

CAPACITĂȚILE ADAPTATIVE ALE GAMETOFITULUI MASCULIN LA SPECIA *CUPHEA LANCEOLATA* AIT.

Victoria MIHĂILĂ, Elena BĂLICI

Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al AȘM

Various *Cuphea* species are adapted to temperate climates and characterized by caprylic, capric, and lauric acid-rich seed oils. These fatty acids are solely commercially available from palm kernel and coconut oils; thus is considerable interest in *Cuphea* as an alternative source of these fatty acids. The main objective of present study is the evaluation of the *Cuphea lanceolata* Ait. species by their resistance to high temperatures and drought, using the method of male gametophyte selection. The pollen viability was determined by the method of in vitro cultivation on a nutrient medium. The significant difference of this character among genotypes under study was revealed. The variability of pollen viability was also observed. The effect of high temperature on male gametophyte viability was investigated. Evaluation of genetic forms by the length of pollen tube demonstrated a significant variability depending on the genotype. There is no correlation between the length of pollen tube and resistance of investigated genotypes (it requires an extensive study in the following experiments). The selection method at the gametophyte level revealed the samples resistant to high temperatures and drought that, later, can be included in the breeding programs to obtain hybrids with valuable agro-biological characters.

Actualmente a sporit necesitatea industriei în trigliceride de catenă medie, care sunt furnizate de speciile tropicale cocosul și palmierul uleios african [1]. Prin investigații s-a demonstrat că există surse mult mai accesibile, la care pot fi atribuiți și reprezentanții genului *Cuphea* P. Browne (fam. *Lythraceae* Jaume St.-Hill.) ce include circa 260 specii originare din America Centrală și din America de Sud.

Reprezentanții acestui gen se deosebesc de ceilalți membri ai familiei prin flori tubulare, zigomorfe, androceul alcătuit din 11 stamine și printr-un mecanism unic de dispersare a semințelor. Interesul față de aceste specii a avansat începând cu anii '60 ai sec. XX, grație numeroaselor investigații efectuate de botanistul Shirlei A. Graham [2]. Un număr semnificativ de specii *Cuphea* se caracterizează prin semințele bogate în uleiuri, a căror cantitate variază în limitele 16-42% [3]. Componenta uleiului este determinată de acizi grași cu catenă medie – capric (C-8:0), caprilic (C-10:0), lauric (C-12:0), miristic (C-14:0), care sunt pe larg utilizați în industria de producere a detergenților, plastifcatorilor, lubrifianților în cosmetologie, alimentație ș.a. [2-4].

Studiile ulterioare au demonstrat că unele specii *Cuphea* posedă caracteristici de plante sălbatice, ceea ce ar putea limita capacitatea lor de a fi cultivate ca plante agricole [5]. De aceea, sunt necesare eforturi pentru obținerea unor populații, apoi soiuri și linii cu caractere cantitative și calitative dezirabile, rezistente la condițiile ambientale.

Un obiectiv al cercetării și implementării surselor genofondului îl constituie caracterizarea complexă a mostrelor din colecții conform normei lor de reacție, stabilității și plasticității acestora față de condițiile mediului. Aceasta impune un studiu minuțios al biologiei speciei, utilizarea celor mai adecvate metode de ameliorare cu scopul de a scoate în evidență relația genotip-mediu. Datele obținute permit o implementare mai eficientă a speciilor vegetale în procesele de analiză, ameliorare sau producție și oferă posibilitatea obținerii unor cultivari – donatori de însușiri prețioase.

Scopul cercetărilor noastre rezidă în evaluarea speciei *Cuphea lanceolata* după rezistența ei la temperaturi înalte și la secetă prin utilizarea metodei de selectare la nivelul gametofitului masculin.

Material și metode

Materialul biologic de cercetare a inclus 14 mostre ale speciei *Cuphea lanceolata* Ait., ale căror semințe au fost achiziționate din diferite bănci de gene. Experiențele de câmp au fost efectuate pe 14 parcele experimentale izolate spațial. Sunt prezentate rezultatele comparative ale experiențelor pe parcursul a 3 ani.

Condițiile climaterice pentru creșterea speciei nominalizate în zona de Centru a Republicii Moldova au fost favorabile în anii 2006 și 2011, dar neprielnice în 2007. Caracteristicile principale sezonale sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1

**Datele meteorologice în zona de vegetație și de cercetare
(conform datelor Serviciului Hidrometeorologic de Stat)**

Indicii	Anii observărilor		
	2006	2007	2011
Temperatura medie a aerului, sezonul de vară	19,5-22°C	21,0-24,7°C	19,8-22,5°C
Cantitatea precipitațiilor, sezonul de vară	180-340 mm	35-170 mm	170-320 mm

Descrierile morfologice și fenologice au fost efectuate conform cerințelor internaționale [6]. Viabilitatea polenului s-a determinat prin metoda cultivării pe mediu nutritiv *in vitro* [7]. Polenul a fost colectat din mugurii floralii ai fiecărui genotip în faza corespunzătoare de dezvoltare (mugurele nedesfăcut). Florile au fost selectate în orele matinale, fiind lăsate ulterior să se usuce 24 ore la temperatura de 24°C. Polenul a fost incubat în termostat la temperatura de 25°C, iar în variantele experimentale a fost expus la temperaturi de stres (+46°C) cu o durată de la o oră până la 2,5 ore. Pentru fiecare mostră au fost estimate 500-1000 grăuncioare de polen în 8-10 sectoare vizuale ale microscopului. Polenul era calificat ca germinat în cazul când tubul polinic prezenta dimensiuni egale sau mai mari decât jumătatea diametrului grăunciorului de polen.

Prelucrarea statistică a datelor s-a efectuat conform metodelor uzuale [8]. Rezultatele au fost procesate și analizate pe calculator în mediu Windows și la programul *Statistica*.

Rezultate și discuții

În urma studiilor morfologice și observărilor fenologice, la specia *Cuphea lanceolata* Ait. a fost determinată perioada de înflorire, care începe în a doua decadă a lunii iunie și continuă până la primul îngheț. Variațiile temperaturilor diurne și ale celor nocturne limitează durata fazei de înflorire a speciei *Cuphea*. Fructificarea intensă a fost înregistrată începând cu a doua decadă a lunii iulie și până la finele lui septembrie, pe o durată de circa două luni. Semințele se maturizează succesiv în capsule de la bază spre vârf. Pe aceeași plantă pot fi observate fructe, flori și muguri floralii, ceea ce extinde esențial perioada de colectare a semințelor.

Parametrii morfologici ai organelor generative corespund descrierii prezentate în [4]. Reprezentanții speciei *Cuphea lanceolata* Ait. sunt plante anuale cu flori mici, solitare, bisexuate, cu periantul dublu. Corola înglobează șase petale, neegale ca dimensiune și formă, a căror culoare este de un violet pal până la vișiniu. Androceul este compus din 11 stamine, gineceul – sincarpelar.

În rezultatul studiului biomorfologiei gametofitului masculin am constatat că grăunciorul de polen al speciei *C. lanceolata* Ait. este aplatist ca formă, sincolpat (3-colporat), cu o suprafață striată, diametrul variind de la 20,65 la 23,04 μm.

Testarea comportamentului polenului sub aspectul viabilității lui relevă o dependență a acesteia de condițiile mediului ambiant (Tab.2). În anul 2006 capacitatea de germinare a polenului a variat în limite foarte largi, fiind cuprinsă între 30,8 și 94,2%. Deoarece vara anului 2007 s-a caracterizat printr-o secetă sporită și temperaturi supraoptimale ale aerului (35°C și mai mari), viabilitatea polenului a diminuat la 10 mostre din 14. Cele mai afectate s-au dovedit a fi formele MDI02145 – 19%; MDI02167 – 15%; MDI02159 – 12,5%. Au fost elucidate și forme pentru care capacitatea germinativă a polenului nu a diminuat esențial în anii de cercetare (MDI02160, MDI04085, MDI02162), valoarea coeficienților de variație fiind foarte mare – 66,5 și 51,9%, ceea ce denotă o diversitate genetică a mostrelor incluse în studiu. Pentru anul 2011 valorile parametrului studiat s-au încadrat în limitele 60-98%, iar valoarea coeficientului de variație s-a dovedit a fi mică – 10,7%. Din varietatea mostrelor incluse în studiu s-au remarcat prin valori ridicate ale capacității germinative genotipurile: MDI02159, MDI02160, MDI02161, MDI02162, MDI02166, care pot fi folosite ulterior în lucrările de ameliorare.

Tabelul 2

**Viabilitatea polenului speciilor *Cuphea lanceolata* Ait.
(ani favorabili 2006, 2011; an nefavorabil 2007)**

Genotip	Viabilitatea polenului, %		
	Anul 2006	Anul 2007	Anul 2011
MDI02159	72,1	12,5	95,4
MDI02167	72,6	15,0	90,6
MDI02145	31,6	19,0	87,1
MDI02147	30,8	32,8	98,0
MDI02165	43,0	33,0	81,5
MDI04084	83,5	45,8	98,0
MDI02158	36,0	47,4	60,0
MDI02163	91,5	58,1	96,0
MDI02164	70,5	59,0	89,7
MDI04085	71,2	58,2	87,3
MDI02160	77,8	80,8	87,3
MDI02166	83,5	82,5	97,8
MDI02161	72,15	90,0	95,8
MDI02162	94,2	93,0	91,2
Media	66,5	51,9	89,7
Abaterea standard	21,06	26,50	9,60
Coeficientul de variație, %	31,70	51,0	10,7

În baza datelor obținute în anul 2007 au fost depistate trei grupuri de genotipuri. Primul grup include patru mostre care se caracterizează printr-o viabilitate înaltă și stabilă a polenului. În al doilea grup sunt plasate șapte forme cu valori medii ale nivelului de diminuare a parametrului (10-30%). Genotipul MDI02158, însă, prezintă valori mici ale viabilității polenului, indiferent de condițiile de mediu. Trei mostre cu valori minime constituie grupul genotipurilor ce nu prezintă rezistență la condițiile climaterice nefavorabile (stres termic).

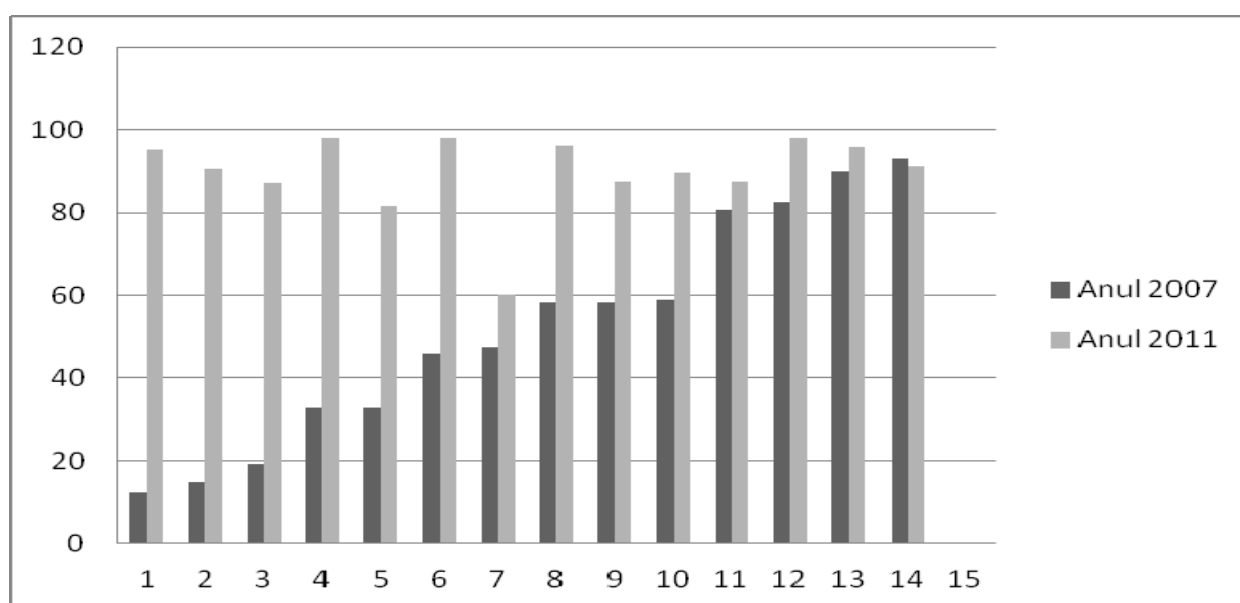


Fig.1. Viabilitatea polenului (anii 2007, 2011).

Deoarece factorii limitativi ai sezonului 2007 au fost seceta și arșița, mostrele s-au divizat în funcție de rezistența lor la acțiunea stresurilor. În condiții de câmp e dificil a controla caracterul și durata impactului factorilor climaterici asupra genotipurilor implicate în cercetare, din care motiv investigațiile au fost efectuate în condiții controlate de laborator.

În urma analizei comportamentului polenului în condiții de stres constatăm o neuniformitate a viabilității lui, care este influențată și de durata acțiunii temperaturii supraoptimale (Tab.3). Astfel, la acțiunea temperaturii de 46°C timp de 1,5 ore s-a înregistrat o reducere a viabilității polenului, care constituia în medie 64,6%. În varianta cu durata de 2 și 2,5 ore valoarea parametrului estimat s-a micșorat până la 40,0% și 23,12%, respectiv; valoarea coeficienților de variație a sporit până la 57,6 și 74,7%, corespunzător. E de menționat că prelungirea termenului de acțiune a factorului stres pe parcursul a 2,5 ore pentru unele genotipuri (MDI04084, MDI02159, MDI02160) a declanșat o diminuare a viabilității lui până la nivelul minim (mai puțin de 5%), deși în condiții de control valoarea acestui parametru se încadra în limitele 87,3-98,0%.

Tabelul 3

Influența stresului termic asupra viabilității polenului la genotipurile *Cuphea*

Forma	Viabilitatea polenului, %				
	Martorul	Expoziția la temperatura 46°C			
		1 oră	1,5 ore	2 ore	2,5 ore
MDI02145	87,1	36,0	55,3	16,0	10,1
MDI02147	98,0	93,7	51,4	35,0	30,4
MDI02158	60,0	19,0	28,2	24,7	21,8
MDI02159	95,4	97,0	49,3	19,5	6,2
MDI02160	87,3	72,7	35,6	39,3	3,7
MDI02161	95,8	91,6	73,4	37,4	30,0
MDI02162	91,2	86,7	83,3	67,0	17,3
MDI02163	96,0	96,3	95,0	61,8	33,4
MDI02164	89,7	89,9	66,0	26,3	18,9
MDI02165	81,5	79,8	66,1	41,4	22,7
MDI02166	97,8	71,7	90,0	63,0	66,0
MDI02167	90,6	88,4	51,5	82,1	37,8
MDI04084	98,0	89,2	94,3	3,4	2,3
Media	90,0	78,0	64,60	40,0	23,12
Abaterea standard	10,30	24,0	21,80	23,0	17,30
Coeficientul de variație,%	11,50	30,80	33,80	57,60	74,70

În dependență de gradul diminuării viabilității polenului și termotoleranței lui, genotipurile studiate au fost divizate în trei grupe (Fig.1). Prima grupă include mostre, germinația polenului cărora s-a micșorat esențial; durata acțiunii temperaturii de 46°C timp de 2,5 ore a condiționat o viabilitate nu mai mare de 10,1% (MDI02145, MDI02159, MDI02160, MDI04084, MDI04085). În grupa a doua au fost plasate formele cu o valoare a parametrului estimat încadrat în limitele 17,3-22,7% (MDI02158, MDI02162, MDI02164, MDI02165). În a treia grupă au fost incluse mostrele ce au manifestat cea mai sporită capacitate de germinare a polenului, la fel și un înalt nivel de rezistență la acțiunea temperaturii supraoptimale (MDI02147, MDI02161, MDI02163, MDI02166); viabilitatea polenului depășea 30% chiar și după 2,5 ore de stres.

Studiul parametrului „lungimea tubului polinic” a relevat o înaltă variabilitate genotipică atât în condiții optime, cât și în experiență (Tab.4). Pentru mostrele studiate în condiții optime valoarea acestui indice a variat în limitele 5,1-10,1 un.c., iar la acțiunea temperaturii supraoptimale valorile parametrului se încadrează în limitele 5,3-10,5 un.c.

Tabelul 4

Lungimea tubului polinic la specia *Cuphea lanceolata* Ait. în condiții optime și în experiență (46°C – 2 ore)

Mostra	lungimea tubului polinic, un.c.*		
	Condiții optime (25°C)	Experiență (46°C, 2 ore)	Decalajul martor/experiență
MDI02145	7,9	10,5	-2,7
MDI02147	7,2	9,8	-2,6
MDI02158	7,3	5,5	1,8
MDI02159	8,1	6,0	2,0
MDI02160	5,1	5,3	-0,2
MDI02161	6,8	6,6	0,2
MDI02162	8,0	8,2	-0,2
MDI02163	7,4	8,1	-0,7
MDI02164	7,6	7,0	0,6
MDI02165	6,8	7,9	-1,1
MDI02166	8,3	10,0	-1,7
MDI02167	10,1	9,7	0,4
MDI04084	7,7	7,4	0,4
MDI04085	7,5	6,6	0,9

*un.c. – diviziuni ale micrometrului ocular

Analiză datelor obținute în urma studiului stresului termic a scos în evidență o sporire a creșterii lungimii tubului polinic pentru unele forme și o inhibare a acesteia – pentru altele. În urma cercetărilor nu s-a observat o corelare între lungimea tubului polinic și rezistența genotipurilor investigate. Acest parametru necesită o studiere amplă în experiențele următoare.

Concluzii

1. A fost testată viabilitatea gametofitului masculin și rezistența acestuia la temperaturi ridicate pentru 14 forme ale speciei *Cuphea lanceolata* Ait.
2. Studiul comparativ a permis evidențierea genotipurilor cu rezistență înaltă la temperaturi supraoptimale.
3. La diferite genotipuri ale speciei cercetate, viabilitatea polenului manifestă sensibilitate față de factorii abiotici nefavorabili.
4. În urma evaluării formelor genetice după lungimea tubului polinic, s-a reliefat o variabilitate semnificativă în dependență de genotip.
5. Utilizarea metodei de selecție la nivel gametofitic a permis evidențierea mostrelor rezistente la temperaturi înalte și la secetă, care ulterior pot fi incluse în lucrările de ameliorare, pentru obținerea hibridilor ce întrunesc caractere agrobiologice valoroase.

Referințe:

1. Hirsinger F. Knowles P.F. Morphological and agronomic description of selected *Cuphea* germplasm // Economic Botany, 1984, vol.38, no.4, p.439-451.
2. Floh E.I.S., Handro W. Rita I. *Cuphea* species: In vitro culture studies, and the production of medium-chain fatty acids // Medicinal and Aromatic Plants, 1999, vol.XI, p.78-83.
3. Bassam N. El. Handbook of bioenergy Crops: a complete reference to species, development and applications. - Earthscan, 2010.
4. Graham S. A. Revision of *Cuphea* section *Heterodon* (Lythraceae) // Syst. Bot. Monog., 1988, vol.20, p.1-168.
5. Hirsinger F. Knowles P.F. Morphological and agronomic description of selected *Cuphea* germplasm // Economic Botany, 1984, vol.38, no.4, p.439-451.
6. Descriptors for *Cuphea*, Nord Central Regional Plant Introduction Station in Ames.
7. Голубинский Н.Н. Биология прорастания пыльцы. - Киев, 1974.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - Москва, 1973.

Prezentat la 23.08.2012