

CERCETĂRI PRIVIND ACUMULAREA PROLINEI LA CÂTEVA CULTIVARE DE ORZ (*HORDEUM VULGARE*) SUPUSE STRESULUI HIDRIC

RESEARCHES CONCERNING PROLINE ACUMULATION IN SOME CULTIVARS OF BARLEY (*HORDEUM VULGARE*) EXPOSED TO DROUGHT STRES

CORADINI GIANCARLA, NEDELEA GABRIEL

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Timișoara

Abstract. *Genotypes differentiation regarding hydric stress tolerance of Hordeum vulgare specie, as well as adaptative answer of plants to drought effect ar not very well known. Plants reaction to abiotic stress factors as drought and cold temperature consist in producing the aminoacid proline. Plants answer to different factors of stress may be analysed by proline level quantification. For many culture species the free proline quantity for the hydric deficit affected tissue determination reprezents a marker test for drought tolerance estimation. The aim of this study was to determine the proline level and accumulation for some barley cultivares, under drought stress conditions and to select the most tolerant lines. The osmotic treatement was administres using PEG 6000 for a final concentration of 400 mOsm.*

Dintre factorii de stres din mediu, seceta reprezintă una din cele mai importante cauze care afectează securitatea omenirii (Boyer 1982).

Starea de deficit hidric accentuată nu este de obicei o stare perpetuă, ea apare accidental și nedorit, cu diferite intensități, iar plantele în special cele cultivate trebuie să suporte aceste condiții. În asemenea situații plantele nu sunt pe deplin adaptate, iar în mod frecvent adaptările structurale caracteristice creșterii toleranței la secetă, reduc capacitatea productivă (Ewers și col. 2000).

Prin urmare, în aceste situații plantele cultivate trebuie să mențină un echilibru între supraviețuire în condiții extreme și bioproductivitate ridicată în condiții normale (Șumălan, 2006).

Acumularea de prolină este una dintre cele mai frecvent raportate modificări induse de deficitul de apă și stresul salin la plante și se consideră că este implicată în mecanismul de rezistență la secetă. Funcțiile propuse pentru acumularea de prolină în țesuturi include ajustarea osmotică, rezervă de C și N pentru creștere și înlăturarea stresului, detoxificarea excesului de amoniu, stabilizarea proteinelor și membranelor, înlăturarea radicalilor liberi (Delauneiy AJ, Verma DSP, 1993).

La plantele aflate în condiții normale (nestresate) cantitatea de prolină este de aproximativ 5% din totalul aminoacizilor din celulă (Matysik și colab, 2002).

La plantele aflate sub acțiunea diferiților factori de stres cantitatea de prolină sintetizată poate ajunge la 80% în câteva ore sau câteva zile. La plante, prolina se acumulează cu precădere în citoplasmă și mai puțin în vacole (Abraham și colab., 2003)

MATERIAL ȘI METODĂ

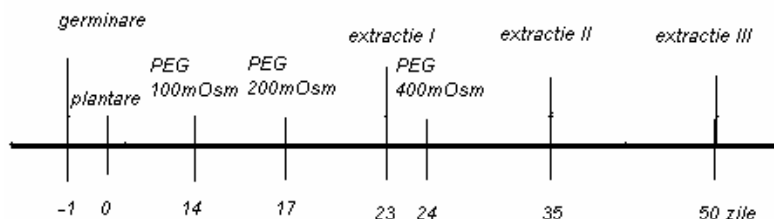
În acest experiment am luat în studiu o colecție de genotipuri de orz (*Hordeum vulgare*), alcatuită din 5 soiuri (Dana, Precoce, Adi, Madalin, Orizont) și opt linii dubluhaploide (DH 22-5, DH 24-3, DH 26-4, DH 20-2, DH 8-8, DH20-3, DH7-2, DH8-4), provenite de la ICCPT Fundulea, București.

Cariopsele au fost germinate în cutii Petri, stresul osmotic a fost indus prin utilizarea polyethylen glycolului PEG 6000 la o concentrație finală de 400 mOsm, administrat treptat iar ca și control am folosit apa distilată. Am utilizat polyethylen glycolul ca un osmolit pentru că este inert, nu este toxic și nu penetrează plantele, în comparație cu alți osmoliți cum este manitolul sau NaCl și zahărul (Kramer și Boyer 1995).

După germinare, cariopsele germinate au fost transferate în perlit, după care au fost irigate cu soluție Hoagland suplimentată cu PEG 6000. Soluția nutritivă lipsită de polyethylen glycol am folosit-o ca martor. Plantele au fost crescute în condiții controlate 14/10 zi/noapte fotoperioadă, la temperatura de 24/18°C.

Am determinat cantitatea de prolină acumulată în plante, la diferite intervale de timp și la diferite presiuni osmotice, utilizând metoda (Abraham și colab., 2003). Această metodă se bazează pe faptul că prolina reacționează cu ninhidrina sau acidul ninhidric și formează un compus de culoare gălbui roșietică, care poate fi extras în toluen, iar cantitatea de prolină din plantele supuse stresului osmotic poate fi estimată fotometric prin măsurarea absorbanței la o lungime de undă de 520nm. Cantitatea de material vegetal proaspăt utilizat a fost de 500mg /tub.

Valorile obținute la spectrofotometru se înregistrează și se folosesc pentru calculul cantității de prolină din fiecare probă după relația de calcul: Valoarea $DO_{520nm} \times 200 = \text{mM prolină}$. (Abraham și colab., 2003)



REZULTATE ȘI DISCUȚII

Acumularea prolinei libere în țesutul foliar al plantelor este un răspuns la factorii de stres. Inducerea stresului a determinat o creștere a conținutului de prolină la toate genotipurile luate în studiu.

În condiții de hidratare normală se poate observa că cea mai mică cantitate de prolină a fost acumulată de genotipurile DH 26-4 (26,8mM) și DH 20-2 (29,8mM), iar cea mai mare cantitate a fost acumulată de DH 22-5 (151,8mM) și soiul Dana (157,2 mM).

În condițiile unui deficit hidric moderat (200mOsm), conținutul de prolină a început să crească înregistrând valori cuprinse între 64,8mM la DH 26-4, 310,2mM la DH22-5 și 432,6 la soiul Precoce.

Rezultatele experimentale arată că pe măsură ce condițiile de stres se înăspresc conținutul de prolină crește semnificativ, astfel în cazul administrării polyethylen glycolului 400mOsm, după zece zile de la administrarea acestuia, conținutul de prolină a variat în limite cuprinse între 240,8mM la linia DH 7-2 și 602mM la soiul Adi. Pe masură ce seceta a fost prelungită, plantele au acumulat o cantitate mai ridicată de prolină, ca o reacție de apărare împotriva deshidratării apărând chiar și modificări ale conformației acestora. La o presiune osmotică de 400mOsm (II), conținutul de prolină a variat între 266,2mM la linia DH7-2 și 2513mM la DH 22-5. Cantități importante de prolină au fost înregistrate și la genotipurile DH24-3, DH20-2, DH8-8, DH20-3.

Tabelul 1

Variantele experimentale, cantitatea de prolină la genotipurile analizate

Genotipul	Cantitatea de prolină mM/ variantă experimentală			
	0mOsm	200mOsm	400mOsm I	400mOsm II
Dana	157.2	182.8	465.2	602.8
Precoce	122.8	432.6	533.6	813.2
Adi	87.2	138.6	602	680.4
Mădălin	111.4	164	324.8	778.2
Orizont	124.2	187.8	358.8	733.4
DH 22-5	151.8	210.2	290.8	2513
DH 24-3	68.6	95.8	313.5	1643
DH 26-4	26.8	64.4	331.8	553.4
DH 20-2	29.8	182.2	453.6	1943
DH 8-8	117.4	149	280.6	2222
DH20-3	93.2	168.2	472.6	1450.2
DH 7-2	108.8	128.26	240.8	266.2
DH 8-4	81	141.2	555.4	651.8

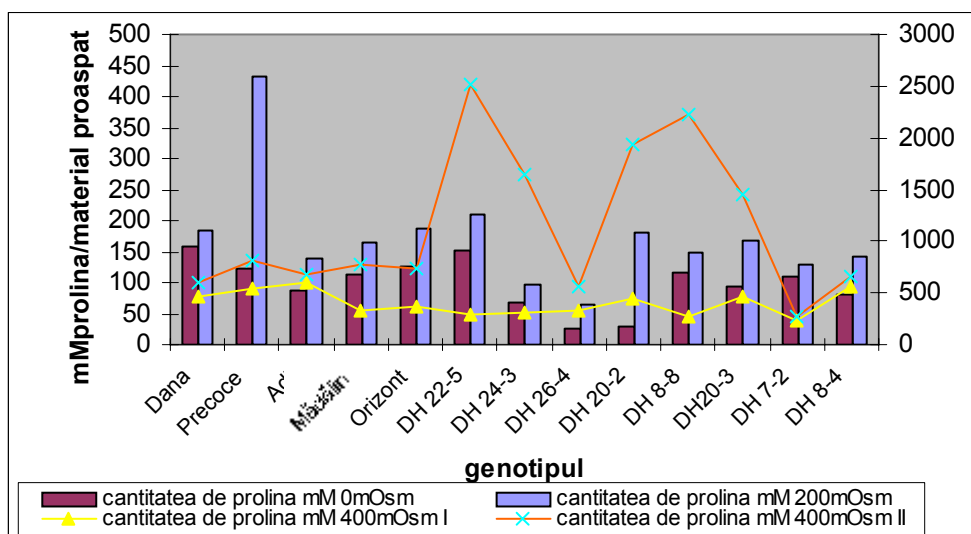


Fig.1 - Reprezentarea grafică a nivelului de prolină acumulată de genotipurile studiate.

Numeroase cercetări evidențiază rolul benefic al acumulării prolinei libere în celulele plantelor supuse stresului hidric, îndeplinind multiple roluri, precum implicarea în osmoreglarea enzimelor citoplasmatică, stabilitatea proteinelor, a membranelor și ca rezervă de azot sau substrat respirator ce facilitează reluarea metabolismului plantei după îndepărtarea stresului. (Jolivet și col.1982, Le Dily și col.1992).

CONCLUZII

În urma cercetărilor efectuate s-au putut trage câteva concluzii:

*Acumularea de prolină este un răspuns comun plantelor sensibile și rezistente la secetă, deci nu există o corelație generală între rezistența la secetă și acumularea de prolină, deși multe evidențe arată o corelație pozitivă între acești parametri.

*Linia DH7-2, acumulează o cantitate destul de însemnată de prolină, în condiții de hidratare normală, însă cantitatea de prolină acumulată pe parcursul deficitului hidric este destul de scăzută.

*Linia DH22-5 este o bună acumulator de prolină și în condiții de hidratare normală și în condiții de deficit hidric.

*Analizând rezultatele obținute se poate observa că plantele supuse deficitului hidric acumulează o cantitate mai mare de prolină, decât cele cultivate în condiții normale.

BIBLIOGRAFIE

1. **Boyer J.S. 1982** - *Plant productivity and environment*. Science 218: 443-448.
2. **Delauney AJ, Verma DSP, 1993** - *Proline biosynthesis and osmoregulation in plant*. The Plant J.4:215-223
3. **Ewars B.E., Oren R., Sperry J.S., 2000** - *Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in Pinus taeda*. Plant Cell and Environment.23.
4. **Kramer P.J., Boyer J.S. 1995** - *Water Relations of Plants and Soils*. Academic press, San Diego, USA. pps 1-495
5. **Șumălan R., 2004** - *Fiziologia plantelor supuse la stres*. Ed.Eurobit.
6. **Șumălan R., 2006** - *Fiziologia vegetală*. Ed.Eurobit.