

CERCETĂRI PRIVIND UNII INDICI FIZIOLOGICI LA FRUNZELE DE VIȚĂ DE VIE OBTINUTE PRIN CULTURĂ *IN VITRO*

RESEARCHES REGARDING SOME PHYSIOLOGICAL INDICES OF THE GRAPEVINE LEAVES OBTAINED *IN VITRO* CULTURE

Mihaela Victorița GRIGORESCU
U.Ș.A.M.V., București

Abstract: The aim of this paper is to determinate some physiological indices (respiration, assimilating pigments, content permeability indices, dry substances content) of the grapevine leaves obtained in vitro. The determinations were made on two cultivars of *Vitis vinifera* (L) Chardonnay, Pinot noir and a rootstock Kober 5 BB. Vegetative material represented by annual shoots was prelevated from Ampelographic Collection of Viticulture and Oenology Department from USAMV Bucharest. The biological material (meristematic apex, axillary bud) was multiplied in vitro to obtain better grapevine then mother plants. The ex vitro stage was realized by grapevine acclimatization. Results obtained from this study complete the knowledge about the physiological processes in the ex vitro stage of grapevine.

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul biologic, reprezentat de apexuri meristematice și muguri axilari, a fost prelevat de la soiurile *Vitis vinifera* (L) Chardonnay, Pinot Noir și de la portaltoiul Kober 5 BB. Materialul vegetal s-a recoltat din Colecția Ampelografică a Catedrei de Viticultură și Oenologie. Prelevarea explantelor s-a realizat fie din coardele anuale supuse unui proces de forțare, fie din lăstari recoltați în perioada de vegetație.

După prelevarea explantelor a urmat operația de dezinfectare folosindu-se mai mulți agenți de dezinfectare în doze și timpi difeți (alcool etilic 70°, clorură mercurică 0,05%, DOMESTOS® 20%). Mediul de cultură folosit pentru inocularea explantelor a fost Murashige & Skoog (1962) cu hormoni în diferite concentrații. După inițierea, stabilizarea, multiplicarea și înrădăcinarea explantelor a urmat operațiunea de aclimatizare. Aceasta s-a desfășurat în două etape:

➤ etapa-I-plantele au fost trecute în nisip și perlit, acoperite cu clopote de sticlă, fiind ținute în camera de creștere la 18-24 °C, timp de 18-21 zile;

➤ etapa-II-fortificarea la ghivece cu amestec nutritiv reprezentat de: mraniță, pământ de frunze, pământ de țelină, nisip și perlit; în proporție de 2:1:1:1:1, ținute în camera de creștere la 18-24 °C.

Materialul vegetal utilizat pentru determinare indicilor fiziologici a fost reprezentat de frunze de viță de vie provenite de la soiurile Chardonnay, Pinot noir și de la portaltoiul Kober 5 BB, vițe obținute prin cultură *in vitro*, care au parcurs etapele menționate anterior.

Principali indici fiziologici urmăriti: intensitatea respirației; permeabilitatea membranelor și conținutul total în ioni; pigmenții asimilatori; conținutul de substanță uscată totală și apă.

Intensitatea respirației s-a determinat la frunzele detașate, prin măsurarea cantității de CO₂ produs. În acest scop s-a utilizat analizorul RIKEN, determinându-se

cantitatea de CO_2 produsă de un material vegetal cu o masă cunoscută, într-un volum de aer cunoscut și într-un interval de timp determinat. Intensitatea respirației s-a exprimat în $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Permeabilitatea membranelor și conținutul total în ioni au fost determinate conductometric. Pentru determinarea acestor indici s-au utilizat rondelle de frunze, cu masă cunoscută, care au fost imersate în apă distilată timp de 210 minute. Pentru determinarea conținutului total în ioni liberi s-a mojarat câte 1g de material vegetal în 20 ml de apă distilată. Conductibilitatea soluției de electroliți, a fost măsurată cu conductometrul, iar rezultatele au fost exprimate în μSg^{-1} substanță proaspătă. Indicele de permeabilitate reprezintă raportul dintre permeabilitatea membranelor și valoarea conținutului total în ioni liberi.

Pigmenții asimilatori din frunze s-au determinat în extract acetonic 80%, colorimetrat la lungimile de undă 663 nm, 646 nm și 470 nm. Rezultatele au fost calculate pe baza formulelor elaborate de Mackiney și valorile exprimate în $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ material vegetal.

Substanța uscată totală și apa s-au determinat prin cântărirea materialului vegetal proaspăt, uscarea timp de 24 ore la 105°C , răcirea în exicator și recântărirea materialului vegetal uscat. Rezultatele obținute au fost exprimate în procente (%).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Procesul de respirație furnizează, pe lângă energia necesară sintezei substanțelor nutritive și compuși intermediari care sunt utilizați în aceste procese. Intensitatea procesului de respirație variază în funcție de soi, vârstă și temperatura mediului (Burzo I., ș.a., 1999). Având în vedere că frunzele de viță de vie analizate s-au prelevat de la plante obținute prin cultură *in vitro*, condițiile de mediu au fost diferite față de cele din câmp. Intensitatea procesului de respirație a variat conform datelor prezentate în tabelul nr. 1, între $209,48 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ la soiul Chardonnay și $680,43 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ la soiul Pinot noir. Intensitatea respirației la portaltolul Kober 5 BB a fost de $226,57 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, mai mare decât a soiului Chardonnay. Valoarea medie a intensității procesului de respirație la frunzele vițelor analizate a fost de $372,16 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Tabelul 1

Intensitatea procesului de respirație la frunzele de viță de vie aclimatizate

Nr. Crt.	Soi/portaltol	Respirația $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$
1	Pinot noir	680,43
2	Chardonnay	209,48
3	Kober 5 BB	226,57
Media		372,16

Permeabilitatea membranelor plasmatice și conținutul total în ioni au fost prezentate în tabelul nr. 2.

Din datele analitice obținute s-a constatat că permeabilitatea membranelor plasmatice din frunzele de viță de vie a avut valoarea medie de $10944,82 \mu\text{S/g}^{-1}$ și a variat între $8125,36 \mu\text{S/g}^{-1}$ la soiul Chardonnay și $13316,69 \mu\text{S/g}^{-1}$ la soiul Pinot noir. Conținutul total în electroliți a avut valoarea medie de $52600 \mu\text{S/g}^{-1}$ și a

variat între 46000 $\mu\text{S/g}^{-1}$ la portaltoiul Kober 5 BB și 60000 $\mu\text{S/g}^{-1}$ la soiul Pinot noir. În urma valorilor obținute indicele de permeabilitate a înregistrat o medie de 0,21 cu o variație cuprinsă între 0,16 la soiul Chardonnay și 0,25 la portaltoiul Kober 5 BB.

Tabelul 2

Permeabilitatea membranelor plasmatice, conținutul total în ioni și indicele de permeabilitate al frunzelor de viță de vie

Nr.crt	Soi/ Portaltoi	Permeabilitate ($\mu\text{S/g-1}$)	Conținutul total în electroliți ($\mu\text{S/g-1}$)	Indice de permeabilitate
1	Pinot noir	13316.69	60000	0.22
2	Chardonnay	8125.36	51800	0.16
3	Kober 5 BB	11392.41	46000	0.25
Media		10944.82	52600	0.21

Alți indici studiați au fost pigmenții asimilatori. Pigmenții clorofilieni intră în alcătuirea antenelor fotoreceptoare și a centrelor de reacție a celor două fotosisteme, participând la procesul de fotosinteză.

Tabelul 3

Conținutul în clorofilă a, b și totală, raportul dintre clorofila a și b, pigmenții carotenoizi și raportul dintre clorofile și caroteni la frunzele de viță de vie studiate

Nr.crt.	Soi/ Portaltoi	Clorofilă a	Clorofilă b	Clorofilă totală	Clorofilă a/b	Caroteni	Clorofilă /caroten
1	Pinot noir	235,39	106,79	342,18	2,20	75,09	4,56
2	Chardonnay	153,94	67,87	221,81	2,27	47,12	4,71
3	Kober 5 BB	159,54	62,34	221,88	2,56	42,74	5,19
Media		182,96	79,00	261,96	2,34	54,98	4,82

Rezultatele prezentate în tabelul nr. 3, relevă faptul că frunzele prelevate de la soiul Pinot noir au avut cel mai mare conținut de clorofilă totală (342,18 mg/100g). Soiul Chardonnay și portaltoiul Kober 5 BB au avut un conținut similar de clorofilă totală: 221,81 mg/100g respectiv 221,88 mg/100g. Conținutul în clorofilă a a variat între 153,94 mg/100g la soiul Chardonnay și 235,39 mg/100g la soiul Pinot noir, iar cel în clorofilă b a variat între 62,34 mg/100g la portaltoiul Kober 5 BB și 106,79 mg/100g la soiul Pinot noir.

Raportul clorofilă a/b a fost cel mai mare la portaltoiul Kober 5 BB (2,56) datorită conținutului mic de clorofilă b, iar la soiul Pinot noir conținutul mare de clorofilă b a determinat o valoare a raportului a/b foarte mică (2,20). Conținutul frunzelor în pigmenți carotenoizi a variat între 42,74 la portaltoiul Kober 5 BB și 75,09 la soiul Pinot noir, iar raportul dintre clorofilă și pigmenți carotenoizi a variat între 4,56 la soiul Pinot noir și 5,19 la portaltoiul Kober 5 BB. Culoarea verde a frunzelor soiului Pinot noir a fost mai intensă în timp ce la soiul Chardonnay culoarea a fost mult mai deschisă.

Conținutul în apă al frunzelor este dependent de vârsta acestora și condițiile de mediu. Frunzele vițelor obținute prin cultură *in vitro* au o cantitate mai mare de apă. Acest lucru reiese din tabelul nr.4.

Tabelul 4

Conținutul în substanță uscată totală și apă la frunzele de viță de vie

Nr. Crt.	Soi/Portaltoi	Substanța uscată totală (%)	Apa (%)
1	Kober 5 BB	16.10	83.90
2	Pinot noir	15.08	84.92
3	Chardonnay	14.23	85.77
Media		15.14	84.86

Substanța uscată totală a variat între 14,23 % la soiul Chardonnay și 16,10 % la portaltoiul Kober 5 BB. Valoarea medie a substanței uscate totale a fost de 15,14 %. Conținutul în apă a variat între 83,90 % la portaltoiul Kober 5 BB și 85,77 % la soiul Chardonnay, valoarea medie fiind de 84,86 %.

CONCLUZII

Intensitatea procesului de respirație la soiul Pinot noir a fost de 3 ori mai mare decât la soiul Chardonnay și portaltoiul Kober 5 BB.

Permeabilitatea membranelor plasmatice la soiul Pinot noir a fost mai mare de 1,64 ori față de soiul Chardonnay și de 1,16 ori față de portaltoiul Kober 5 BB. În ceea ce privește conținutul în electroliți, valoarea maximă s-a determinat tot la soiul Pinot noir: de 1,3 ori mai mare față de portaltoiul Kober 5 BB și 1,15 ori mai mare față de soiul Chardonnay.

În cazul pigmentilor asimilatori soiul Pinot noir a avut cea mai mare cantitate de clorofilă a, b, clorofilă totală și caroteni. Raportul dintre clorofilă a/b și clorofilă/caroteni a fost cel mai mare la frunzele prelevate de la portaltoiul Kober 5 BB.

În frunzele vițelor analizate conținutul de apă a fost de peste 80 %, valoarea cea mai mare înregistrându-se la soiul Chardonnay (85,77%).

BIBLIOGRAFIE

1. Burzo I., Toma S., Olteanu I., Dejeu L., Delian Elena, Hoza D., 1999 – *Fiziologia plantelor de cultură*, vol. 3; Editura Știință;
2. Vișoiu Emilia, Teodorescu A., 2001 – *Biotehnologii de producere a materialului sădător viticol*; Editura Ceres.