



USV 1842

UNIVERSITATEA pentru ȘTIINȚELE VIEȚII  
„ION IONESCU de la BRAD” din IA I

DOMENIUL: AGRONOMIE

# TEZĂ DE ABILITARE

CONTRIBUȚII LA STUDIUL POLENULUI  
I AL POTENȚIALULUI  
CITOGENOTOXIC AL UNOR FACTORI  
FIZICO-CHIMICI

Conf. univ. dr. Silvica P. DUREANU

IA I, 2023

## REZUMAT

Teza de abilitare intitulat **“Contribu ii la studiul polenului i al poten ialului citogenotoxic al unor factori fizico-chimici”** reprezint o selec ie a rezultatelor publicate dup obinerea titlului de doctor, rezultate considerate relevante pentru propria carier academic , tiin ific , profesional . În lucrare sunt men ionate i principalele direc ii proiectate pentru continuarea propriei cariere, precum i posibilit ile de îndeplinire a acestora.

Teza prezentat este structurat i redactat în conformitate cu prevederile legale în vigoare i a normelor specifice ale USV Ia i, în acest sens cuprinzând: *A. Rezumat; B.I. Realiz ri tiin ifice profesionale i academice; B.II. Planul de dezvoltare a carierei profesionale, tiin ifice i academice; B.III. Referin e bibliografice.* Teza cuprinde 24 tabele i 95 figuri, dintre care 47 sunt grafice i 48 sunt fotografiile realizate la microscopul optic i electronic, toate fiind originale, provenind din articolele tiin ifice publicate ca singur autor sau prim autor în reviste ISI cu factor de impact i în alte reviste indexate BDI.

I. Rezultatele selectate pentru a sublinia evolu ia i dezvoltarea propriei cariere, dup obinerea titlului de doctor au fost prezentate **în sec iunea B.I.** , diferen iate în dou direc ii de cercetare, în care propriile realiz ri sunt documentate prin trimiteri la articolele publicate (ca singur autor sau prim autor) între anii 1999–2023, în contextul stadiului actual al cunoa terii în domeniu, eviden iind relevan a i originalitatea contribu iilor personale. Pentru fiecare din cele dou direc ii am prezentat: o scurt introducere, metoda de lucru general , o selec ie a rezultatelor i discu iilor, concluzii (în român i englez ).

### **1. Cercet ri privind caracterizarea polenului unor specii de plante:**

Cercet rile privind morfologia polenului au adus importante contribu ii la elaborarea de noi orient ri în taxonomia i filogenia vegetal . Caracteristicile morfologice ale polenului – veritabile caractere de diagnoz ale plantelor variaz în func ie de specie, gen, familie. Germinarea polenului i cre terea tubului polinic pot fi influen ate de anumi i factori interni i de mediu, parte dintre ace tia fiind eviden ia i i demonstra i în cercet rile proprii.

Caracteristicile morfologice ale polenului sunt i indicatori indirec i ai gradului de poliploidie, precum i ai fertilit ii polenului. Capacitatea germinativ reflect direct fertilitatea polenului. Cunoașterea capacității



germinative a polenului permite identificarea genotipurilor valoroase ca polenizatori în combinații interfertile, dar și pentru hibridări artificiale, în scopul folosirii acestora ca polenizatori în programele de ameliorare.

În toate cazurile studiate se remarcă corelația strânsă și directă, dintre capacitatea de germinare a polenului și lungimea tubului polinic, precum și dintre lungimea tubului polinic și lungimea stilului floral.

Morfologia polenului provenit de la genotipuri diferite, dar din aceeași familie botanică a prezentat asemănări marcante, fapt demonstrat la cinci genotipuri din familia *Vitaceae*: *Vitis vinifera* – soiul *Fetească neagră*, două soiuri de hibridi direct producători (HDP) - *Noah* și *Othello*, două liane din genul *Ampelopsis* – *A. aconitifolia* și *A. brevipedunculata*.

Particularitățile morfologice ale polenului nu sunt influențate de condițiile de mediu, ceea ce dovedește implicarea genelor majore în consolidarea caracterelor polinice. Acest fapt a fost demonstrat de polenul de *Lotus corniculatus* provenit dintr-un staționar nepoluat și un staționar poluat cu pulberi fine de ciment de la fabrica de ciment din Tașca, din zona limitrofă a Parcului Național Ceahlău.

Polenul de *Rhododendron racemosum* rămâne în tetrade polinice prevăzute cu fire de viscin care indică o adaptare strictă la anumii polenizatori. Concluzia personală referitoare la acest caz este că planta consumă energie minimă cu eficientizare maximă a ansei de polenizare și implicit de fructificare.

Polenul crinului hibrid *Lilium Star Gazer* se distinge morfologic prin prezența unui singur por germinativ – caracter de diagnostic esențial al monocotiledonatelor.

În cercetările proprii am demonstrat că pentru o germinare optimă polenul preferă anumite concentrații de carbohidrați în mediul de germinare în funcție de specie. Astfel, germinarea optimă se realizează pe medii îmbogățite cu: 15–20% zaharoz la soiul de vi de vie - *Fetească neagră*, *Ampelopsis aconitifolia* și *A. brevipedunculata*; 15-25% zaharoz pentru soiurile de hibridi direct producători (HDP) *Othello* și *Noah* (genul *Vitis*).

Nivelul capacității de germinare a polenului diferă în funcție de specie, chiar în cadrul aceleiași familii botanice. Astfel, germinabilitatea este de: peste 80% la *Fetească neagră*, 35% la soiul HDP *Noah*, de 58% la soiul HDP *Othello*, 79% la *Ampelopsis aconitifolia*, 80% la *A. brevipedunculata*. Germinabilitatea mai mare a polenului de *Othello* poate fi explicată prin prezența genelor de *Vitis vinifera* în genotipul lui.

Germinarea polenului la cele cinci vitacee a fost semnificativ în primele 24 ore de la inoculare, cu o creștere nesemnificativă în următoarele



ore. La *Ampelopsis aconitifolia* și *A. brevipedunculata*, după 48 ore se produc degenerări ale tuburilor polinice.

La toate cele cinci vitacee, edificarea tubului polinic a fost precedată de formarea unei vezicule, confirmându-se ipoteza conform căreia polenul vitaceelor germinează „în vezică”.

Polenul de *Lotus corniculatus* surprinde prin nivelul ridicat al germinabilității (peste 90%) după primele 24 ore de la inoculare pe mediile nutritive și viabilitatea tuburilor polinice de peste 168 ore în condiții variate ale concentrației glucidice din mediul de germinare, de la 5% - 200% zaharoz. Acest fapt ar putea explica plasticitatea eco-fiziologică și arealul extins al acestei specii. Mai mult, cercetările proprii au demonstrat că germinarea polenului de *L. corniculatus* nu este afectată de mediul poluat, ceea ce poate fi o dovadă că germinarea polenului este controlată de gene majore, nefiind influențat de mediu.

Polenul de *Rhododendron racemosum* are o germinare optimă, dar lent pe medii cu 25%-40% glucide, atingând limita superioară de 95% după 192 ore, când tuburile polinice sunt încă viabile.

Polenul crinului Star Gazer impresionează prin capacitatea de germinare optimă (93%) în primele 24 ore pe substrat carent în carbohidrați și prin tuburile polinice cele mai lungi crescute pe același substrat foarte sărac în nutrienți. Acest fapt reflectă compoziția bogată în zaharuri a polenului de crin, care îi asigură abilitatea de a germina pe medii sărace și foarte sărace în carbohidrați.

Germinarea polenului și creșterea tubului polinic au fost investigate și în funcție de temperatura mediului ambiant, cercetările fiind făcute pe polenul de *Galanthus nivalis* la două regimuri de temperatură: 18 °C și 4 °C. Germinarea polenului a fost optimă (peste 90%) pe medii nutritive cu 15% - 20% zaharoz la ambele temperaturi, în primele 24 ore. Cele mai lungi tuburi polinice s-au format pe mediile cu 10-25% zaharoz la 18 °C și pe mediile cu 10-15% zaharoz la 4 °C, acestea menținându-și viabilitatea 120 ore. La aceleași concentrații glucidice din mediile de germinare, lungimea tuburilor polinice a fost similară la ambele temperaturi. La majoritatea speciilor de plante, temperaturile scăzute nu numai că inhibă creșterea tuburilor polinice, dar induc și avortarea florilor. Rezultatele acestei cercetări aduc noi dovezi că gametofitul masculin al ghiocelului este programat genetic pentru a avea o dezvoltare optimă la temperaturi scăzute. Rata optimă de germinare și creșterea tubului polinic la 4 °C evidențiază caracterul vernal al polenului de *G. nivalis*.

## 2. Cercetări privind potențialul citogenotoxic al unor factori fizico-chimici:

Industrializarea extinsă în toate domeniile de activitate umană este răspunsul nostru pentru poluarea actuală a mediului, la nivelul aerului, apei, solului, alimentelor etc. Toate noxele poluante afectează echilibrul ecologic și impactează viețile viitoare de pe Terra. Efectele poluării asupra organismelor sunt: citotoxicitatea, genotoxicitatea și implicit mutagenitatea, teratogenitatea, oncogeneza, modificările fenotipice.

Un factor fizico-chimic poate fi citotoxic dacă afectează indicele mitotic. În acest caz, indicele mitotic poate crește sau scădea sub influența diferiților factori de mediu. Aceste situații duc fie la proliferarea dezordonată a celulelor care pot forma tumori, fie la un efect mitodepresiv care încetinește creșterea organismului. În ambele cazuri se manifestă efectul citotoxic indus de diverși factori fizico-chimici care afectează funcțiile celulare.

Un factor fizico-chimic poate fi genotoxic dacă are potențialul de a induce leziuni la nivelul ADN-ului sau cromozomilor. Astfel de modificări asupra materialului genetic pot fi ereditare dacă ele apar în celulele germinative; sau pot fi neereditare dacă ele apar în celulele somatice, caz în care pot provoca o mutație somatică care duce la cancer. Genotoxinele modifică structura moleculară a catenelor ADN, provocând mutații genice, cromozomiale, genomice.

Dintre factorii fizico-chimici citorici le-am determinat potențialul citogenotoxic am selectat câțiva, care vor fi prezentați în cele ce urmează.

Hexanitrogen-cobaltat III de sodiu, pentaciano-mononitrozoferrat III de sodiu, nitratul de plumb, acetatul de plumb și azotitul de sodiu au fost administrați ca tratamente sub formă de soluții apoase în concentrații de 5%, 1% și 0,1%, cu timpi de expunere între 2 ore și 48 ore pe semințe de *Allium cepa*. Efectele induse de fiecare dintre cei cinci compuși chimici au constatat în reducerea semnificativă a indicelui mitotic, în inducerea de aberații cromozomiale și de micronuclei. Reducerea indicelui mitotic și frecvența anomaliilor genetice au fost în relație de direct proporționalitate cu concentrația și cu timpul de acțiune al compusului chimic. Tipul de anomalii genetice induse și frecvența acestora demonstrează modul de acțiune al compușilor chimici testați. Astfel, punțile cromozomiale, fragmentele, asocierile dintre punți și fragmente, indică efectul clastogenic al compușilor chimici evaluați; cromozomii retardatari și anafazele multipolare demonstrează efectul aneugenic al acestora; micronucleii sunt dovada acțiunii clastogenice și aneugenice a celor cinci compuși chimici testați.



Azotitul de sodiu este un aditiv alimentar. Referitor la utilizarea lui în industria alimentară recomand ca potențialul citogenotoxic al acestui compus chimic să fie luat în considerare.

Nitratul de plumb are în plus potențialul de a induce celulele autoploiploide prin inhibarea fusului de diviziune.

Tescovina de struguri considerată de eu al industriei de vinificație este folosită de obicei în industria alimentară, farmaceutică și în medicină. Cu toate acestea, studiile au raportat că anumite concentrații ale extractelor de tescovină de struguri pot induce efecte negative asupra animalelor. Cercetările proprii pe tescovină au avut scopul de a evalua dacă tescovina de struguri induce un stres abiotic cu implicații negative grave asupra plantelor. În acest scop, au fost tratate cariopse de grâu timp de 48 de ore cu extracte apoase de tescovină de struguri *Merlot* și *Sauvignon blanc* în patru concentrații: 0,025%, 0,05%, 0,1% și 0,2%. S-a investigat rata de germinare a cariopselor tratate și parametrii citogenetici. Rata de germinare a scăzut moderat în comparație cu martorul la toate variantele de tratament. Parametrii citogenetici investigați au fost: indicele mitotic și anomaliile genetice. Pe măsură ce crește concentrația de tescovină de struguri, rata de germinare și indicele mitotic scad moderat, în timp ce frecvența celulelor cu aberații cromozomiale (punți, fragmente, asociații între punți și fragmente, anafaze multipolare) și micronuclei crește. Tratamentele cu extracte de tescovină de struguri *Merlot* au indus un procent mai mare de anomalii genetice. Rezultatele obținute indică potențialul citogenotoxic al extractelor de tescovină, prin reducerea moderată a indicelui mitotic (reflected în scăderea ratei de germinare a cariopselor) și prin inducerea de anomalii genetice, ambele efecte fiind direct proporționale cu concentrațiile extractelor de tescovină. Aadar, am demonstrat că tescovinele de struguri induc stres abiotic asupra grâului din punct de vedere genetic, motiv pentru care recomandăm ca tescovinele să fie scrise în polifenoli înainte de a fi depozitate pe câmp. Estimăm că o posibilă utilizare a tescovinei de struguri neprelucrată ar putea fi ca bio-erbicid.

Factorul fizico-chimic testat a fost apa activată cu plasmă non-termică (PAW) care este utilizată în agricultură în special pentru decontaminarea suprafeței semințelor/cariopselor, cu posibile efecte pozitive asupra proceselor fiziologice. În cercetările proprii am utilizat PAW generat în aerul ambiant la presiune atmosferică în opt variante, cu pH și diferite doze de specii reactive ( $H_2O_2$ ,  $NO_3^-$ ). Prin aceste cercetări am investigat efectul indirect al PAW asupra cariopselor de grâu, focusând efectele asupra materialului genetic prin monitorizare citogenetică. Toate variantele PAW au provocat evenimente



clastogenice și aneugene ale materialului genetic, cu intensități diferite, în manieră dependentă de doza de specii reactive din compoziția plasmei. Variantele PAW cu cele mai mari doze de  $H_2O_2$  (13-22 mg/L) și  $NO_3^-$  (49-68 mg/L) la pH de 3,8-4,1 au redus cel mai mult indicele mitotic și au indus cele mai mari frecvențe ale anomaliilor genetice, dintre care punile cromozomiale și micronucleii au dominat. În corelație cu această deteriorare la nivelul nucleului, rata de germinare și lungimea rădăcinilor și a lăstarilor (hipocotilelor) de grâu au scăzut semnificativ la variantele cu cele mai mari doze de specii reactive. Variantele PAW cu cele mai mici doze de  $H_2O_2$  (1-5 mg/L) și  $NO_3^-$  (8-15 mg/L) la pH 5,5-5,1 au indus un potențial citogenotoxic mult mai scăzut, au menținut o rată de germinare comparabilă cu cea a matorului și chiar au stimulat creșterea lungimii rădăcinilor și a lăstarilor. În concluzie, efectele PAW depind esențial de doza de specii reactive și de pH. Demonstrând potențialul citogenotoxic al plasmei non-termice, recomandăm ca în protocolul de generare PAW să fie incluse și testele de citogenotoxicitate în scopul stabilirii prin tatonare a celor mai potrivite concentrații de specii reactive și un pH adecvat, compatibile cu stabilitatea genomului plantelor.

**II. În a doua secțiune a prezentei teze** au fost punctate obiectivele propuse pentru dezvoltarea în continuare a activității didactice și de cercetare (adecvate obiectivelor strategice de cercetare ale facultății și ale universității), și implicit posibilitățile pentru realizarea acestora.

