

Batîru Grigorii, Palii Andrei, Comarov Galina, Cojocari Dumitru  
Universitatea Agrară de Stat din Moldova  
(Chisinau, Republica Moldova),  
Rotari Eugen  
Institutul de Fitotehnie „Porumbeni” (Pașcani, Republica  
Moldova)

ANALIZA UNOR INDICI BIOCHIMICI LA POPULAȚII DE PORUMB TETRAPLOID  
CE CONȚIN GENA OPAQUE2

**Abstract.** Una din limitările în utilizare a porumbului este conținutul scăzut de proteină în bob, dar și valoare biologică redusă cauzată de deficiențe în lizină și triptofan. Scopul cercetării constă în studierea conținutului de proteină, lizină, lipide, amidon, cenușă și celuloză în boabele la 2 hibrizi diploizi și 14 populații tetraploide ce conțin gena *opaque2*, utilizată în practica de ameliorare pentru efectul său biochimic de a majora conținutului de lizină în proteină. Metoda de determinare utilizată a fost spectroscopia IR. În boabele tetraploide de porumb cu gena *opaque2*, comparativ cu boabele diploide, s-a constatat un spor de circa 1-2 % absolute a nivelului de proteină în bob, un nivel mediu mai ridicat la lizină și o tendință de micșorare a conținutului de lipide. Dacă însă se raportează conținutul de lizină la cel de proteină, diferențe, practic nu există între diploizi și tetraploizi. Astfel, tetraploizii de porumb nu se deosebesc esențial de diploizi la nivelul indicilor biochimici studiați. Formele tetraploide obținute pot servi ca model de studiu al variabilității genetice determinate de mutații.

**Cuvinte cheie:** porumb, diploid, tetraploid, genă, *opaque2(o2)*, proteină, lizină.

Batîru Grigorii, Palii Andrei, Comarov Galina, Cojocari Dumitru  
State Agrarian University of Moldova  
(Chisinau, Republic of Moldova)  
Rotari Eugen \*Institute of Crop Science „Porumbeni”  
(Pascani, Republic of Moldova)

ANALYSIS OF BIOCHEMICAL INDICES IN TETRAPLOID MAIZE POPULATIONS  
CONTAINING OPAQUE2 GENE

**Abstract.** One of the limitations in the use of maize is the low protein content in the grains, but also the low biological value caused by deficiencies in lysine and tryptophan. The purpose of the study is to study the protein, lysine, lipid, starch, ash and cellulose content in the grains of 2 diploid hybrids and 14 tetraploid populations containing the *opaque2 (o2)* gene used in the amelioration practice for its biochemical effect to increase lysine content in protein. The method of determination used was IR spectroscopy. In tetraploid grains of maize with the *opaque2* gene, compared to diploids, there was an increase of about 1-2% absolute protein level, a higher mean value of lysine and a tendency to decrease the lipid content. However, if the lysine content is related to the protein content, there are virtually no differences between diploids and tetraploids. Thus, maize tetraploids do not differ essentially from diploids to the biochemical indexes studied. The tetraploid forms obtained may serve as a model for the study of genetic variability caused by mutations.

**Keywords:** maize, diploid, tetraploid, gene, *opaque2 (o2)*, protein, lysine.

INTRODUCERE

Una din limitările în utilizare a porumbului este legată de conținutul relativ scăzut de proteină în bob (circa 10%), care are o valoare biologică redusă cauzată de deficiențe în unii aminoacizi esențiali (lizina, triptofanul) [1]. Prin metode de ameliorare, cum este selecția [2], mutagenеза [3], hibridare îndepărtată [4] și poliploidia [5], conținutul de proteină se poate majora, dar nu se referă și la calitatea acesteia, sporul fiind determinat preponderent de zeină, o fracție proteică alcool solubilă, limitată în lizină.

La porumb se cunosc mai multe gene care modifică acest raport, însă în practica de ameliorare, se utilizează în special gena *opaque2*, situată în cromozomul 7, implicată în reglarea sintezei zeinelor - proteine de rezervă din endosperm [6]. Având în vedere posibilitățile de majorare a conținutului de proteine prin poliploidie și a valorii biologice – prin utilizarea genei *o2*, scopul cercetării constă în studierea unor componente biochimice ai boabelor de porumb îmbinând mutații genice și genomale.

MATERIAL ȘI METODE

Ca material de cercetare au servit populații de porumb tetraploid cu gena *opaque2* create la Catedra Biologie vegetală a Universității Agrare de Stat din Moldova din germoplasmă de origine locală, dar și din unii hibrizi străini. Ca surse pentru gena *o2*, dar și ca control diploid, au servit doi hibrizi speciali omologați în Republica Moldova, Chișiniovski 307 PL și Chișiniovski 401 L. Acești hibrizi au fost anterior transferați la nivel tetraploid, și utilizați în continuare la crearea populațiilor tetraploide *o2*.

Inducerea tetraploidiei la formele de porumb studiat, s-a realizat prin utilizarea alcaloidului colchicina [7]. Pentru a reduce timpul necesar creării populațiilor, știuleții hibrizilor tratați cu colchicină au fost polenizați cu polen de la formele tetraploide *o2*, astfel fiind obținute boabe tetraploide hibride chiar din primul an [8], iar în anul următor

segregare, și respectiv boabe cu endosperm o2 din combinație. Aceste boabe au fost reproduse prin polenizare artificială intrapopulațională.

Pentru cercetare au fost prelevate probe de boabe din recolta anului 2016. Sectorul de reproducere a materialului experimental a fost amplasat în satul Coșenița, raionul Criuleni, Zona de Centru a Republicii Moldova. Condițiile meteorologice din perioada de vegetație au fost sub optimul necesar, determinat de deficitul hidric din perioada de înflorire și umplere a boabelor.

Analizele biochimice ale boabelor diploide și tetraploide o2 au fost efectuate prin metoda de spectroscopie în infraroșu [9] la dispozitivul IR 4500 (SUA), aplicând și metode clasice. Aceste analize au fost efectuate în laboratorul de biochimie al Institutului de Fitotehnie, "Porumbeni" sub conducerea d-lui dr. E. Rotari.

#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Condițiile specifice ale anului de cercetare au determinat formarea știuleților cu diferit grad de umplere cu boabe (Fig.1).

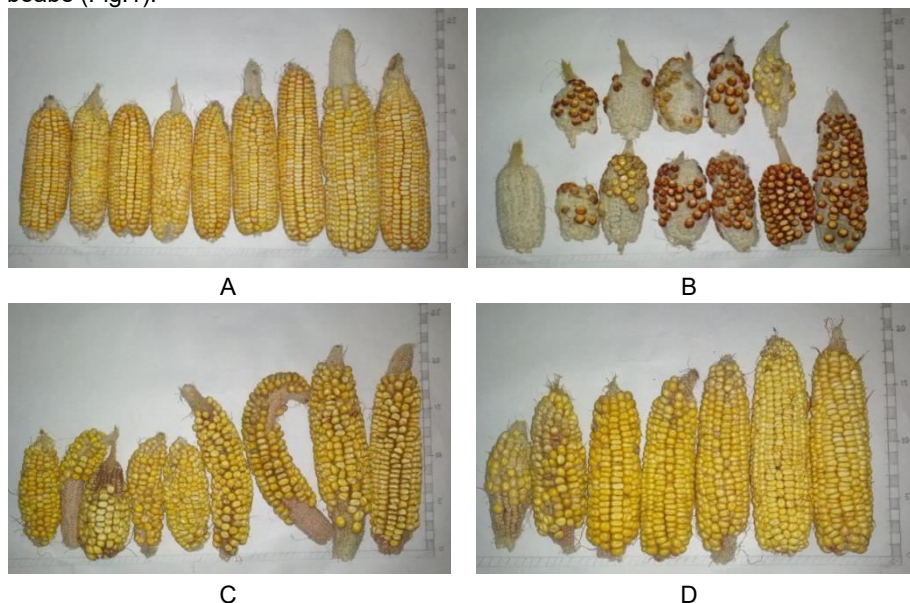


Fig.1. Știuleți de porumb din diferite genotipuri: Chîșiniovski 307 PL 2x (A), C307 4x (B), SP 383 4x (C), SP 461 4x (D).

Formele studiate au fost afectate în mod diferit, unele mai puternic, în special în rândul celor tetraploide, iar alte populații, deși au fost afectate, au format știuleți relativ bine umpluți.

Se cunoaște că conținutul de proteine în boabe este influențat direct de condițiile de creștere din perioada de vegetație. De obicei, în condiții de stres, boabele au un conținut mai ridicat de proteine, comparativ cu boabele crescute în condiții optime. Totodată, un rol important îl are și gradul de umplere: dacă boabele sunt rare pe știuleți, nivelul proteinei de asemenea este mai ridicat. Aceasta este caracteristic știuleților tetraploizi de porumb, care de regulă au rânduri neregulate, multe boabe aneuploide cu endosperm defect, cât și ovule avortate, ce crează multe spații între boabe. De regulă, cu cât gradul de heterozigoție la formele tetraploide este mai ridicat, cu atât meioza decurge mai normal, rândurile cu boabe sunt mai drepte și mai complete (Fig.1 C, D), iar dacă se autopolenizează, defectele știuleților sporesc cu fiecare generație.

Pentru a reduce influența factorilor enumerați asupra conținutului de proteine, și respectiv a altor indici biochimic, pentru analiză au fost selectați știuleții cu cel mai ridicat grad de umplere cu boabe. Rezultatele analizei biochimice sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Indicii biochimici principali la forme de porumb diploid și tetraploid cu gena *opaque2*

Nr. d/o	Genotipul, populația	Ploidia	În % din substanța uscată						
			proteină	lizină	lizină/proteină	lipide	amidon	cenușă	celuloză
1	Ch.307 PL	2x	12.77	0.49	3.84	4.69	71.23	1.32	3.94
2	Ch.401 L	2x	12.22	0.33	2.70	4.76	71.00	1.32	3.93
3	C307	4x	13.32	0.55	4.13	4.33	69.93	1.33	3.92
4	C401	4x	12.91	0.39	3.02	4.79	69.33	1.33	3.91
5	C34	4x	13.33	0.49	3.68	3.75	70.28	1.31	3.95
6	SP 270	4x	12.67	0.41	3.24	4.51	70.94	1.32	3.94
7	SP 383	4x	13.25	0.50	3.77	4.57	70.34	1.33	3.93
8	SP 369	4x	12.77	0.48	3.76	4.45	71.03	1.31	3.95
9	SP 458	4x	13.35	0.53	3.97	4.58	70.45	1.33	3.93
10	SP 459	4x	13.41	0.53	3.95	4.40	70.09	1.33	3.93
11	SP 461	4x	12.41	0.39	3.14	4.19	70.51	1.32	3.95
12	SLG 2306	4x	13.33	0.49	3.68	4.38	70.55	1.32	3.93
13	SLG 3232	4x	12.92	0.47	3.64	4.27	70.43	1.32	3.94

14	SLG 3330	4x	13.16	0.51	3.88	4.66	70.44	1.33	3.92
15	SFA	4x	13.77	0.49	3.56	4.37	69.05	1.33	3.91
16	C34-181	4x	12.91	0.46	3.56	4.57	70.51	1.32	3.91

Din datele obținute se poate remarca o variabilitate mare a conținutului de proteine în cadrul populațiilor. Per ansamblu se poate constata un nivel mediu mai ridicat cu cca 1-2% absolute la tetraploizi, ceea ce este caracteristic pentru porumb la acest nivel de ploidie. De asemenea, un conținut mediu mai ridicat se observă la lizină în boabele tetraploide și o tendință de micșorare a conținutului de lipide. Dacă însă se raportează conținutul de lizină la cel de proteină, se constată că diferențe, practic nu există între diploizi și tetraploizi.

La formele diploide, se cunoaște că gena *o2* are efect de doză în endosperm asupra conținutului de lizină în proteină, valoarea maximă fiind la trei doze [10]. La tetraploizi, asemenea efect nu a fost constatat [11], însă în cercetările noastre anterioare am observat modificări în dependență de doză, ceea ce necesită studiere suplimentară [12]. În cazul de față gena *o2* la nivel tetraploid își păstrează acțiunea ca la nivel diploid.

Având în vedere rezultatele obținute, se poate menționa că tetraploizii de porumb nu se deosebesc esențial de diploizi la nivelul indicilor biochimici studiați, și în practică pot avea utilitate doar în populații sintetice înalt heterozigote, ca să formete știuleți compleți. Pentru aceasta este necesară alegerea corectă a genotipurilor pentru transfer la nivel tetraploid. În același timp, aceste forme speciale de porumb pot fi utilizate în scopuri didactice și științifice, servind ca model de studiu al mutațiilor genice și genomale.

#### CONCLUZII

Ca urmare a analizei biochimice ale boabelor tetraploide de porumb cu gena *opaque2* comparativ cu cele diploide, s-a constatat un spor de circa 1-2 % absolute a nivelului de proteină în bob, un nivel mediu mai ridicat la lizină și o tendință de micșorare a conținutului de lipide. Dacă însă se raportează conținutul de lizină la cel de proteină, diferențe, practic nu există între diploizi și tetraploizi. Astfel, tetraploizii de porumb nu se deosebesc esențial de diploizi la nivelul indicilor biochimici studiați. Formele tetraploide obținute pot servi ca model de studiu al variabilității genetice determinate de mutații.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Palii A. Studiul și utilizarea variabilității genetice în ameliorarea calității bobului la specia *Zea mays* L. *Academos*, nr. 4(11), 2008, p.66-71.
2. Dudley J.W., Lambert R. J. 100 Generations of selection for oil and protein in corn. In: *Plant Breed Rev*, 2004, vol.24, p.79 – 110.
3. Lysikov V. N. Experimental mutagenesis of corn. In: *Maize newsletter*, 1998, vol.72,40-43.
4. Wang L., Xu C., Qu M., Zhang J. Kernel amino acid composition and protein content of introgression lines from *Zea mays* spp. mexicana into cultivated maize. In: *J Cereal Sci*, 2008, vol.48, p.387-393.
5. Ellis G. H., Randolph L. F., Matrone G. A comparison of the chemical composition of diploid and tetraploid corn. In: *Journ Agric Research*, 1946, vol.72, №3, p.123-130.
6. Плотников В. К. К 40-летию открытия биохимического действия мутации гена *opaque-2* в зерне высоколизиновой кукурузы. В: *Аминокислотное питание животных и проблема белковых ресурсов / Кубан. гос. аграр. ун-т. Краснодар*, 2005, с. 257-312.
7. Palii A., Batîru Gr. Obținerea experimentală a formelor tetraploide de porumb *opaque-2*. În: *Ameliorarea porumbului și utilizarea androsterilității citoplasmatică în producerea de semințe // Materialele conferinței internaționale consacrate m. cor. al AȘM Tihon Cialîc – 90 ani de la naștere. Chișinău*, 2011, p.88-97;
8. Юдин Б. Ф. Ускоренное получение тетраплоидных гибридов у кукурузы. В: *Известия АН СССР, сер. биолого-медицинских наук*, 1964, т.8, №2, с.15-18.
9. Крищенко В. П. Ближняя инфракрасная спектроскопия. М., АО —ИнтерагротехII, 1997, 638 с.
10. Бейтс Л. С. Методы определения аминокислотного состава белка. В: *Кукуруза с высоким содержанием лизина, Сборник переводов*, Москва, 1969, с.55-65.
11. Хаджинов М. И., Щербак В. С. Полиплоидия у кукурузы. Теоретические и практические проблемы полиплоидии. Москва: Наука, 1974, с. 27-42.
12. Palii A., Batîru G. The dosage effect of the *opaque-2* gene on the amino acid composition of proteins from tetraploid maize grain. *Maize newsletters*, vol.88, 2014.