

REZUMAT

al tezei de doctorat

„Cercetări privind efectul unor agenți mutageni asupra caracterelor morfo-fiziologice și biochimice la specia *Papaver somniferum* L.” elaborată de **drd. Popa Ana – Maria**, sub coordonarea **Prof. univ. dr. Constantin Leonte**, în cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad”, Iași, Facultatea de Horticultură.

Lucrarea este structurată pe 5 capitole și cuprinde 81 de tabele și 113 figuri.

În prima parte a tezei s-a încercat o sinteză a cercetărilor efectuate la specia *Papaver somniferum*, atât din țară cât și din străinătate, cu privire la caracterizarea morfo-anatomică, biochimică și citogenetică și o caracterizare a cadrului natural în care s-au desfășurat experiențele.

În partea a doua a tezei sunt prezentate rezultatele cercetărilor proprii efectuate pe parcursul activității de doctorat, fiind inclus și capitolul ce face referire la obiectivele urmărite, materialul biologic și metodele de cercetare utilizate pentru îndeplinirea scopului acestei teze.

Pentru elaborarea lucrării și pentru interpretarea rezultatelor obținute s-au consultat un număr total de 196 titluri bibliografice, unele de pionierat, altele cu caracter monografic, indispensabile cunoașterii aspectelor de ameliorare, de tehnică experimentală, de genetica, morfologia, fiziologia și biochimia speciei studiate.

Experiențele desfășurate în condițiile de câmp la ferma Ezăreni a Stațiunii Didactice Iași au avut ca principal obiectiv creșterea variabilității în cadrul sursei de germoplasmă de mac pentru opiu (*Papaver somniferum* L., populația locală De Botoșani) prin inducerea mutațiilor cu ajutorul substanțelor chimice, urmărirea comportării unor mutante în vederea identificării de forme biologice valoroase privind productivitatea, conținutul ridicat de alcaloizi și, eventual, precocitatea, toate acestea în vederea obținerii unor familii care să poată fi propuse ulterior spre omologare și recomandare în producție.

Realizarea selecției în câmpul experimental s-a efectuat după metoda jumătății de sămânță (Munteanu, 2000), tipică pentru plantele alogame așa cum este și *Papaver somniferum*.

Conform schemei generale de realizare a selecției prin metoda jumătății de sămânță elitele de mac au fost alese individual în primele două generații, în câmpurile de alegere (CA) și respectiv, primul câmp de selecție (CS₁).

Surprinderea diferențelor de sensibilitate a speciei la acțiunea mutagenilor a fost posibilă efectuând diverse încercări atât în câmpul experimental cât și în laborator. Metodele fiziologice, biochimice și citogenetice s-au realizat în diverse laboratoare, atât în Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” cât și în afara acesteia.

Datele obținute în urma observațiilor și determinărilor efectuate au fost prelucrate statistic conform modelelor consacrate, menționate în literatura de specialitate. În generațiile M_1 și M_2 , sensibilitatea la agenții mutageni a varietății De Botoșani s-a determinat în trei repetiții, prin calcularea procentuală a gradului de răsărire și supraviețuire al plantelor și reprezentarea grafică a ecuațiilor curbelor regresiei pătratice precum și a frecvențelor de manifestare a modificărilor clorofilene și morfologice (M_1), respectiv a frecvenței mutațiilor clorofilene (M_2). Semnificațiile diferențelor dintre variantele tratate și martor au fost determinate prin metoda diferențelor limită (DL 5%, 1% și 0,1%). Caracterele cantitative s-au interpretat statistic cu ajutorul analizei varianței și al coeficientului de variabilitate. În generația M_3 s-au determinat valorile medii ale caracterelor cantitative ($\bar{x}$) și coeficienții de variabilitate ($s\%$), iar semnificațiile diferențelor dintre variantele tratate și martor au fost determinate prin metoda diferențelor limită (DL).

Pentru a testa rezistența formelor biologice luate în studiu și, de asemenea pentru a provoca o variabilitate cât mai mare în cadrul acestora, semințele au fost tratate cu cele trei substanțe chimice mutagene, fiecare substanță având câte patru doze: 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%. Aceste soluții au acționat asupra semințelor de *Papaver somniferum* L. un timp de 6 ore.

După cum se știe, acești agenți mutageni au capacitatea de a spori frecvența restructurărilor cromozomice, de a reduce capacitatea de germinare a semințelor, ritmul de creștere a plantelor și a gradului de supraviețuire.

În cercetările noastre ne-am propus selecția și evidențierea celor mai bune familii mutante, din punct de vedere cantitativ și calitativ.

Au fost investigate unele particularități morfologice deoarece considerăm că fenotipizarea unor trăsături morfologice ale capsulelor și semințelor, genic determinate, în urma tratamentelor cu substanțe chimice mutagene, poate reprezenta un criteriu suplimentar pentru selecție și pentru obținerea unor familii mutante care ar putea fi mai productive.

În experimente s-a constatat diminuarea numărului de semințe germinate odată cu creșterea dozei agentului mutagen utilizat, pentru toate variantele de tratament. În prima generație, în comparație cu martorul, la care plantele au răsărit într-un procent mediu de 95,43%, la variantele tratate plantele au răsărit eșalonat și neuniform, aproximativ în valori invers proporționale cu mărimea dozelor administrate. Toate cele trei tipuri de tratamente se apropie de DL 50, la doza de 0,04% și respectiv 0,03%, varianta tratată cu bromură de etidium fiind mai rezistentă, având 57,6% plante răsărite, iar varianta tratată cu acid 2,4-D, la doza de 0,04% se situează sub nivelul DL 50.

În generația M_1 , plantele rezultate din semințele netratate, respectiv din variantele martor ale fiecărui tip de tratament, au ajuns la maturitate în proporții relativ asemănătoare, față

de numărul plantelor răsărite. Gradul cel mai scăzut de supraviețuire a plantelor de mac s-a înregistrat în urma tratamentului cu colchicină, respectiv 88,4%, pe când la varianta tratată cu bromură de etidium au supraviețuit 91,9% din procentul plantelor răsărite. Curbele de regresie dintre gradul de supraviețuire a plantelor și dozele administrate reliefează o reacție destul de asemănătoare a celor trei substanțe chimice utilizate la aplicarea dozelor crescânde, valorile coeficienților de corelație fiind pozitive și distinct semnificative.

O dată cu mărirea dozei de acțiune a mutagenului, la tratamentele cu bromură de etidium și colchicină, s-a observat o creștere direct proporțională a înălțimii plantelor, cu excepția că la doza cea mai mare, de 0,04%, s-a înregistrat o scădere a valorilor înălțimii plantelor.

Variantele analizate au avut valori mari și foarte mari ale coeficienților de variabilitate pentru greutatea capsulelor, ceea ce sugerează că tratamentul chimic constituie un criteriu important de selecție a posibilelor forme mutante.

În cazul greutatei semințelor s-a putut constata o creștere a acestora față de martor la varianta tratată cu bromură de etidium, creșterea având loc odată cu creșterea dozei mutagenului. Sub aspectul corelației dintre cei doi parametri, greutatea capsulelor pe plantă și greutatea semințelor pe capsulă, s-au constatat valori pozitive, ceea ce înseamnă că greutatea capsulelor și greutatea semințelor se află într-o variabilitate intercondiționată.

Tratamentele cu colchicină și bromură de etidium au indus o creștere a raportului diametru – înălțime la dozele de 0,01%, 0,02% și 0,03%, concomitent cu o creștere a dozei mutagenului, fapt care reflectă influența pozitivă asupra înălțimii plantelor în prima generație. La varianta tratată cu acid 2,4-D s-a constatat o ușoară creștere a raportului doar la doza de 0,02%, iar apoi o descreștere a raportului o dată cu creșterea dozei.

La toate cele trei tipuri de tratament aplicate, plantele au înregistrat, la caracterele analizate, valori ale coeficienților de corelație modificate atât de aplicarea diferitelor doze de tratament cât și de substanța mutagenă utilizată.

În generația M_1 , în cazul tratamentului cu acid 2,4-D, s-au înregistrat foarte puține corelații negative față de celelalte două tratamente. Astfel, acidul 2,4-D putem spune că, în generația M_1 , a determinat o legătură, în general, pozitivă între caracterele ereditare, determinând o stimulare a creșterii și dezvoltării plantelor de *Papaver somniferum* L.

În generația M_2 procentul plantelor răsărite se reduce odată cu creșterea dozei mutagenului însă, în comparație cu generația M_1 , această reducere nu mai este la fel de drastică.

Valorile coeficienților de corelație, distinct semnificative, la toate tipurile de tratament analizate, indică existența unor corelații negative între procentul plantelor răsărite în generația M_2 și dozele mutagenului.

Procentul plantelor supraviețuite, față de generația M_1 , la variantele tratate cu cei trei mutageni a fost mai mare, dar dependent, în continuare, de doza mutagenului aplicat. Sub aspectul gradului de supraviețuire a plantelor, în M_2 , plantele tratate cu acid 2,4-D au fost cel mai puțin sensibile, iar cele tratate cu bromură de etidium cele mai sensibile.

La tratamentele cu colchicină și bromură de etidium, în M_2 , înălțimea plantelor crește progresiv odată cu creșterea dozei mutagenului, pe când la tratamentul cu acid 2,4-D înălțimea plantelor scade invers proporțional față de doza mutagenului. Cea mai mare înălțime medie a plantelor s-a înregistrat la variantele bromurii de etidium.

În general, cea mai mare greutate a capsulelor s-a înregistrat la doza 0,03%, pentru ca intensitatea acestui efect să scadă la cea mai mare doză, de 0,04%.

Greutatea semințelor pe capsulă a înregistrat creșteri la tratamentul cu colchicină și bromură de etidium, pe când tratamentul cu acid 2,4-D a determinat o diminuare a greutateii lor pe capsulă.

Coeficientul de corelație dintre cei doi parametri analizați, greutatea capsulelor pe plantă și greutatea semințelor pe capsulă a fost mai mare decât la martor în majoritatea cazurilor studiate, evidențiind paralelismul variabilității lor, directă proporționalitate și interdependența lor. Variabilitatea unui parametru într-un sens atrage și pe aceia a celuilalt, în același sens.

Corelația dintre numărul de raze și raportul diametru-înălțime are, în general, valori pozitive, în sensul că numărul de raze este cu atât mai mare cu cât diametrul capsulelor este mai mare.

Caracterul cel mai afectat de mutații, în M_2 , a fost tipul de creștere, cu o frecvență a mutantelor cu creștere volubilă de 0,85%, urmat de culoarea modificată a capsulelor (0,28% din întreaga generație M_2).

Plantele mutante pentru caracterele calitative nu s-au remarcat prin valori superioare ale caracterelor cantitative de interes în determinarea productivității. Acestea au fost reținute și urmărite în scopul identificării determinismului genetic – dominant sau recesiv, al caracterelor afectate.

Luând în considerare elitele mutante atât pentru caractere cantitative cât și pentru cele cantitative, pe întreg ansamblul celor trei substanțe mutagene aplicate, a rezultat o valoare medie a presiunii de selecție de 7,79%.

Determinările biometrice efectuate asupra celor 19 familii mutante pentru caractere calitative, în generația M_3 , au permis aprecierea acestora ca valoroase doar din punct de vedere teoretic; nici una dintre aceste familii nu a reușit să întrunească valori satisfăcătoare ale elementelor componente caracterelor calitative.

Dintre cele 106 familii M_3 considerate mutante pentru caractere cantitative, s-au remarcat și au fost reținute pentru a fi testate în câmpul de control doar 7 familii, respectiv cele care au cumulat valori inferioare coeficienților de variabilitate față de martorul netratat, manifestându-se astfel ca stabile în ceea ce privește micromutațiile utile induse de tratamentul cu agenți chimici mutageni. Familiile reținute sunt: B-c-3-7.4-07; B-c-4-9.2-07; B-b-1-9.7-07; B-b-2-17.1-07; B-b-4-2.6-07; B-a-2-5.1-07; B-a-3-8.6-07.

Analiza greutateii medii a semințelor pe capsulă a familiilor mutante obținute în urma tratamentului cu substanțe chimice mutagene, în câmpul de selecție, a confirmat pentru cele 7 familii testate, o reală superioritate față de martorul netratat, exprimată prin diferențe ale greutateii semințelor pe capsulă de la distinct semnificative la foarte semnificative.

Pe lângă investigațiile morfologice s-au realizat metode fiziologice, biochimice și citogenetice care vin în ajutorul selecției celor mai bune familii mutante în vederea obținerii unui noi soi.

Rezultatele obținute pot susține ideea că utilizarea substanțelor chimice în doze scăzute, urmată de o selecție riguroasă în generațiile mutante, poate constitui o metodă eficientă de obținere a unor genotipuri noi, superioare martorului netratat.

Din analiza rezultatelor obținute în urma cercetărilor efectuate în intervalul 2005-2008, care au avut ca scop principal crearea de noi genotipuri valoroase prin mutageneza indusă, la mac, s-a constatat că aplicarea diferitelor doze, ale substanțelor mutagene utilizate, au determinat manifestarea fenotipică a unor modificări importante a caracterelor studiate la plantele de *Papaver somniferum* L., populația De Botoșani.

Astfel, se poate aprecia că, la această specie tratamentul cu substanțe chimice mutagene este o metodă eficace de sporire a variabilității genetice și de obținere a unor noi forme biologice.