

INFLUENȚA STRESULUI OSMOTIC ASUPRA ACTIVITĂȚII AMILAZELOR DIN ENDOSPERM ȘI ACUMULĂRII BIOMASEI ÎN PLANTULELE OBTINUTE ÎN TIMPUL GERMINĂRII SEMINTELOR DIFERITELOR SOIURI DE GRÂU

Natalia JELEV, Alexandru DASCALIUC, Andrei GORE,

Universitatea de Stat din Moldova

Răspunsul a șase soiuri de grâu la stresul osmotik indus de PEG 6000 (15%) a fost evaluat în faza incipientă de creștere a plantulelor. În zilele 1, 3, 6 și 10 de la inițierea germinării, a fost detectată activitatea sumară a amilazelor din endosperm, precum și biomasa uscată a rădăcinilor și lăstarilor, apreciată în ziua a 10-a de creștere a plantulelor. La soiurile rezistente la secetă, activarea substanțială a amilazelor se realizează deja în primele zile de expunere a semințelor la stresul osmotik, pe când la cele tolerante această activare are loc mai târziu. După 10 zile, nivelul amilazelor tindea să se egaleze între soiuri. Totodată, soiurile rezistente au prezentat un raport mai ridicat al biomasei plantulelor supuse stresului. Rezultatele indică faptul că analiza activității amilazelor și a acumulării biomasei sub stres osmotik poate fi utilizată ca metodă eficientă de clasificare a genotipurilor de grâu după rezistența primară la secetă.

Cuvinte-cheie: *Triticum aestivum L., soiuri, activitatea amilazelor, stres osmotik, rezistență, metode.*

INFLUENCE OF OSMOTIC STRESS ON THE ACTIVITY OF ENDOSPERM AMYLASES AND BIOMASS ACCUMULATION IN SEEDLING DURING DIFFERENT WHEAT VARIETIES SEED GERMINATION

The response of six common winter wheat cultivars to osmotic stress, induced by PEG 6000 (15%), was evaluated during the early seedling growth phases. On days 1, 3, 6, and 10 after germination initiation, total endosperm amylase activity was detected, as well as root and shoot dry mass, assessed on day 10 of seedling growth. In the more drought-resistant varieties, substantial activation of amylases was achieved already in the first days of exposing seeds for germination, while in the less resistant ones, the activation of amylases occurs later. After 10 days, amylase activity levels tended to equalize across all varieties. Additionally, the resistant varieties exhibited a higher biomass ratio under stress conditions. The results indicate that analyzing amylase activity and biomass accumulation under osmotic stress may serve as an effective method for classifying wheat genotypes based on their primary drought resistance.

Keywords: *Triticum aestivum L., varieties, amylase activity, osmotic stress, resistance, methods.*

Introducere

Grâul (*Triticum aestivum L.*) este una dintre cele mai importante culturi cerealiere la nivel global, reprezentând una din cele mai importante specii de plante utilizate în alimentație. Potrivit informației din literatura de specialitate [1], această specie ocupă o arie extinsă, în special în zonele cu climă temperată, unde este frecvent supusă variației sezoniere ale precipitațiilor și temperaturii. În contextul schimbărilor climatice și a frecvenței crescute a episoadelor de secetă, adaptarea grâului la condiții de stres hidric devine o prioritate strategică în cercetarea agronomică și în programele de ameliorare genetică [2, 3]. La etapa de germinare plantele sunt deosebit de sensibile la deficitul de apă datorită faptului că în această perioadă are loc reluarea activității metabolice a embrionului și inițierea mobilizării rezervelor nutritive ale seminței [4]. Succesul creșterii și adaptărilor incipiente influențează în mod direct vigurozitatea, densitatea plantelor și randamentul final [5]. În această fază, sub influența enzimelor hidrolitice, amidonul – principala substanță de rezervă din endospermul semințelor de cereale – degradează, transformându-se în dizaharide și apoi în monozaharide, care fiind metabolizate asigură germinarea seminței și creșterea plantulei [6]. În perioada

de germinare, enzimele implicate în aceste transformări se induc hormonal, în principal de acidul giberelic. Activitatea acidului giberelic în perioada de germinare a semințelor de grâu depinde nu numai de condițiile de mediu, cum ar fi temperatura, umiditatea și disponibilitatea oxigenului, dar și de specificul genotipului [7].

Deficitul de apă în timpul germinării și creșterii plantulelor afectează negativ echilibrul osmotic celular, biosinteza și activitatea enzimelor, reducând rata de germinare, dezvoltarea sistemului radicular și acumularea de biomasă [8, 9]. Din aceste motive, identificarea unor indicatori fiabili a toleranței la stres în faza de creștere incipientă a plantulelor este esențială pentru selectarea timpurie a genotipurilor cu potențial adaptiv sporit [10, 11]. Reieșind din cele menționate, evaluarea corelației dintre biomasa acumulată de plantule în timpul germinării și activitatea amilazelor poate reflecta capacitatea metabolică a plantelor de a funcționa eficient în condiții de stres [12].

În condiții de laborator, pentru inducerea stresului osmotic caracteristic pentru condițiile de secetă, se utilizează frecvent polietilenglicolul cu masa moleculară 6000 (PEG 6000), un compus inert care reduce potențialul osmotic al mediului [13]. Acest model experimental permite reproducerea efectelor fiziologice ale secetei (asupra germinării și creșterii) în absența altor factori perturbatori, și este larg utilizat în testele de screening a plantelor tolerante la secetă [14, 15]. În acest context, **scopul** a fost de a evalua răspunsul la stresul hidric a semințelor la șase soiuri de grâu comun, prin monitorizarea biomasei radiculare, lăstarului și a plantei integre, precum și a activității sumare a amilazelor în fazele incipiente de germinare a semințelor și creștere a plantulelor.

Materiale și metode

Experimentele au fost realizate în cadrul laboratorului de Biochimia Plantelor al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM. Pentru experimente au fost alese semințele a șase soiuri de grâu comun de toamnă Meleag, Moldova 16, Moldova 614, Bijuteria Zâmbrenilor, Lăutar și Pisanca cu diferită rezistență la secetă [16, 17]. În acest scop semințele fiecărui soi au fost calibrate (trecute prin site de 2,6 mm) și selectate manual, eliminându-se cele deformate sau vizibil afectate. Ulterior semințele au fost sterilizate la suprafață prin imersare consecutivă în 80% etanol, timp de 1 minută, și apoi în soluție de hipoclorit de sodiu de 2,0%, timp de 20 minute. După clătirea cu apă distilată, semințele fiecărui soi au fost distribuite în variantele martor și experimentale. Fiecare variantă a fost alcătuită în 4 repetiții, fiecare repetiție conținând câte 30 de semințe. Semințele au fost semănate între două discuri de hârtie de filtru umezate cu apă distilată (pentru varianta martor) sau cu soluție de PEG 6000 în concentrație de 15% (pentru varianta experimentală), în cutii Petri. Germinarea și creșterea plantulelor a fost realizată în camera climatică RU-MED TIP 3401 (RFG), la temperatura de $22 \pm 1,0$ °C, în întuneric. Semințele au fost amplasate pentru germinație pe parcursul a 10 zile. În timpul germinării a fost apreciată activitatea sumară a amilazelor în extractele din endospermul semințelor, determinată prin metoda spectrofotometrică [18], cu unele modificări, utilizând amidon solubil în calitate de substrat.

Pentru determinarea activității amilazelor, în zilele 1, 3, 6 și 10 de la inițierea germinării semințelor din variantele martor și cele experimentale au fost prelevate probe conținând 200 mg de biomasă a endospermului. Probele au fost mărunțite într-un mojar de porțelan cu pistil, în prezența unei cantități mici de praf de sticlă și 10 ml soluție de NaCl 1%, până la obținerea unei suspensii omogene. Suspensia a fost transferată cantitativ într-un balon cotat de 50 ml. Mojarul și pistilul au fost clătite cu porții mici de soluție NaCl 1% până la completarea volumului final, egal cu 50 ml. Extragerea enzimei din biomasă a fost efectuată sub agitare constantă pe parcursul unei ore, la temperatura de 3-4°C. Ulterior, extractul a fost centrifugat la 5000 g timp de 15 minute, iar supernatantul rezultat a fost utilizat pentru determinarea activității amilazelor.

În prealabil, pentru determinarea activității enzimactice, în eprubete a fost adăugate câte 3 ml soluție tampon acetat de sodiu 0,2 N (pH 5,5) și 3 ml soluție de amidon 2%. Eprubetele au fost plasate într-o baie de apă la temperatura de 40°C. Apoi, în fiecare eprubetă au fost adăugate câte 0,5 ml extract enzimatic, urmat de omogenizare ușoară. A fost pregătită și o eprubetă martor, în care extractul enzimatic a fost înlocuit cu 0,5 ml de apă distilată. Toate eprubetele au fost incubate timp de 30 minute la 40°C.

Reacția enzimatică a fost oprită prin adăugarea a 2 ml HCl 1 N în fiecare eprubetă, urmată de omogenizare. Din fiecare amestec au fost prelevate 0,5 ml, transferate în baloane cotate de 50 ml (umplute cu 25 ml

apă distilată), adăugate 1 ml HCl 0,1 N și 100 μ l soluție de iod 0,3% (dizolvat în KI 3%). Volumul final a fost completat până la 50 ml cu apă distilată și bine omogenizat.

Colorația soluțiilor a fost monitorizată la intervale constante (3 minute), pentru asigurarea unui timp uniform între inițierea reacției de colorare și măsurarea spectrofotometrică. Densitatea optică a soluției a fost determinată la spectrofotometru, model NCT 60, la lungimea de undă de 595 nm. Activitatea amilazelor a fost exprimată în mg de amidon hidrolizat pe parcursul a 1 ore per ml de extract enzimatic, conform formulei:

$$A = (E_m - E_e / E_m) \times (2 \times 2 / 60),$$

unde: **A** – activitatea amilazelor (mg de amidon scindat/oră/ml de extract enzimatic); **E_m** – densitatea optică a probei martor (fără enzimă); **E_e** – densitatea optică a probei tratate cu extract enzimatic; **2 x 2** – coeficienți de conversie pentru exprimarea rezultatului raportat la 1 ml de enzimă și o durată de 1 oră; **60** – cantitatea de amidon (mg), conținută în 3 ml soluție de amidon 2 %.

Pentru a evidenția dinamica de adaptare a răspunsului metabolic la stresul osmotic, a fost estimată activitatea relativă a amilazelor (ARA) prin raportul dintre activitatea amilazelor determinată în semințele incubate în soluție conținând PEG 6000 și cea înregistrată la varianta martor, la fiecare interval de prelevare (1, 3, 6 și 10 zile de germinare). ARA la momentul **t** a fost exprimată în procente:

$$ARA(t) = (A_{PEG}(t) / A_{martor}(t)) \times 100\%,$$

unde: **A_{PEG}(t)** - activitatea amilazelor determinată în semințele tratate cu PEG 6000 la momentul **t** (zile); **A_{martor}(t)**: activitatea amilazelor în semințele martor la momentul **t**. Astfel, a fost apreciată activitatea relativă a amilazelor în semințele în soluție PEG 6000 ca procent față de martor.

La finalul perioadei de germinare, plantulele obținute au fost recoltate și supuse separării rădăcinilor, lăstarului și părții neutilizate a seminței. Fiecare fracțiune a fost uscată în etuvă, la temperatura de +105°C, până la o masă constantă și apoi cântărită la o balanță analitică de mare precizie (Sartorius CP224S).

Pentru evidențierea impactului tratamentului osmotic asupra acumulării relative a biomasei (ARM), masa uscată a plantulelor din variantele tratate cu PEG 6000 a fost raportată la masa din varianta martor și exprimată procentual, conform formulei:

$$ARM(t) = (M_{PEG}(t) / M_{martor}(t)) \times 100\%,$$

unde **ARM(t)** reprezintă procentul masei obținute în condiții de stres față de control, la momentul **t** al acumulării; **M_{PEG}(t)** – masă uscată determinată în varianta tratată cu PEG 6000 la momentul **t**. **M_{martor}(t)** – masă uscată în varianta martor la același moment **t**.

Analiza statistică

Analiza statistică a datelor a fost efectuată cu utilizarea programelor „Statistica 10” pentru computer. Diferențele statistic semnificative dintre variante a fost analizată prin analiza varianței mono factoriale (ANOVA), urmată de testul post-hoc Tukey HSD. Fiecare experiment a fost repetat cel puțin de trei ori, fiind calculată media și devierea standard a mediei.

Rezultate și discuții

Germinarea semințelor și creșterea plantulelor în faza incipientă a plantelor de grâu comun reprezintă un proces complex, influențat atât de specificul genotipului, cât și de condițiile de mediu, în special de disponibilitatea apei. Enzimele din clasa amilazelor joacă un rol esențial în mobilizarea rezervelor de amidon, facilitând eliberarea zaharurilor simple necesare susținerii metabolismului embrionar și creșterii plantulei [19]. În acest context, activitatea amilazelor a fost evaluată în semințele a șase soiuri de grâu comun (Meleag, Moldova 614, Moldova 16, Bijuteria Zâmbrenilor, Lăutar și Pisanca) pe parcursul germinării semințelor și creșterii plantulelor în ziua 1, 3, 6 și 10 de la inițierea germinării, atât în condiții optime (martor), cât și sub stresul osmotic indus cu PEG 6000 în concentrație de 15%. Datele obținute demonstrează sporirea activității amilazelor odată cu avansarea procesului de germinare, confirmând rolul acestora în mobilizarea rezervelor de amidon necesare pentru germinarea și creșterea plantulelor (Figura 1A și 1B). După prima zi de la inițierea germinării, la toate soiurile valorile activității amilazelor sunt scăzute în extractele din endospermul semințelor variantelor martor și experimentale, dar totuși se observă tendința de reducere

a activității amilazelor sub influența PEG 6000. Acest efect este mai pronunțat la soiurile Pisanca și Lăutar, ceea ce sugerează despre sensibilitatea mai ridicată la stresul osmotic. Totodată, la soiurile Bijuteria Zâmbrenilor și Moldova 614, după această perioadă efectul PEG 6000 practic nu se observă. Ulterior, în ziua a treia și a șasea, activitatea amilazelor în extractele din endospermul semințelor tuturor soiurilor sporește semnificativ, atât în varianta experimentală cât și în cea martor. Totodată, la toate soiurile, ritmul de sporire a activității amilazelor în extractele din endospermul variantei experimentale a fost mai înalt, fapt datorită căruia, la soiurile Meleag, Pisanca și Lăutar, diferențele dintre varianta martor și cea experimentală în ziua a șasea tind să devină maxime. La soiurile Moldova 16, Bijuteria Zâmbrenilor și Moldova 614, aceste legități se păstrează, dar diferențele dintre varianta martor și cea experimentală sunt mai puțin pronunțate.

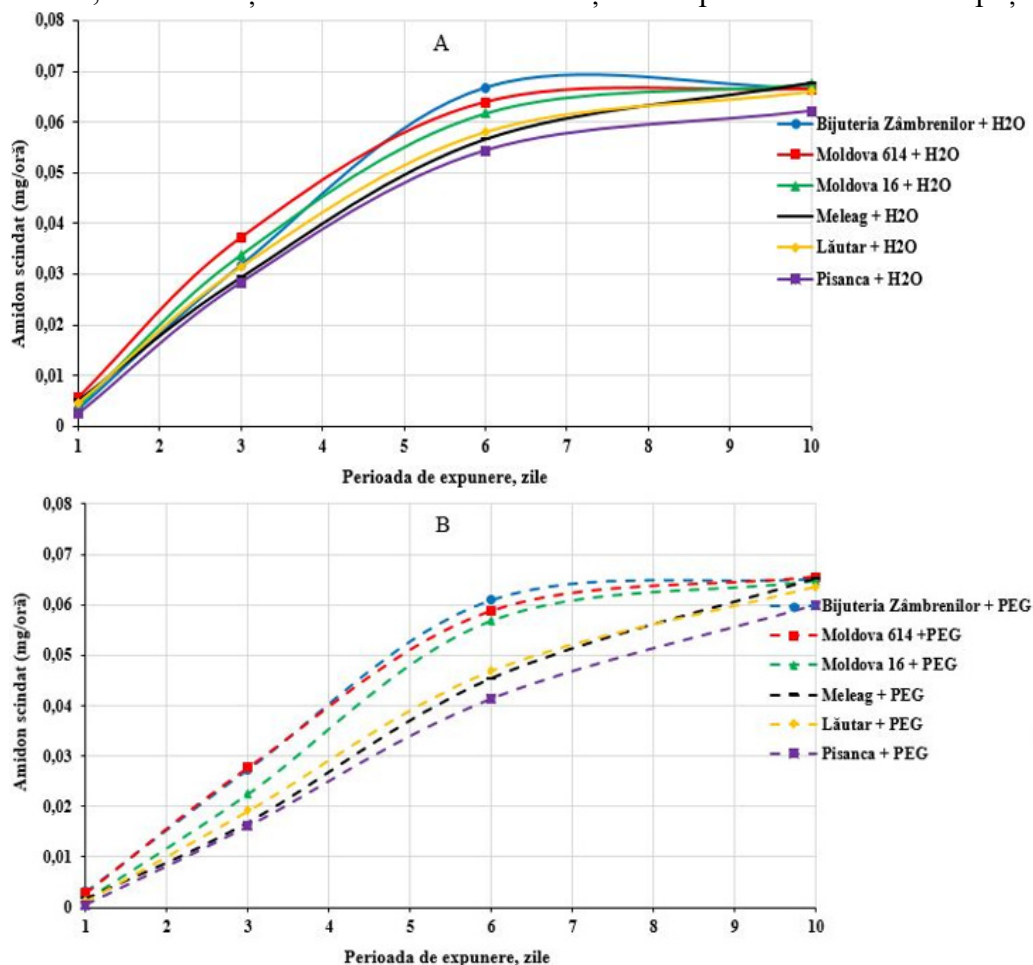


Figura 1. Dinamica inducerii activității amilazelor în endospermul semințelor diferitor soiuri de grâu comun de toamnă pe parcursul a 10 zile de incubare în condiții de germinare optime (A) și de stres osmotic (B), indus cu PEG 6000 (15%)

La șase zile de la inițierea germinării, diferențele dintre variantele martor și cele tratate cu PEG 6000 încep să se estompeze. De aici rezultă că la diferite soiuri de grâu procesele metabolice care asigură germinarea semințelor și creșterea plantulelor se desfășoară într-un ritm diferit, la toate soiurile acest ritm fiind frânat de prezența în mediul de germinare a PEG 6000. Este clar că în timpul incubării pentru germinarea semințelor dinamica de activare a amilazelor în endospermul fiecărui soi de grâu suferă variații, datorită la ce după 10 zile de incubare în ambele variante la toate soiurile se manifestă clar tendința de egalare a activității sumare a amilazelor, extrase din endosperm. În așa fel, la soiurile Bijuteria Zâmbrenilor, Moldova 614 și Moldova 16 activarea amilazelor în endosperm este mai înaltă în primele șase zile după inițierea germinării, atunci când în endospermul soiurilor Meleag, Pisanca și Lăutar aceste procese se manifestă mai târziu, atât în condiții optimale, cât și sub influența stresului hidric, indus artificial. Diferența ritmului de activare a amilazelor în timpul germinării semințelor sugerează despre diferențele în eficacitatea proceselor de adaptare ale acestora la stresul osmotic. Din acest punct de vedere soiurile Bijuteria Zâmbreni-

lor și Moldova 614 se disting prin inducerea mai rapidă a activității amilazelor în varianta martor și cea experimentală, cea ce sugerează despre capacitatea superioară de adaptare ale acestora la stresul hidric. În primele zile după inițierea germinării semințele soiurilor Pisanca și Lăutar sunt mai afectate de stresul osmotic, ceea ce duce la diminuarea capacității semințelor acestor soiuri de a germina și de a se dezvolta eficient în condiții de secetă. Soiurile Meleag și Moldova 16 manifestă un răspuns intermediar, caracterizat printr-o afectare vizibilă a activității amilazelor în fazele timpurii, urmată de o adaptare rapidă începând cu ziua a treia de incubare pentru germinare. Rezultatele analizei statistice efectuate prin testul Tukey HSD au evidențiat diferențe statistice semnificative ($p < 0,05$) dintre variantele martor și cele supuse stresului osmotic, la majoritatea soiurilor analizate.

În ansamblu, datele obținute confirmă faptul că stresul osmotic determină o inhibare temporară a activității amilazelor, cu dinamică și intensitate variabilă în funcție de genotip. Capacitatea semințelor soiului de a-și menține, sau recupera rapid activitatea enzimatică în condiții de stres osmotic indică potențialul acestuia de a fi utilizat în programele de ameliorare a toleranței genotipurilor la secetă și alte forme de stres abiotic.

În scopul stabilirii perioadei optime de distribuire a soiurilor de grâu în baza cinetici de activare a amilazelor în timpul germinării semințelor noi am estimat dinamica raportului dintre activitatea amilazelor în condiții de stres față de cea în varianta martor (Figura 2). La toate soiurile s-a manifestat sporirea activității relative ale amilazelor (ARA) din varianta experimentală odată cu mărirea perioadei de incubare pentru germinare a semințelor, dar ritmul acestor schimbări la diferite soiuri a fost diferit chiar în ziua întâi de expoziție pentru germinare. În ziua întâi de incubare pentru germinare după nivelul ARA soiurile s-au repartizat în felul următor: Bijuteria Zâmbrenilor, Moldova 614, Moldova 16, Lăutar, Meleag și Pisanca. Diferențele dintre soiuri privind valoarea ARA s-au păstrat pe parcursul celor 10 zile de incubare pentru germinare, dar dacă luăm în calcul valorile ARA la diferite soiuri și diferențele dintre acestea, fiabilitatea determinării diferenței dintre soiuri privind activitatea amilazelor este superioară în ziua a doua sau a treia de la inițierea germinării. Esențial este faptul că după ziua a treia, indiferent de soi, cinetica schimbării nivelului ARA duce la egalarea treptată a valorii totale ale acestora, care se realizează în ziua a 10 după inițierea germinării semințelor, tinzând să devină egale cu 100. De aici rezultă că cu sporirea duratei de germinare, în endospermul semințelor plantelor experimentale se manifestă ajustarea treptată a activității amilazelor. Eficacitatea acestor ajustări este cu atât mai înaltă, cu cât la soiul dat activitatea amilazelor din endosperm în ziua a treia sau a șasea de la inițierea germinării este mai înaltă. Aceste rezultate confirmă datele literaturii de specialitate care demonstrează că adaptarea plantelor la stresul osmotic din timpul creșterii se realizează datorită restructurării metabolismului, care în condiții optime se petrece mai rapid [20].

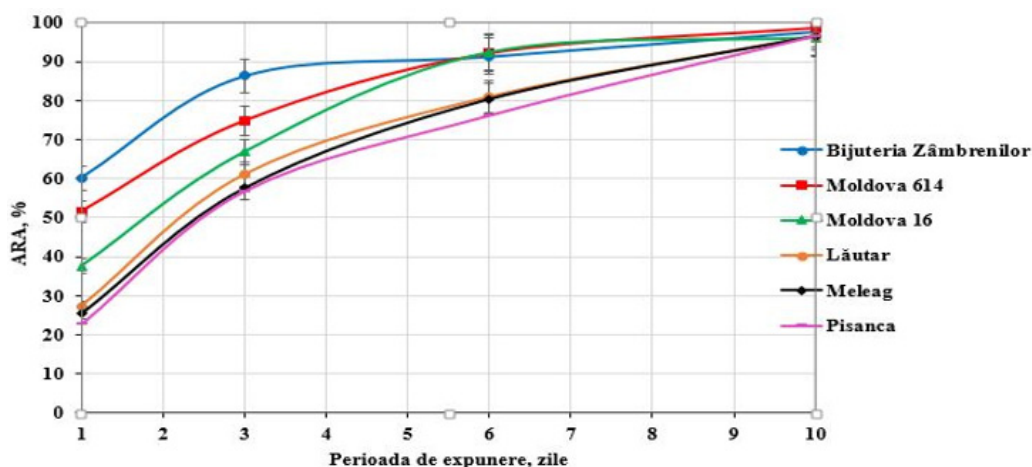


Figura 2. Dinamica raportului dintre activitatea amilazelor din endospermul semințelor diferitelor soiuri de grâu comun, germinate în condiții de stres osmotic (simulat cu PEG 6000 - 15%) și cea din semințele germinate în condiții martor, pe parcursul primelor 10 zile după incubarea pentru germinare

Pe lângă modificările ARA observate, a fost esențial să analizăm impactul stresului osmotic și asupra morfogenezei, în special asupra biomasei rădăcinilor, lăstarului și plantei întregi (Figura 3). Din această figură observăm că germinarea și creșterea în prezența PEG 6000 a cauzat reducerea semnificativă a biomasei uscate la toate soiurile, confirmând efectul negativ generalizat al deficitului de apă asupra creșterii și dezvoltării plantulelor. Stresul osmotic frânează biosinteza macromoleculelor și diviziunile celulare, afectând atât creșterea rădăcinilor, cât și a lăstarului [21]. La plantulele tuturor soiurilor incluse în cercetare, obținute în condiții de stres osmotic, a fost evidențiată reducerea semnificativă a biomasei plantulelor. Aceste rezultate sunt în concordanță cu datele literaturii de specialitate [22], care explică inhibarea creșterii plantelor în condiții de stres osmotic ca urmare a reducerii turgescenței celulare și activității metabolice. Ca și în cazul activității amilazelor, după influența asupra biomasei plantulelor, stresul osmotic a influențat la un nivel diferit plantulele soiurilor incluse în cercetare. Deși, sub influența stresului osmotic, nivelul de inhibare a acumulării biomasei rădăcinilor nu s-a deosebit semnificativ de cel al biomasei lăstarilor, la toate soiurile incluse în cercetare a fost observată o legitate generală: stresul osmotic a manifestat un efect inhibitor mai pronunțat asupra biomasei rădăcinilor în comparație cu cea a lăstarilor. Se presupune că acesta este un mecanism compensator, care contribuie la menținerea fotosintezei și a potențialului de regenerare după încetarea stresului, frecvent întâlnit la soiurile tolerante la secetă [23, 24].

Analiza biomasei totale a plantulei a confirmat tendințele observate anterior, cu performanțe superioare înregistrate la soiurile Moldova 16 și Bijuteria Zâmbrenilor. În condiții de stres osmotic ambele soiuri acumulează biomasa uscată care depășește 75% comparativ cu cea a plantulelor din varianta martor, ceea ce sugerează despre rezistența superioară a plantelor acestor soiuri la stresul hidric. O altă extremă reprezintă soiul Meleag, plantulele căruia în condiții de stres osmotic au acumulat biomasa, care constituie doar circa 67% din biomasa plantulelor din varianta martor. Luând în considerație faptul că soiurile de grâu incluse în cercetare reprezintă rezultatul selecției relativ recente, datele obținute sugerează că cu toate că plantele acestor soiuri pot menține un echilibru funcțional în condiții de stres, totuși la diferite soiuri potențialul genetic de toleranță la stresul osmotic diferă, ceea ce sugerează despre perspectivele aplicării acestei metode pentru selecția genotipurilor de grâu, rezistente la secetă.

Rezultatele obținute sunt în concordanță cu datele raportate în alte studii în care a fost utilizat PEG pentru simularea stresului osmotic [25], confirmând faptul că în astfel de condiții reducerea biomasei uscate este un răspuns fiziologic tipic. Totodată, variabilitatea observată accentuează necesitatea evaluării complexe a caracterelor morfologice pentru o caracterizare adecvată a toleranței diferitor genotipuri de grâu la secetă. Performanța superioară a soiurilor Moldova 16 și Bijuteria Zâmbrenilor, reflectată prin menținerea biomasei radiculare și a lăstarului, evidențiază potențialul acestora ca material genetic valoros pentru aplicare în programele de ameliorare a toleranței la secetă a grâului de toamnă. Aceste rezultate confirmă observațiile anterioare care susțin corelația pozitivă dintre stabilitatea creșterii sistemului radicular, eficiența utilizării apei și reziliența plantelor față de stresul hidric [26].

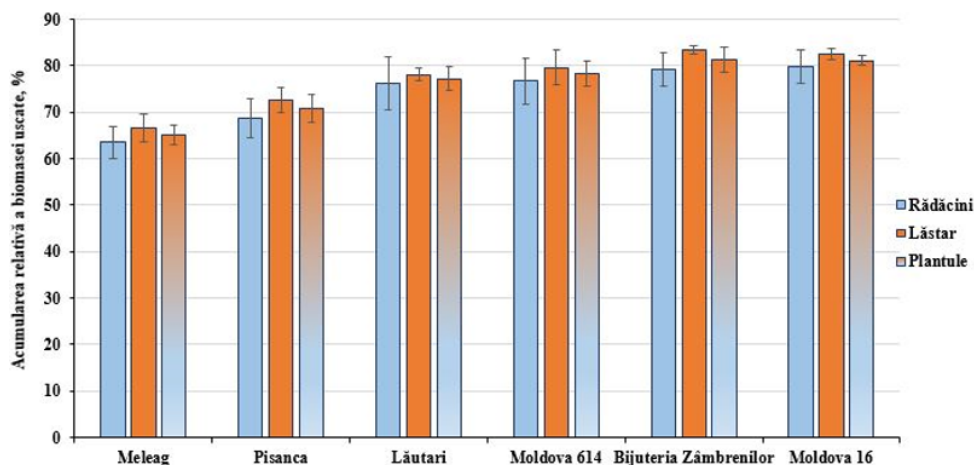


Figura 3. Acumularea relativă a biomasei rădăcinilor, lăstarilor și plantulelor întregi ale soiurilor de grâu comun de toamnă cultivate în condiții de stres osmotic (15% PEG 6000), determinată în ziua a 10-a după incubarea pentru germinare

Rezultatele obținute în acest studiu evidențiază în mod clar influența stresului osmotic indus de PEG 6000 asupra proceselor de germinare și dezvoltare timpurie a plantulelor de grâu. Atât activitatea amilazelor, cât și biomasa uscată a plantulelor, a suferit modificări semnificative în condiții de stres osmotic. La diferite soiuri aceste modificări diferă substanțial, datorită la ce în baza nivelului de inhibare a acumulării biomasei rădăcinilor și părții aeriene a genotipurilor de grâu pot fi distribuite în corespundere cu rezistența lor primară la secetă. Luând în considerație faptul că rezistența totală a genotipurilor corelează cu rezistența lor primară [27], această metodă poate fi eficientă în perfecționarea procedeelor de selecție a genotipurilor de grâu, rezistente la secetă.

Diminuarea biomasei uscate în toate soiurile sub stresul osmotic a fost scontată și este în concordanță cu efectele fiziologice ale PEG-ului asupra germinației: reducerea potențialului osmotic intern, limitarea absorbției apei și încetinirea diviziunilor celulare [28, 29]. Cu toate acestea, soiurile Moldova 16 și Bijuteria Zâmbrenilor s-au distins prin menținerea unui nivel înalt de acumulare a biomasei plantulelor experimentale, ceea ce sugerează despre alocarea eficientă a substanțelor de rezervă și o mai eficientă gestionare a metabolismului în condiții adverse în comparație cu cea caracteristică pentru semințele altor soiuri. De menționat este faptul că soiurile care au manifestat activitate mai înaltă a amilazelor în extractele din endospermul semințelor germinate în condiții de stres osmotic au prezentat și o dinamică mai eficientă a sporirii biomasei plantulelor, ceea ce susține ideea despre importanța mobilizării eficiente a rezervelor endospermului pentru susținerea creșterii plantulelor. Astfel, analiza activității amilazelor extrase din endospermul plantulelor de grâu poate constitui un indicator funcțional prealabil pentru aprecierea capacității unui genotip de a tolera stresul hidric, chiar înainte de observarea unor modificări morfologice vizibile la plante.

Identificarea genotipurilor capabile să atingă activitate sporită a amilazelor în endospermul semințelor în perioada de inițiere a germinării în condiții de stres hidric este esențială în contextul actual al schimbărilor climatice, când frecvența și severitatea secetelor afectează din ce în ce mai mult culturile agricole. Această viziune este susținută de faptul că soiurile Moldova 614, Moldova 16 și Bijuteria Zâmbrenilor, care au rezistență sporită la secetă la fel se caracterizează prin capacitatea sporită de inducere a activității amilazelor din endosperm în perioadele de inițiere a germinării semințelor și creșterii plantulelor.

Concluzii

În cercetările realizate a fost evidențiat impactul semnificativ a stresului osmotic indus cu PEG 6000 asupra activității amilazelor și biomasei uscate a plantulelor, demonstrând diferențe notabile dintre șase soiuri de grâu comun de toamnă. Rezultatele obținute permit formularea următoarelor concluzii:

1. Activitatea amilazelor este un indicator sensibil și relevant al inițierii germinării semințelor și toleranței genotipurilor de grâu la stresul hidric.
2. Soiurile Moldova 614, Moldova 16 și Bijuteria Zâmbrenilor se remarcă prin rezistență înaltă la stresul osmotic, demonstrând capacitate de restabilire eficientă a activității amilazelor în perioada de inițiere a germinării semințelor și creșterii plantulelor, ceea ce le deosebește de soiurile sensibile la secetă, Lăutar, Meleag și Pisanca.
3. În scopul selectării perioadei optime de distribuție a soiurilor după rezistența lor la stresul hidric se recomandă estimarea indicilor de creștere relativă a activității amilazelor și biomasei uscate în zilele a treia, sau a șasea, după inițierea germinării. Datorită faptului că rezistența inițială la stresul hidric a genotipurilor de grâu corelează cu rezistența indusă după adaptarea acestora, metoda dată poate servi pentru selectarea preliminară, în mod accelerat, a genotipurilor de grâu după rezistența lor la secetă.
4. Utilizarea soluției de PEG 6000 în concentrație de 15%, ca doză de simulare a deficitului hidric, s-a dovedit a fi eficientă și reproductibilă, permițând evaluarea rapidă a răspunsurilor biochimice și fiziologice la stresul hidric a genotipurilor de grâu în faza de germinare a semințelor și cea incipientă de creștere a plantulelor.

În ansamblu, rezultatele obținute susțin perspectiva utilizării integrate a parametrilor biochimici și fiziologici pentru evaluarea toleranței la stresul hidric în stadiile de germinare a semințelor și creștere a plantulelor de grâu. Soiurile cu performanțe constante în ambele categorii reprezintă candidați valoroși pentru aplicare în procedeele de ameliorarea genetică, în contextul provocărilor climatice actuale.

N.B.: Cercetările au fost realizate în cadrul subprogramului 011101 „Abordări genetice și biotehnologice de management al agroecosistemelor în condițiile schimbărilor climatice”, finanțat de către Ministerul Educației și Cercetării al Republicii Moldova.

Bibliografie:

1. POGGI, G. et al. Climate change effects on bread wheat phenology and grain quality: A case study in the north of Italy. In: *Frontiers in Plant Science*. 2022, vol. 13, p. 01-17. ISSN 1664-462X.
2. GEORGE, N. M. et al. Alleviating the drought stress and improving the plant resistance properties of *Triticum aestivum* L., via biopriming with *aspergillus fumigatus*. In: *BMC Plant Biology*. 2024, vol. 24, no. 150, p. 1-19. ISSN 1471-2229.
3. CHAUHDARY, J. N. et al. Climate change impacts on future wheat (*Triticum aestivum* L.) yield, growth periods and irrigation requirements: a SALTMED model simulations analysis. In: *J. Agronomy*. 2024, vol. 14, no. 7, p. 1-23. ISSN 2073-4395.
4. RIFNA, E.J., RAMAMANAN, R., RADHAKRISHNAN, M. Emerging technology applications for improving seed germination. In: *Trends in Food Science and Technology*. 2019, vol.8, p.95-108. ISSN 1879-3053.
5. ANWAR, M.P. et al. Relationship between seed priming mediated seedling vigor and yield performance of spring wheat. In: *Phyton – International Journal of Experimental Botany*. 2024, vol. 93, no. 6, p. 1159–1177. ISSN 2348 – 8069.
6. SALMAN, S.K. et al. Production of alpha – amylase enzyme from grain sprouting. In: *European Journal of Medical Genetics and Clinical Biology*. 2024, vol. 1, no. 5, p.1-14. ISSN 3032-1085.
7. FAROOK, M. et al. Extrinsic role of gibberellin mitigating salinity effect in different rice genotypes. In: *Front. Plant Sci.* 2022, vol. 13, p. 01-13. ISSN 1664-462X.
8. AHMED, K. Exploring drought tolerance for germination traits of diverse wheat genotypes at seedling stage: a multivariate analysis approach. In: *BMC Plant Biology*. 2025, vol. 25, no. 390, p. 1-18. ISSN 1471-2229.
9. NIJABAT, A. et al. Variation in seed germination and amylase activity of diverse carrot (*Daucus carota* L.) germplasm under simulated drought stress. In: *Horts Science*. 2023, vol. 58(2), p. 205 -214. ISSN 2688-4046.
10. WANG, J. et al. Analysis of physiological indicators associated with drought tolerance in wheat under drought and re-watering conditions. In: *J. Antioxidants*. 2022, vol. 11, no. 11, p. 1-18. ISSN 2076-3921.
11. PADILHA M. S., et al. Phytase and alpha-amylase activity are positively associated with seed vigor in common bean seeds. In: *Revista Ciência Agronômica*. 2024, vol. 55, e20238762, p.1-8. ISSN 1806-6690.
12. LAMLOM S. F. et al. Biochemical and yield response of spring wheat to drought stress through gibberellic and abscisic acids. In: *BMC Plant Biology*. 2025, vol. 25, no. 5, p. 1-12. ISSN 1471-2229.
13. DUCA, M. et al. Abordări metodologice în studiul stresului hidric la plante. În: *Studia Universitatis Moldaviae*. 2024, nr. 1(171). ISSN 1814-3237.
14. LEI, C. et al. Osmopriming with polyethylene glycol (PEG) for abiotic stress tolerance in germinating crop seeds: a review. In: *J. Agronomy*. 2021, vol. 11, no. 11, p. 1-12. ISSN 2073-4395.
15. PERSIC, V. et al. PEG-induced physiological drought for screening winter wheat genotypes sensitivity – integrated biochemical and chlorophyll a fluorescence analysis. In: *Front. Plant Sci.* 2022, vol. 13, p. 1-22. ISSN 1664-462X.
16. ПОСТОЛАТИ, А. К вопросу о засухо-жаростойкости и адаптивности мягкой озимой пшеницы в Республике Молдова. In: *Știința Agricolă*. 2016, nr. 2, p. 17-21. ISSN 1857-0003.
17. GORE, A., ROTARI, S., LEATAMBORG, S., LUPAȘCU, G., JELEV, N. Grâu (*Triticum aestivum* L.) soiul Moldova 614. MD 412 - Nr. cererii v 2019 0011; data depozit 2019.08.29; data acordării 2023.04.30 (BOPI, 2023, nr 4, p. 78); data eliberării 2023.10.31, BOPI, 2023, nr. 10, p.74.
18. НЕВМЕРЖИЦКАЯ, Ю. Ю. Методы определения белков и ферментов (Методическое пособие), Казанский Федеральный университет: Казань, 2012. 36 с.
19. SOMMER, A. S. et al. Hydrolytic enzyme activity (phytase and α -amylase) is decisive in the germination metabolism of maize seeds under salt stress. In: *Agricultural Sciences*. 2024, p. 1-11. ISSN 1981-1829.
20. VERSLUES, P. E. et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. In: *The Plant Journal*. 2006, vol. 45, no. 4, p. 523–539. ISSN 1365-313X.

21. HU, Q. et al. Wheat seed germination based on α -amylase activity to study promoting mechanism of *Bacillus subtilis* QM3. *Journal of Seed Science*. 2022, vol. 44, e202244038, p. 1-9. ISSN 2317-1545.
22. TERLETSKAYA, N. V. et al. Some mechanisms modulating the root growth of various wheat species under osmotic-stress conditions. In: *J. Plants*. 2020, vol. 9, no. 11, p. 1-14. ISSN 2223-7747.
23. KUMAR, M., YADAV, S., GUPTA, R. The role of root growth and osmotic regulation in drought tolerance in plants. In: *Journal of Plant Physiology*. 2017, vol. 215, p. 123-135. ISSN 1618-1328.
24. BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – Are they really related? In: *Plant Physiology*. 2011, vol. 161, no. 3, p. 1122-1128. ISSN 0032-0889.
25. FAROOQ, M., WAHID, A., KOBAYASHI, N. Plant drought stress: impacts, mechanisms and mitigation strategies. In: *Agronomy for Sustainable Development*. 2014, vol. 34, no. 3, p. 153-171. ISSN 1773-0155.
26. ZARGAR, S. M., SHEIKH, I., ALI, M. Evaluation of drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under polyethylene glycol (PEG) induced osmotic stress conditions. In: *Journal of Plant Physiology*. 2017, vol. 216, p. 78-87. ISSN 1618-1328.
27. JELEV N. Evaluarea și modificarea rezistenței relative a genotipurilor de grâu (*Triticum aestivum* L.) la temperaturi extreme. Teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2023.
28. GHOSH, S., SHAHED, A., ROBIN, K. Polyethylene glycol induced osmotic stress affects germination and seedling establishment of wheat genotypes. In: *Plant Breed. Biotech*. 2020, vol. 8, no. 2, p. 174-185. ISSN 2287-9366.
29. SPANIC, V. et al. Changes in metabolites produced in wheat plants against water-deficit stress. In: *Plants*. 2025, vol. 14, no. 10, p. 1-17. ISSN 2223-7747.

Date despre autori:

Natalia JELEV, doctor în științe biologice, cercetător științific coordonator, Laboratorul Biochimia Plantelor, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.

ORCID: 0000-0002-1664-6055

E-mail: natalia.jelev@sti.usm.md

Alexandru DASCALIUC, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar Laboratorul Biochimia Plantelor, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.

ORCID: 0000-0003-3210-6144,

E-mail: alexandru.dascaliuc@sti.usm.md

Andrei GORE, doctor în științe agricole, cercetător științific superior, Laboratorul Genetică Aplicată, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.

ORCID: 0009-0002-7356-7289

E-mail: andrei.gore@sti.usm.md

Prezentat: 01.10.2025