul Universității Agrare de Stat din Moldova, se studiază posibilitatea utilizării poliploidiei în ameliorarea porumbului la calitatea bobului, iar una din etapele studiului a fost și confirmarea dublării materialului genetic prin determinarea numărului de cromozomi în celule și a cantității de ADN în masa uscată a frunzelor la formele diploide și tetraploide de porumb.

Cercetările au fost efectuate în cadrul Universității Agrare de Stat din Moldova și în laboratorul Genomica al Centrului Universitar Biologie Moleculară al Universității Academiei de Științe a Moldovei. În calitate de material biologic au servit: hibridul simplu Chișiniovski 307 LP, diploid ($2x=20$), ce încorporează în genotip gena *opaque-2* care contribuie la majorarea conținutului unor aminoacizi esențiali în bob (lizină, triptofan), forme tetraploide ($4x=40$) ale acestui hibrid, obținute prin tratare cu colchicină în anul 2010 și sinteticul tetraploid B cu endospermul normal. Nivelul de ploidie a fost confirmat citologic prin metoda de fixare cu alcool acetic și colorare cu acetocarmin a rădăcinuțelor embrionare pregătite prin presare și studiate la microscopul optic B490A. Aceasta a fost confirmată și prin studiul dimensiunilor grăuncioarelor de polen la plante în timpul înfloririi, care a relevat că polenul formelor tetraploide se deosebește de cel al formelor diploide prin dimensiuni mai mari cu până la 50%.

Analiza cantitativă a conținutului de ADN din frunzele plantelor diploide și tetraploide de porumb a fost efectuată prin metoda de izolare cu CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) și cuantificarea probelor la spectrofotometrul T60 UV-VIS (PG Instruments Limited).

În urma analizei citologice a constatat că numărul de cromozomi în meristema radiculară a embrionilor tetraploizi este dublu față de cel al diploizilor. În rezultatul studiului cantității de ADN s-a stabilit că conținutul acestuia în frunzele formei diploide a constituit în medie $296,3 \mu\text{g/g}$ masă uscată (m.u.), la formele tetraploide o_2 a fost de $400,59 \mu\text{g/g}$ m.u., iar la sinteticul B – $392,20 \mu\text{g/g}$ m.u. La formele tetraploide, valorile obținute au variat de la un minim de $226,33 \mu\text{g/g}$ m.u. la un maxim de $616,92 \mu\text{g/g}$ m.u. și s-au repartizat histogramic într-o curbă Gaussiană, fapt ce arată că cantitatea de ADN la unitate de masă este o valoare cantitativă. Diferența medie a formelor tetraploide față de cea diploidă după acest indice reprezintă aproximativ 1,3 ori, ceea ce înseamnă că volumul celulelor în frunzele tetraploizilor nu se dublează, dar depășește pe cele diploide în medie de 0,7 ori, adică cu 70%.

Astfel, în urma analizei rezultatelor obținute putem conchide că odată cu ridicarea nivelului de ploidie la porumb cantitatea de ADN în celule se dublează și respectiv dimensiunile celulelor sporesc, însă la nivelul țesuturilor specializate diferența nu se păstrează, ceea ce determină valori variabile ale conținutului de material genetic la o unitate de masă.