UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA

ISSN 1814-3237

Categoria B

STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE

SERIA

Ştiinţe reale şi ale naturii

- **Ştiinţe biologice**
- **Ştiinţe chimice**

Fondată în anul 2007

Revistă științifică cu acces deschis,
supusă unui proces de dublă recenzare

OPEN ACCESS JOURNALS

CC BY

Chișinău **Nr. 1(161)**

CEP USM 2023 **2023**

Redactor-şef
GULEA Aurelian, academician, profesor universitar, doctor habilitat (Universitatea de Stat din Moldova)

Redactori-şefi adjuncţi
CRIVOI Aurelia, profesor universitar, doctor habilitat (Universitatea de Stat din Moldova)
GLADCHI Viorica, conferenţiar universitar, doctor (Universitatea de Stat din Moldova)
LEŞANU Mihai, conferenţiar universitar, doctor (Universitatea de Stat din Moldova)

Consiliul academic
ANDRUH Marius, academician al Academiei Române, profesor universitar (Universitatea din București, România)
ARION Vladimir, conferențiar universitar, doctor habilitat (Universitatea din Viena, Austria)
BÂRSAN Ana, conferenţiar universitar, doctor (Universitatea de Stat din Moldova)
BOBEICA Valentin, conferenţiar universitar, doctor habilitat (Universitatea de Stat din Moldova)
BULIMESTRU Ion, conferenţiar universitar, doctor (Universitatea de Stat din Moldova)
ČESNOKOV Iurii, doctor (Institutul Agrofizic de Cercetări Științifice din Sankt Petersburg, Federația Rusă)
DUCA Gheorghe, academician, profesor universitar, doctor habilitat (Institutul de Chimie)
FURDUI Teodor, academician, profesor universitar, doctor habilitat (Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie)
GONŢA Maria, profesor universitar, doctor habilitat (Universitatea de Stat din Moldova)
GUŢANU Vasile, profesor universitar, doctor habilitat (Universitatea de Stat din Moldova)
IBISCH Pierre L., PhD., professor (Eberswalde University for Sustainable Development, Germany)
MANGALAGIU Ionel, profesor universitar, doctor (Universitatea „Al. I. Cuza” din Iași, România)
RUDIC Valeriu, academician, profesor universitar, doctor habilitat (Institutul de Microbiologie și Biotehnologie)
SOCHIRCĂ Vitalie, conferenţiar universitar, doctor (Universitatea de Stat din Moldova)
TODERAŞ Ion, academician, profesor universitar, doctor habilitat (Institutul de Zoologie)
UNGUR Nicon, profesor universitar, doctor habilitat (Institutul de Chimie)
VOLOŞCIUC Leonid, profesor universitar, doctor habilitat (Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor)
WILSON Karl A. , PhD., Professor Emeritus of Biological Sciences (State University of New York at Binghamton, USA)

Grupul de lucru
HANGANU Aurelia, conferenţiar universitar, doctor habilitat, prorector pentru activitate științifică și relații internaționale - coordonator
ENI Mihaela - executor responsabil
VLADÎCA Sergiu - redactor literar (limba română, limba rusă)
CALARAŞ Svetlana - redactor literar (limba engleză)
PASTUH Marina - corectare tehnică, design grafic
CHISELIOV Anton - responsabil de site
Biblioteca Centrală a Universității de Stat din Moldova - Atribuire index CZU

Indexată în bazele de date

Universitatea de Stat din Moldova, 2023

CZU: 633.11:632.4

HERITABILITATEA REZISTENȚEI GRÂULUI COMUN LA FUNGUL *FUSARIUM AVENACEUM* (FR.) SACC. ÎN GENERAȚIA F_1

Nicolae CRISTEA

Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor, USM

Fungul *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. – unul din agenții cauzali ai putregaiului de rădăcină și fuzariozei spicului, este foarte răspândit în culturile ceraliere păioase, inclusiv la grâul comun în întreaga lume, inclusiv în Republica Moldova. Incorporarea rezistenței genetice în plantele de cultură este considerată cea mai eficientă și durabilă metodă de contracarare a bolilor. Pentru strategiile de ameliorare a rezistenței la maladie este necesară cunoașterea bazei genetice a reacției la agenții cauzali. În articol sunt prezentate date cu privire la: i) influența filtratului de cultură (FC) *F. avenaceum* asupra organelor de creștere a formelor parentale și descendenților F_1 de grâu, ii) gradul de dominare a indicelui de vigoare a plantulelor în varianta martor și cu FC, iii) influența factorului parental asupra manifestării indicelui de vigoare, iv) clasificarea (dendrograme, *k*-medii, scanare multidimensională) formelor testate sub influența patogenului, v) identificarea genotipurilor care pot fi utilizate ca surse de rezistență.

Cuvinte-cheie**:** *grâu comun, Fusarium avenaceum, rezistență, grad de dominanță, efectul reciprocității.*

HERITABILITY OF COMMON WHEAT RESISTANCE TO THE *FUSARIUM AVENACEUM* (FR.) SACC. FUNGUS IN THE F_1 GENERATION

The fungus *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. – one of the causative agents of root rot and spike fusarium, is very widespread in the grass cereal crops, including common wheat, throughout the world, including in the Republic of Moldova. Incorporating genetic resistance into crop plants is considered the most effective and sustainable method of the disease control. For the strategies to improve disease resistance, knowledge of the genetic basis of the reaction to the causative agents is necessary. Article presents the data regarding: i) influence of the *F. avenaceum* culture filtrate (CF) on the growth organs of the parental forms and F_1 descendants of wheat, ii) the degree of dominance of the seedling vigor index in the control variant and with CF, iii) the influence of the parental factor on the manifestation of the vigor index, iv) the classification (dendrograms, *k*-means, multidimensional scanning) of the forms tested under the influence of the pathogen, v) the identification of genotypes that can be used as sources of resistance.

Keywords: *common wheat, Fusarium avenaceum, resistance, degree of dominance, effect of reciprocity.*

Introducere

Putregaiul de rădăcină la culturile cerealiere păioase, inclusiv la grâul comun de toamnă (*Triticum aestivum* L.), este o boală răspândită în toate zonele de cultivare a acestora. Complexul fungic care provoacă boala este foarte labil la condițiile pedoclimatice, motiv pentru care este destul de dificil prin testări de camp de făcut concluzii exhaustive cu privire la rezistența genotipurilor la agenții cauzali sau la modul de mostenire a acesteia [1].

Conform datelor noastre recente, în complexul agenților cauzali ai putregaiului de rădăcină la grâul comun de toamnă în condiţiile Republicii Moldova, a crescut considerabil incidenţa ciupercii *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. care a atins rata de 11,4% în anul 2021 [2]. *F. avenaceum* este una din cele mai răspândite specii patogene la plante, frecvent implicată în putregaiul rădăcinii, tulpinii, fructelor și căderea plantelor, producând pierderi economice enorme diferitelor culturi agricole [3, 4, 5]. Pentru cultivatorii de cereale, în special ai grâului şi orzului, ciuperca mai prezintă o îngrijorare de siguranță alimentară și din cauză că aceasta este un producător activ de micotoxine în boabe, cum ar fi moniliformina, eniatinele, bovericina [6, 7, 8, 9] care cauzează tulburări grave în organismul uman sau animal [10].

Incorporarea rezistenței genetice în plantele de cultură este considerată cea mai eficientă și durabilă metodă de contracarare a putregaiului de rădăcină. Pentru strategiile de ameliorare a rezistenței la maladie este necesară cunoașterea bazei genetice a reacției la agenții cauzali. Este de menționat că datorită naturii cantitative, rezistența depinde în mare măsură de condițiile mediului ambiant ceea ce prezintă un impediment în crearea sau identificarea formelor nesusceptibile [1, 11].

Pornind de la cele menționate, scopul cercetărilor noastre a constat în stabilirea reacției formelor parentale și hibrizilor F_1 de grâu comun de toamnă la filtratul de cultură *F. avenaceum* și particularităților de heritabilitate a unor caractere cantitative ale plantelor la interacțiunea cu patogenul.

Material și metode

În studiu au fost implicate 7 soiuri de grâu comun de toamnă în calitate de genitori – Moldova 11, Moldova 16, Moldova 66, Centurion, Amor, Miranda, Cuialnic și 4 perechi de hibrizi reciproci F_1.

Tulpina de *F. avenaceum* a fost izolată din plantă de grâu comun cu semne de putregai de rădăcină pe mediu *Potato Dextrose Agar* [12], identificată în baza caracterelor morfo-culturale și microscopice conform determinatorului Barnett, Hunter [13]. Filtratul de cultură (FC) *F. avenaceum,* preparat prin inocularea miceliului în mediul nutritiv Czapek-Dox, are următoarea componență (g/l): $NaNO_3$ – 3,0; K_2HPO4 – 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5; KCl – 0,5; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01; zaharoză – 30,0 [12]. Tratarea boabelor de grâu cu FC a durat 18 ore. În calitate de martor au servit boabele menținute în apă distilată (18 ore). Cultivarea a avut loc în cutii Petri la temperatura 18-19°C timp de 6 zile.

Au fost apreciate germinația, lungimea radiculei embrionare, lungimea tulpiniței plantelor. Indicele de vigoare s-a calculat conform formulei: *germinația,% x lungimea plantulei, cm* [14], iar gradul de dominare (h_p) – Brubaker [15].

Efectul reciprocității s-a stabilit prin formula: $r_e = (b - a) / (B - A)$, în care A şi B — valorile caracterului pentru formele parentale implicate în încrucișare; a – pentru hibridul ♂A x ♀B; b – pentru hibridul reciproc ♂B x ♀A. Valoarea pozitivă r ($r > 0$) semnifică efectul paternal, iar negativ ($r < 0$) – maternal, valoarea absolută r ($|r|$) prezintă aprecierea relativă a acestor efecte în unități, egale diferențelor valorilor caracterului la formele parentale (B - A) [16].

O clasificare reușită a genotipurilor în baza similitudinilor/deosebirilor se realizează prin metoda aglomerativ-iteraţională de construire a dendrogramelor de repartiţie, metoda centroidă a *k*-mediilor, ambele metode fiind utilizate cu succes în cercetările de genetică şi ameliorare [17, 18, 19]. În analiza clusteriană *k*-medii, s-a optat pentru repartizarea genotipurilor în 4 clustere conform valorilor caracterelor analizate. Scanarea multidimensională s-a efectuat în baza matriţei distanţelor euclidene dintre obiecte, calculate prin metoda Ward.

Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate și discuții

S-a constatat că tratarea boabelor de grâu cu FC *F. avenaceum* a influențat considerabil germinația, creșterea și dezvoltarea radiculei și tulpiniței plantulelor. Este de menționat că interacțiunea *planta x patogen* uneori a determinat inhibarea, alteori – stimularea organelor de creștere, cele mai mari diferențe între varianta martor și FC *F. avenaceum* remarcându-se la hibrizii F_1. De exemplu, la hibridul F_1 Centurion x Moldova 11, sub influența ciupercii, germinația s-a diminuat cu 46,7%, lungimea radiculei – 11,7%, lungimea tulpiniței – 2,8%, lungimea plantulei – 8,8%. La hibridul reciproc F_1 Moldova 11 x Centurion, dimpotrivă – FC a produs stimularea creșterii și dezvoltării: germinația s-a majorat cu 28,5%, lungimea radiculei – 16,1%, lungimea tulpiniței – 29,6%, lungimea plantulei – 20,0% (Tabelul 1).

Tabelul 1. Influența filtratului de cultură *F. avenaceum* asupra caracterelor de creștere la hibrizii F_1 de grâu comun.

Genotip	Variantă	Germinație, %	Lungimea radiculei, mm	Lungimea tulpiniței, mm	Lungimea plantulei, cm
Moldova 16	Martor	96,7	74,2±5,9	46.6±4,6	12,08
	FC *F. av.*	73,3	75,6±6,1	45,1±4,7	12,07

Moldova 11	Martor	100	105,7±5,3	57,7±2,9	16,34
	FC *F. av.*	100	93,0±6,6	51,1±3,8	14,41
Centurion	Martor	46,7	93,9±3,4	46,5±1,8	14,04
	FC *F. av.*	60,0	93,6±3,7	45,2±2,0	13,88
Amor	Martor	100	111,7±2,6	60,2±1,4	17,19
	FC *F. av.*	100	93,0±3,3	61,0±2,1	15,4
Moldova 66	Martor	100	105,7±4,2	57,7±2,5	16,34
	FC *F. av.*	95,5	90,3±3,6	48,9±2,4	13,92
Miranda	Martor	100	107,1±3,1	60,5±1,7	16,76
	FC *F. av.*	98,9	107,3±3,7	58,8±2,1	16,61
Cuialnic	Martor	100	101,8±2,9	52,0±1,6	15,38
	FC *F. av.*	100	96,2±3,8	49,9±2,2	14,61
F_1 M 11 x Centurion	Martor	46,7	70,7±14,5	29,1±8,1	9,98
	FC *F. av.*	60,0	82,1±13,8	37,7±6,8	11,98
F_1 Centurion x M 11	Martor	100	106,3±7,2	49,7±4,2	15,6
	FC *F. av.*	53,3	93,9±6,6	48,3±5,8	14,22
F_1 Amor x M 16	Martor	33,3	68,4±10,2	34,8±5,3	10,32
	FC *F. av.*	20	64,3±10,6	29,2±6,3	9,35
F_1 M 16 x Amor	Martor	73,3	103,3±7,7	45,5±2,4	14,88
	FC *F. av.*	100	79,6±6,5	37,5±3,4	11,71
F_1 M 66 x Amor	Martor	93,3	93,0±6,8	37,7±3,4	13,07
	FC *F. av.*	46,7	101,0±7,3	59,1±4,1	16,01
F_1 Amor x M 66	Martor	86,7	93,5±11,1	46,2±5,7	13,97
	FC *F. av.*	40,0	92,2±3,8	54,3±2,7	14,65
F_1 Miranda x Cuialnic	Martor	60,0	82,7±13,2	33,6±5,6	11,63
	FC *F. av.*	73,3	80,6±7,9	35,7±3,6	11,63
F_1 Cuialnic x Miranda	Martor	86,7	88,0±9,9	44,9±5,2	13,29
	FC *F. av.*	86,7	113,6±4,6	53,4±3,4	16,7

Deci, atât genitorii, cât şi hibrizii F_1 au reacţionat specific la acţiunea fungului.

S-a constatat că la hibrizii F_1 gradul de dominare pentru indicele de vigoare a înregistrat întotdeauna valori negativ, atât în varianta martor, cât şi în varianta cu FC *F. avenaceum* (Tab. 2), ceea ce semnifică dominanţa părintelui cu valori mici ale caracterului. La 13 variante din 16 cu hibrizi F_1 s-a constatat că valorile h_p au fost mai mari de 1, adică s-a manifestat fenomenul de supradominanţă negativă, ceea ce denotă implicarea semnificativă a interacţiunilor alelice în manifestarea caracterului moştenit de la părintele cu valori mici.

Tabelul 2. Gradul de dominare (h_p) a indicelui de vigoare a plantelor de grâu comun la interacţiunea cu *Fusarium avenaceum.*

Părinte/hibrid F_1	Variantă	Indice de vigoare	Raport la martor	h_p
Moldova 16	Martor	1168,14	-	-
	FC	884,73	75,7	-
Moldova 11	Martor	1634,0	-	-
	FC	1441,0	88,2	-

Centurion	Martor	655,67	-	-
	FC	832,8	127,0	-
Amor	Martor	1719,0	-	-
	FC	1540,0	89,6	-
Moldova 66	Martor	1634,0	-	-
	FC	1329,4	81,4	-
Miranda	Martor	1676,0	-	-
	FC	1642,7	98,0	-
Cuialnic	Martor	1538,0	-	-
	FC	1461,0	95,0	-
F_1 M 11 x Centurion	Martor	466,1	-	-1,39
	FC	718,8	154,2	-1,44
F_1 Centurion x M 11	Martor	1560,0	-	-0,85
	FC	757,9	48,6	-0,79
F_1 Amor x M 16	Martor	343,7	-	-3,99
	FC	187,0	54,4	-2,72
F_1 M 16 x Amor	Martor	1090,7	-	-1,28
	FC	1171,0	107,4	-0,13
F_1 M 66 x Amor	Martor	1219,4	-	-10,76
	FC	747,7	61,3	-21,85
F_1 Amor x M 66	Martor	1211,2	-	-10,95
	FC	586,0	48,4	-8,06
F_1 Miranda x Cuialnic	Martor	697,8	-	-12,59
	FC	852,5	122,2	-7,70
F_1 Cuialnic x Miranda	Martor	1152,2	-	-6,28
	FC	1447,9	125,7	-1,14

Prin calculul efectului reciprocității asupra indicelui de vigoare, s-a constatat influența factorului patern asupra acestuia, care conform mediei valorilor obținute pentru cele 4 perechi de hibrizi F_1, a fost mai pronunțat în varianta cu ciupercă (Tab. 3).

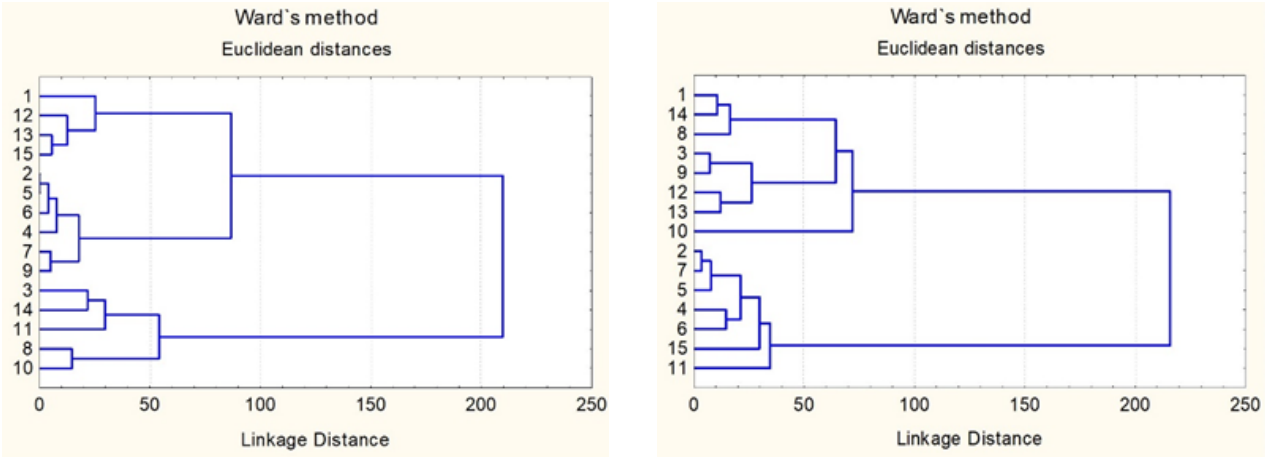
Tabelul 3. Efectul reciprocității (r_e) asupra indicelui de vigoare a plantelor de grâu comun la interacțiunea cu *Fusarium avenaceum.*

Hibrid reciproc	Martor	FC *F. avenaceum*
F_1 M 11 x Centurion/ F_1 Centurion x M 11	+1,12	+0,75
F_1 Amor x M 16/ F_1 M 16 x Amor	+1,36	+1,50
F_1 M 66 x Amor/ F_1 Amor x M 66	+0,02	+0,77
F_1 Miranda x Cuialnic/ F_1 Cuialnic x Miranda	+3,29	+3,28
Medie:	+1,45	+1,58

Dendrograma de repartiție a părinților și hibrizilor F_1 în clase în baza germinației boabelor, lungimii radiculei, lungimii tulpinței, lungimii plantulei a demonstrat existența similitudinilor, dar și a deosebirilor acestora care au fost diferite în varianta martor și varianta cu FC. De exemplu, hibrizii F_1 Amor x Moldova 66 (13) și F_1 Cuialnic x Miranda (15), conform distanțelor euclidiene între ele au demonstrat o similitudine

înaltă în condiţii optime de dezvoltare (martor), pe când în varianta cu FC aceştia s-au distribuit în clustere diferite la distanţe mari, ceea ce denotă manifestarea reacţiilor specifice la acţiunea fungului (Fig. 1).

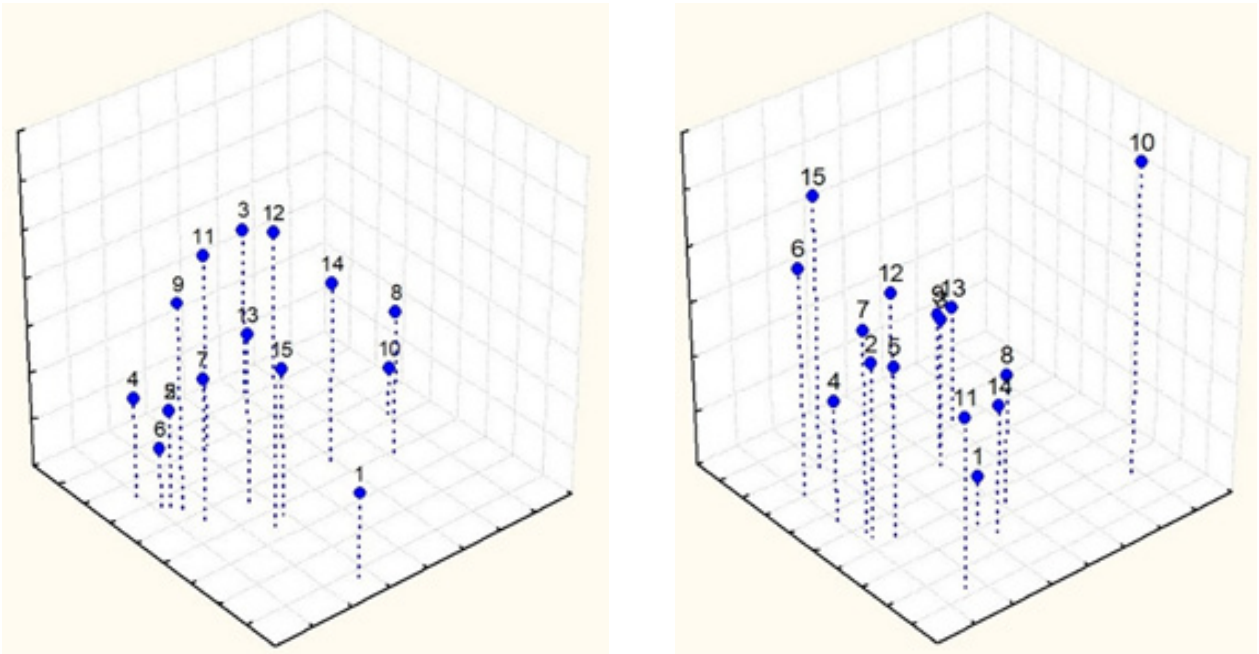
Fig. 1. Dendrograma de repartiţie a formelor parentale şi hibrizilor F_1 de grâu comun în baza manifestării unor caractere cantitative la interacţiunea cu F. avenaceum.



Martor FC *F. avenaceum*

Datele obţinute prin construirea dendrogramelor de distribuţie au fost confirmate de scanarea multidimensională care relevă distribuirea spaţială mai extinsă, adică la distanţe mai mari, a genotipurilor în varianta martor comparativ cu varianta „FC *F. avenaceum*” (Fig. 2).

Fig. 2. Scanarea multidimensională a formelor parentale şi hibrizilor F_1 de grâu comun în baza manifestării unor caractere cantitative la interacţiunea cu F. avenaceum.



Martor FC *F. avenaceum*

Prin metoda *k*-mediilor de analiză clusteriană, la separarea genotipurilor în 4 clustere, s-a constatat că în varianta martor varianţa interclusteriană a fost mult mai înaltă decât cea intraclusteriană pentru toate caracterele studiate, pe când în varianta cu FC diferenţa între varianţa interclusteriană şi varianţa intraclusteriană au fost mai mici pentru germinaţie şi lungimea plantulei (Tab. 4).

Tabelul 4. **Analiza varianţei clusterelor de genotipuri de grâu.**

Caracter	Varianţă interclusteriană	df	Varianţă intraclusteriană	df	F	p
Martor						
Germinație	7075,097	3	677,519	11	38,289	0,000
Lungimea radiculei	1909,171	3	902,303	11	7,758	0,005
Lungimea tulpiniței	1131,457	3	228,961	11	18,120	0,000
Lungimea plantulei	59,268	3	15,053	11	14,435	0,000
FC F. avenaceum						
Germinație	8545,429	3	1040,529	11	30,113	0,000
Lungimea radiculei	1512,417	3	678,507	11	8,173	0,004
Lungimea tulpiniței	513,287	3	714,317	11	2,635	0,102
Lungimea plantulei	36,990	3	23,891	11	5,677	0,013

Este de menționat totodată că în cazul lungimii tulpiniței, varianța intraclusteriană a fost mai înaltă de 1,3 ori decât varianța interclusteriană ceea ce denotă că acest caracter, spre deosebire de celelalte, n-a avut o capacitate diferențiatoare a genotipurilor la interacțiunea cu patogenul.

Analiza descriptivă a clusterelor a demonstrat că în varianta martor genitorii Moldova 11, Amor, Moldova 66, Miranda au înregistrat cele mai înalte valori ale caracterelor aflate în studiu, formând un cluster separat (4), iar în varianta cu FC s-au remarcat genitorul Miranda și hibridul F_1 Cuialnic x Miranda (clusterul 4) (Tab. 5).

Tabelul 5. Statistica descriptivă a clusterelor de genotipuri de grâu în baza caracterelor de creștere.

Caracter	Medie, %	Dev. st.	Membrii clusterelor	Medie, %	Dev. st.	Membrii clusterelor
Martor				***FC F. avenaceum***		
Clusterul 1, n = 4				**Clusterul 1, n = 1**		
Germinație, %	46,68	10,90	3 – Centurion, 8 – F_1 M 11 x Centurion, 10 – F_1 Amor x M 16, 14 – F_1 Miranda x Cuialnic	20,0	0,00	10 – F_1 Amor x M 16
Lungimea radiculei, mm	78,93	11,79		64,3	0,00	
Lungimea tulpiniței, mm	36,00	7,41		29,2	0,00	
Lungimea plantulei, cm	11,49	1,84		9,35	0,00	
Clusterul 2, n = 5				**Clusterul 2, n = 7**		
Germinație, %	87,34	8,96	1 – M 16, 11 – F_1 M 16 x Amor, 12 – F_1 M 66 x Amor, 13 – F_1 Amor x M 66, 15 – F_1 Cuialnic x Miranda	58,09	12,58	1 – M 16, 3 – Centurion, 8 – F_1 M 11 x Centurion, 9 – F_1 Centurion x M 11, 12 – F_1 M 66 x Amor, 13 – F_1 Amor x M 66, 14 – F_1 Miranda x Cuialnic
Lungimea radiculei, mm	90,40	10,62		88,43	9,08	
Lungimea tulpiniței, mm	44,18	3,68		46,49	8,37	
Lungimea plantulei, cm	13,46	1,04		13,49	1,64	

Clusterul 3, n = 2				**Clusterul 3, n = 5**		
Germinație, %	100	0,00	7 – Cuialnic, 9 – F_1 Centurion x M 11	99,10	2,01	2 – M 11, 4 – Amor, 5 – M 66, 7 – Cuialnic, 11 – F_1 M 16 x Amor
Lungimea radiculei, mm	104,05	3,18		90,42	6,40	
Lungimea tulpiniței, mm	50,85	1,63		49,68	8,35	
Lungimea plantulei, cm	15,49	0,16		14,01	1,39	
Clusterul 4, n = 4				**Clusterul 4, n = 2**		
Germinație, %	100	0,00	2 – M 11, 4 – Amor, 5 – M 66, 6 – Miranda	92,80	8,63	6 – Miranda, 15 – F_1 Cuialnic x Miranda
Lungimea radiculei, mm	107,55	2,84		110,45	4,46	
Lungimea tulpiniței, mm	59,03	1,53		56,10	3,82	
Lungimea plantulei, cm	16,66	0,41		16,66	0,06	

Datele denotă oportunitatea ultimelor 2 genotipuri de implicare în programele de ameliorare în scopul sporirii rezistenței grâului comun la *F. avenaceum*.

Concluzii

1. Prin tratarea boabelor de grâu comun cu filtrat de cultură *F. avenaceum*, s-a constatat că patogenul produce, în dependență de genotip atât inhibare, cât și stimulare a organelor de creștere – germinație, radiculă, tulpiniță.
2. Gradul de dominare a indicelui de vigoare a plantulelor F_1 de grâu comun, a variat în limite largi: -0,85... -12,59 în varianta martor și -0,13 ... 21,85 – varianta cu FC, adică în ambele cazuri caracterul cercetat, la hibrizii F_1 a fost mai mic decât la părintele cu valori mai mici. Atât în varianta martor, cât și în varianta cu FC a predominat fenomenul de supradominanță negativă ceea ce semnifică că la hibrizii F_1 alelele recesive activizează alelele dominante, responsabile de diminuarea indicelui de vigoare.
3. Calculul influenței parentale asupra indicelui de vigoare la hibrizii reciproci F_1 de grâu a demonstrat rolul decisiv al genitorului patern în manifestarea caracterului care a variat în limitele +0,02 ... +3,29 – varianta martor și +0,75 ... +3,28 – FC *F. avenaceum*, media efectului reciprocității constituind +1,45 și +1,58, respectiv, martorului și FC.
4. Prin metode de clasificare a obiectelor – dendrograme, *k*-medii, scanare multidimensională s-a constatat o diferențiere reușită a formelor parentale și hibrizilor F_1 în baza caracterelor de creștere atât în varianta martor, cât și varianta cu FC *F. avenaceum*, ceea ce a făcut posibilă identificarea genotipurilor rezistente – a soiului Miranda și hibridului F_1 Cuialnic x Miranda care pot fi utilizați în calitate de surse de rezistență împotriva patogenului.

Referințe:

1. LUPAȘCU, G. *Putregaiul de rădăcină la grâul comun de toamnă*. Chișinău: Print-Caro, 2020, 120 p. ISBN 978-9975-56-801-2.
2. LUPAȘCU, G., GAVZER, S. Influenţa condiţiilor de mediu asupra complexului de agenţi patogeni ai putregaiului de rădăcină la grâul comun. În: *Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii*, 2021. nr. 2(344), p. 98-103.
3. PETERS, J.bC., LEES, A.bK., CULLEN, D. W., SULLIVAN, L., STROUD, G.P., CUNNINGTON, A.C. Characterization of *Fusarium* spp. responsible for causing dry rot of potato in Great Britain. In: *Plant Pathol*, 2008, 57, p. 262–271.
4. SØRENSEN, J. L., PHIPPS, R. K., NIELSEN, K. F., SCHROERS, H. -J., FRANK, J., THRANE, U. Analysis of *Fusarium avenaceum* Metabolites Produced during Wet Apple Core Rot. In: *J. Agric. Food Chem,* 2009, 57, 4, p. 1632–1639.

5. SAKODA, T., YAMASAKI, N., ABE, Y., YANAGISAWA, H., KOIKE, M. Bulb Rot of *Sandersonia aurantiaca* caused by *Fusarium anguioides* and *Fusarium* sp. Intercepted at Plant Quarantine in Japan. In: *Res. Bull. Plant Prot*. *Japan*, 2011, 47, p. 41–47.
6. JESTOI, M., ROKKA, M., YLI-MATTILA, T., PARIKKA, P., RIZZO, A., PELTONEN K. Presence and concentrations of the Fusarium-related mycotoxins beauvericin, enniatins and moniliformin in Finnish grain samples. In: *Food Addit. Contam*, 2004, 21, p.794–802.
7. YLI-MATTILA, T., HUSSIEN, T., GAVRILOVA, O., GAGKAEVA T. Morphological and Molecular Variation Between *Fusarium avenaceum*, *Fusarium arthrosporioides* **and** *Fusarium anguioides* **Strains.** In: *Pathogens,* 2018, 7. 94. DOI:10.3390/pathogens7040094
8. UHLIG, S., JESTOI, M., PARIKKA, P. Fusarium avenaceum – The North European situation. In: *Int. J. Food Microbiol*, 2007, 119, p. 17–24.
9. PONTS N., GAUTIER CH., GOUZY J., PINSON-GADAIS L., FOULONGNE-ORIOL M., DUCOS CH., RICHARD-FORGET F., SAVOIE J. -M, ZHAO CH., BARROSO G. Evolution of *Fusarium tricinctum* and *Fusarium avenaceum* mitochondrial genomes is driven by mobility of introns and of a new type of palindromic microsatellite repeats. In: *BMC Genomics*, BioMed Central. 2020, 21(1), 16 p. DOI: 10.1186/s12864-020-6770-2
10. LOGRIECO, A., RIZZO, A., FERRACANE, R., RITIENI, A. Occurrence of Beauvericin and Enniatins in Wheat Affected by *Fusarium avenaceum* Head Blight. In: *Appl. Environ. Microbiol.,* 2002, 68(1), p. 82–85. DOI: 10.1128/AEM.68.1.82-85.2002
11. WILLIAMSON-BENAVIDES, B. A., DHINGRA, A. Understanding Root Rot Disease in Agricultural Crops. In: *Horticulturae*. 2021, 7, 33. DOI: https://doi.org/10.3390/horticulturae7020033
12. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
13. BARNETT, H. L., HUNTER, B. B. *Illusrated genera of imperfect fungi*. Am. Phytopathological Society. Fourth edition. APS Press, 1998, 218 p.
14. POWELL, A. A. Seed vigour and its assessment. In: *Handbook of Seed Science and Technology*; *Basra, A.S., Ed.; Food Products Press*. New York, NY, USA, 2006, p. 603–648.
15. BRUBAKER, J. Agricultural genetics. Moskow: Kolos; 1966. 223 p.
16. REINHOLD, K. Maternal effects and the evolution of behavioural and morphological characters: a literature review indicates importance of extended maternal care. In: *J. of Heredity,* 2002, 93(6), p. 400-405.
17. RAVISHANKER, A., SANTOSH, K.**,** BARANWAL, D.K.**,** CHATTERJEE, A., SOLANKEY, S.S. Genetic Diversity Based on Cluster and Principal Component Analyses for Yield and Quality Attributes in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). In: *Int. J. of Plant Breed. and Genetics,* 2013, Vol. 7(3), p. 159-168.
18. KOIJA, F.S., SABAA, J. Using Cluster Analysis and Principal Component Analysis to Group Lines and Determine Important Traits in White Bean. *Procedia Environmental Sciences*, 2015, 29, p. 38-40.
19. NANDINI, B., GANGAPPA, E., RAJANNA, M.P., MAHADEVU, P., RAMESH, S., HITTALMANI, S. Genetic Variability Analysis for Grain Yield and its Components Traits in Traditional Rice Varieties (TRVs). In: *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*., 2017, 6(8), p. 494-502. DOI: https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.064

Date despre autor:
Nicolae CRISTEA, doctorand, cercetător științific stagiar la Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.
E-mail: niku.kristea.95@mail.ru
ORCID: 0009-0008-7259-3884

Notă: *Cercetările au fost efectuate în cadrul Programului de Stat 20.80009.7007.04 „Biotehnologii și procedee genetice de evaluare, conservare și valorificare a agrobiodiversității”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.*

Prezentat la 28.11.2022

CZU: 633.11:581.1.085

EVALUAREA VARIAȚIEI SOMACLONALE LA PLANTELE DE TRITICALE REGENERATE DIN EMBRIONI MATURI PRIN CULTURA *IN VITRO* ȘI IRADIERE CU RAZE GAMA

Renata CIOBANU

Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al USM

Regeneranții de triticale (SC_0) a 3 genotipuri (Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021) au fost obținuți prin calusogeneză din embrionii maturi, supuși *iradierii gama (150 Gy)*. Evaluarea *somaclonelor* a evidențiat modificări asupra caracterelor cantitative: talia plantei, numărul de frați fertili, lungimea spicului principal, numărul de internoduri, numărul de boabe, greutatea boabelor per plantă. S-a constatat că cultura *in vitro* și iradierea cu raze gama a indus variații semnificative la nivel de 95–99,9% a caracterelor studiate la somaclonele SC_1 și SC_2 de triticale. Caracterele biomorfologice: talia plantei, lungimea spicului principal, numărul de boabe și greutatea boabelor au atins valori mai mari decât martorul la somaclonele SC_2 derivate de la genotipul Ingen 93(*in vitro*) și 188 TR5021(RAD). Analiza varianței, denotă că contribuţia maximă a manifestat genotipul (30,77%) și interacțiunea factorilor genotip-RAD (17,28-41,62%), genotip–cultura *in vitro* (21,32–40,45%) în dependenţă de caracter (99.9%). Rezultatele obținute confirmă contribuția factorilor cercetați în extinderea variabilității genetice la triticale.

Cuvinte-cheie: *variabilitate, in vitro, radiaţie gama, calusogeneză, somaclone de triticale, caractere cantitative.*

EVALUATION OF SOMACLONAL VARIATION IN TRITICALE PLANTS REGENERATED FROM MATURE EMBRYOS BY *IN VITRO* CULTURE AND TREATMENT WITH GAMMA-RAYS

The Triticale regenerants (SC_0) of 3 genotypes (Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021) were obtained by callusogenesis from irradiated mature embryos with gamma rays (150 Gy). The evaluation of the somaclones revealed changes in the quantitative traits: plant height, spike length, apical internode length, number of productive tillers and internodes per plant, number of grains, grains weight per plant. It was found that *in vitro* culture and gamma irradiation induced significant variations at the level of 95 – 99,9% of the characters studied in triticale SC_1 and SC_2 somaclones The mean value of 4 traits (plant height, spike length, number of grains and grains weight) of somaclones, SC_2 (Ingen 93, *in vitro* and 188 TR5021, RAD) were higher than the control. The analysis of variance shows that the maximum contribution was manifested by the genotype (30,77%) and the interaction of genotype x radiation (17,28-41,62%) and genotype x *in vitro* culture (21,32-40,45%) depending on the character (99,9%). The obtained results confirm the contribution of researched factors to increase the genetic variability in triticale.

Keywords**:** *variability, in vitro, gamma radiation, callusogenesis, triticale somaclones, quantitative characters.*

Introducere

În ultimul deceniu, noi instrumente de reproducere și tehnologii genetice (dublu haploizii, selecția asistată de marcheri moleculari, selecția genomică și transgenică) au fost dezvoltate și aplicate la diferite specii de plante de cultură. Prin integritatea acestor instrumente și tehnologii cu abordări convenționale de reproducere a plantelor, triticalele au potențial de a fi o cultură de succes [1; 2; 3].

Triticale este o cultură cerealieră, care poate fi sintetizată prin hibridizarea grâului și a secarei, combinând performanța agronomică superioară cu toleranța la stres și adaptabilitate. În ciuda îmbunătățirilor semnificative aduse soiurilor de triticale moderne în ceea ce privește performanța agronomică și rezistența la boli, multe provocări rămân legate de calitatea utilizării finale, posibilitatea de utilizare complexă atât pentru furaj, cât și în alimentație (panificație, patiserie, prelucrarea alcoolului și a berii) [4; 5; 6]. Pe piața internă a Republicii Moldova se constată un deficit de material semincer, iar cu mărirea suprafețelor de cul-

tivare această cultură poate deveni pâinea viitorului. În acest sens este necesar de a obţine un nou material iniţial, în baza căruia de selectat soiuri noi de triticale cu particularităţi biologice, biochimice şi tehnologice sporite.

Variația somaclonală este un fenomen des întâlnit la plante, regenerate prin cultura *in vitro* și prezintă interes deosebit, deoarece oferă posibilitatea de a lărgi atât spectrul, cât și valoarea bazei genetice [7; 8]. Studiind gradul de variabilitate a regeneranților diverselor specii de plante s-a constat că, ei se pot deosebi de formele inițiale după numărul de cromozomi, caractere morfologice, biochimice. Foarte des aceste variații sunt unice și nu pot fi obținute pe alte căi. Astfel, variațiile observate pot servi ca material inițial pentru crearea și selectarea de noi soiuri de plante [9; 10; 11; 12].

Somaclonele, obținute prin cultura *in vitro*, posedă un spectru larg de variație a caracterelor morfologice și biochimice, deci, cultura de calus se folosește eficient în inducerea variabilității, prin obținerea somaclonelor ce prezintă interes agronomic [13; 14; 15; 16; 17].

Cercetările, privind inducerea variabilității genetice in *vitro*, prin aplicarea radiațiilor gama, au atestat schimbări în procesul de calusogeneză, morfogeneză și asupra frecvenței apariţiilor mutațiilor la diferite plante. Îmbinarea culturii *in vitro* cu acțiunea unor factori fizici (radiația gamma și laser) a permis obținerea de noi date privind stabilirea eficienței lor în declanșarea variabilității genetice, inducerea mutațiilor utile în procesul de ameliorare [18]. Din surse bibliografice, sunt cunoscute avantajele variației somaclonale și mutagenezei. În majoritatea cazurilor, variația somaclonală la diferite specii de plante a fost determinată pe baza caracterelor morfologice și fiziologice [19]. Astfel, s-a evidențiat o variabilitate mai sporită a unor caractere cantitative (înălțimea plantei, înălțimea de inserție a primului știulete, numărul de frunze, lungimea frunzei, lățimea frunzei ș.a.) la regeneranții porumbului, obținuți prin cultura de embrioni tratați cu raze gama și la descendenții lor în comparație cu somaclonele martor [20]. Eficiența radiației gama în calitate de inductor al variațiilor genetice la orz a fost confirmată prin crearea soiurilor mutante cu proprietăți net superioare ce țin de productivitate, calitate, arhitectura plantei și rezistența la diferite boli [21].

Prin urmare, prezintă interes evaluarea acțiunii radiației gama și culturii *in vitro* în calitate de modificatori genetici asupra caracterelor agromorfologice la somaclonele (SC_1 și SC_2) de triticale pentru identificarea genotipurilor valoroase, care ulterior pot fi integrate într-un program de ameliorare.

Materiale şi metode

Material vegetal: Ca material de studiu au servit 3 genotipuri de triticale din colecţia Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor: Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021.

Drept sursă de explant am folosit embrionii maturi de triticale. Seminţele au fost iradiate cu doza de 150 Gy la instalaţia gama RXM-V-20, sursa radiaţiilor ^{60}Co, 0,12 gr/sec. Ca martor au servit seminţele netratate. Embrionii maturi au fost sterilizați în soluţie diluată de hipoclorit de sodiu de 5,2 % (1:1) pentru 15 minute şi clătiți în trei băi de apă distilată timp de 1 minut fiecare, apoi, au fost decupaţi de la endosperm la lupa binoculară, în boxa cu flux laminar de aer steril, aseptizaţi în soluţie diluată de hipoclorit de sodiu de 5,2 % (1:1) pentru un minut, apoi clătiţi în apă distilată.

Inducerea calusogenezei și morfogenezei: Cultura de calus a fost iniţiată din embrioni maturi, inoculaţi cu suprafaţa ce contactează cu scutelum, pe mediu de iniţiere Murashige-Skoog (1962) [22], suplimentat cu L-asparagină –150mg/l, mezoinozitol – 100mg/l, glicină – 2mg/l, acid ascorbic – 20 mg/l, zaharoză – 30 mg/l şi reglatori de creştere: acid diclorofenoxiacetic (2,4 D) -2,5 mg/l, kinetină – 0,2 mg/l. Mediul utilizat a conţinut agar – 7 g/l, zaharoză – 30 g/l. Valoarea pH-lui a fost ajustată înainte de autoclavare până la 5,8. Mediile nutritive s-au sterilizat prin autoclavare, în faza de vapori (10 min), apoi aerisire (20 min) şi sterilizare în condiţiile de presiune P=1 atm şi temperatura T=120^{0}C. Cultivarea s-a efectuat utilizând boxa cu flux laminar de aer steril. Pentru iniţierea calusului explantele au fost plasate în camera de creştere, menţinând temperatura 26±2^{0}C, fotoperiodism 16 ore cu o iluminare de 2000 lx şi 8 ore întuneric. De menţionat că, după 8-10 zile de cultivare toate genotipurile analizate au format calus, fiind atestate structuri compacte galben-verzui, cu proprietăţi morfogene. Inducerea morfogenezei a avut loc în rezultatul subcultivării fragmentelor de calus pe mediul de cultură MS, suplimentat cu BAP (2,2 mg/l) şi 2,4 D (1,2 mg/l).

Regenerarea plantelor: Calusurile cu proprietăţi morfogene au fost transferate pe mediul de regenerare MS suplimentat cu AIA (0,5 mg/l) şi BAP (1 mg/l). După 2 săptămâni s-a observat formarea lăstarilor.

Pentru înrădăcinarea regeneranţilor, lăstarii cu lungime de 2,5 - 4 cm au fost transferaţi pe mediul de înrădăcinare MS cu adaos de ANA (1 mg/l). Înrădăcinarea s-a atestat la a 10-cea zi de cultivare.

Aclimatizarea plantelor regenerate: Plantele cu un sistem radicular bine dezvoltat au fost transferate în pahare mici cu substrat sol-turba (3:1) pentru aclimatizare la condiţii *ex vitro*. După aclimatizare plantele au fost transferate în ghivece şi cultivate în condiţii de laborator până la maturitate. Aceste plante au fost desemnate ca somaclone induse de radiația gama și cultura *in vitro* **și numite generația SC$_0$**.

Determinarea variației somaclonale: Semințele somaclonelor SC$_1$ și SC$_2$ au fost semănate în blocuri randomizat în 3 repetiții câte 60 de boabe pentru fiecare genotip. Fiecare variantă fiind formată din trei genotipuri de triticale (Ingen 35, Ingen 93, 188TR5021), care au inclus: martorul, forme expuse iradierii cu raze gama și forme obținute prin cultura *in vitro*. Pe parcurs s-au efectuat observaţii fenologice. Plantele au fost colectate în faza de vegetaţie (conform scării Zadocks): *Maturitatea deplină*, stadiul de vegetaţie: *Semințe ieșite din repausul germinativ secundar* (99) și în condiții de laborator au fost analizate după un șir de caractere agromorfologice. Cercetările s-au axat pe caracteristicile morfologice ale somaclonelelor fiind analizate după: talia plantei, numărul de frați fertili, lungimea spicului principal, numărul de internoduri, numărul de boabe, greutatea boabelor per plantă.

Analiza statistică: Estimarea valorii medii () pentru caracterele cantitative (talia plantei, numărul de frați fertili și internoduri per plantă, lungimea spicului principal și ultimului de internod, numărul de boabe, greutatea boabelor per plantă) a fost efectuată cu ajutorul pachetului de programe STATGRAPHICS Plus 5.0.

Rezultate și discuții

Utilizarea radiațiilor gama și culturii *in vitro* ca sursă de sporire a variabilității somaclonale este determinată de specificul acțiunii lor asupra proceselor de calusogeneză, embriogeneză și regenerare [23].

În cercetările noastre au fost obținuți o serie de regeneranți din embrioni maturi de triticale, iradiați cu raze gama, doza de 150 Gy și apoi introduși în cultura in vitro. Schimbările morfologice sunt observate încă la stadiile de dezvoltare a regeneranților pe mediile de cultura. Evaluarea aspectului morfologic al somaclonelor SC$_0$ a evidențiat modificări asupra caracterelor morfofiziologice. S-a observat că pentru fiecare genotip în parte sunt caracteristice variații fenotipice față de martor, cum ar fi: schimbări la nivel foliar, a sistemului radicular dar și după numărul de noduri, distanța între noduri, spice cu ariste scurte.

În rezultatul observărilor efectuate asupra perioadei de vegetație care include fazele și stadiile de vegetație, a somaclonele SC$_1$ și SC$_2$de triticale conform scării Zadocks s-a remarcat decalaj între stadiile de vegetaţie. Pentru somaclonele SC$_1$iradiate 188 TR 5021 s-a atestat variaţia morfologică – culoarea spicului, spic steril, s-au observat plante pitice şi semipitice comparativ cu forma martor. Pentru somaclonele Ingen 93, obținute prin cultura *in vitro*, s-a atestat că frunza steag este mai lată, mai mare și de culoare verde, iar la martor culoarea frunzei fiind verde-albăstruie, ceroasă și mai scurtă. **În urma** observaţiilor fenologice a somaclonelor SC$_2$ de triticale au fost evidenţiate variaţii morfologice ale spicului. Pentru SC$_2$, Ingen 93 obținute *in vitro* s-a atestat variația morfologică – spic ramificat și apariția spiculețelor secundare (Fig. 1).

Fig. 1. Variații morfologice ale spicului în comparație cu martorul: a) Ingen 93 M, b)Ingen 93 in vitro, spic ramificat și apariția spiculețelor secundare.

a b

Ulterior, au fost colectate plantele în faza de vegetaţie: *Maturitatea deplină,* stadiul de vegetaţie: *Semințe ieșite din repausul germinativ secundar* (99) pentru care au fost evaluaţi parametrii morfometrici ce prezintă interes agronomic.

În rezultatul evaluărilor biomorfologice s-a atestat variație semnificativă a valorii medii a caracterelor agromorfologice la somaclonele SC_1 și SC_2 de triticale, la nivel de 95 -99,9% și au depins de genotip, factorii luați în studiu și indicele analizat (Tabelele 1,2).

În rezultatul analizei statistice a datelor obținute pentru caracterul *numărul de fraţi fertili per plantă* s-a evidențiat reacție specifică pentru fiecare genotip, diferențele fiind semnificative la nivel de 95-99,9%.

Tabelul 1. Valorile medii ale caracterelor biomorfologice ale somaclonelor SC_1 de triticale.

Caracter / Genotipul	Numărul de fraţi fertili	Talia plantei,cm	Lungimea spicului principal, cm	Lungimea ultimului internod	Numărul de boabe/spic	Greutatea boabelor, g
	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %	$\bar{x}$ ± ES Cv, %
Martor Ingen 35	1,06±0,11 59,97%	89,06±1,08 6,66%	11,21±0,18 9,26%	24,53±0,66 14,78%	23,73±2,42 56,00%	0,95±0,10 59,06%
RAD Ingen 35	0,76±0,16 109,29%	**80,18±1,62***** **10,13%**	11,4±0,22 9,96%	23,42±0,52 11,25%	**13,08±2,26**** **86,71%**	**0,44±0,09**** **102,07%**
In vitro Ingen 35	0,92±0,17 93,71%	**101,4±1,39***** **6,86%**	**12,7±0,2***** **7,87%**	**27,3±0,48**** **8,83%**	17,32±2,44 70,64%	0,70±0,12 87,44%
Martor Ingen 93	1,44±0,11 39,97%	102,5±1,58 8,04%	11,31±0,16 7,76%	28,92±0,71 12,87%	38,0±3,49 47,84%	1,45±0,13 48,20%
RAD Ingen 93	1,36±0,13 52,56%	101,8±2,50 13,45%	**12,4±0,19***** **8,46%**	**31,51±0,58**** **10,22%**	32,36±2,86 48,52%	**1,14±0,11*** **55,26%**
In vitro Ingen 93	**1,18±0,09*** **40,78%**	**116,33±2,50***** **11,19%**	**12,37±0,34***** **14,39%**	**34,07±0,64***** **9,84%**	**47,11±2,17*** **24,00%**	**1,85±0,11*** **31,47%**
Martor 188 TR5021	2,4±0,17 40,35%	115,4±0,96 4,57%	12,40±0,18 8,11%	41,38±0,65 8,72%	47,03±2,72 31,74%	1,20±0,08 36,41%
RAD 188 TR5021	**1,33±0,16*** **66,30%**	**79,38±2,27***** **15,68%**	**11,36±0,30*** **14,54%**	**21,17±0,55***** **14,41%**	**9,86±1,41***** **78,40%**	**0,25±0,04***** **98,19%**
In vitro 188 TR5021	**0,5±0,10***** **114,47%**	**89,31±1,32***** **8,09%**	12,32±0,24 11,04%	**27,54±0,53***** **10,60%**	**20,86±2,14***** **56,19%**	**0,77±0,09**** **65,34%**

*Notă: *, **, *** - diferență semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,01 (în comparație cu martorul).*

Somaclonele SC_1 au înregistrat micșorarea valorilor medii ale caracterului *numărul de fraţi fertili per plantă* cu 18,06 – 44,59% față de martor, pentru genotipurile Ingen 93(*in vitro*) și 188 TR(RAD). Cea mai mică valoare a mediei caracterului *fraţi fertili per plantă* (0,5) s-a estimat pentru genotipul 188TR (*in vitro*), fiind semnificativă la nivel de 99,9%, iar pentru somaclonele SC_2 s-a constatat creșterea valorilor maxime pentru aceleași genotipuri Ingen 93 (*in vitro*) cu 92% și 188 TR(RAD) cu 85% în comparație cu martorul. Pentru somaclonele SC_1 188 TR(RAD) s-a atestat că genotipul a avut impact semnificativ asupra caracterului dat, constituind 22,15%. Celelalte genotipuri au deținut valori medii, nesemnificative în comparație cu martorul, pentru toți factorii luați în studiu. Evaluarea gradului de variabilitate pentru caracterul *numărul de fraţi fertili per plantă*, este mare (39,97 – 151,47%) pentru ambele generații, ceea ce atestă o variație puternică.

Tabelul 2. Valorile medii ale caracterelor biomorfologice ale somaclonelor SC_2 de triticale.

Caracter / Genotipul	Numărul de fraţi fertili	Talia plantei, cm	Lungimea spicului principal, cm	Lungimea ultimului internod	Numărul de boabe/spic	Greutatea boabelor, g
	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%	$\bar{x}$ ± ES Cv,%
Martor Ingen 35	0,86±0,13 84,26%	75,93±2,04 14,75%	13,2±0,22 9,14%	26,16±0,91 19,10%	75,66±4,10 29,73%	3,52±0,23 36,16%
RAD Ingen 35	0,56±0,15 151,47%	**61,75±2,77*** 24,61%**	12,43±0,36 16,00%	**21,59±0,36** 34,61%**	**60,2±6,41* 58,40%**	**2,04±0,28*** 77,56%**
In vitro Ingen 35	0,9±0,16 98,30%	69,31±2,62 20,73%	13,75±0,38 15,35%	25,25±1,41 30,70%	64,06±5,08 43,46%	**2,12±0,26*** 69,37%**
Martor Ingen 93	0,76±0,12 88,55%	69,88±0,97 7,62%	13,21±0,11 4,83%	24,03±0,65 14,95%	60,76±2,30 20,81%	2,78±0,11 22,98%
RAD Ingen 93	0,95±0,21 106,79%	68,73±3,96 27,63%	12,73±0,38 14,48%	23,82±1,89 38,09%	51,95±5,46 50,46%	**1,91±0,26** 66,46%**
In vitro Ingen 93	**1,46±0,15*** 58,66%**	**79,11±1,38*** 9,56%**	**15,21±0,3*** 10,97%**	25,61±0,63 13,56%	**75,4±4,18** 30,39%**	**3,39±0,24* 39,69%**
Martor 188 TR 5021	0,6±0,12 107,58%	69,82±2,57 18,45%	12,44±0,34 13,74%	24,3±1,28 26,51%	70,04±5,57 39,77%	2,03±0,23 58,86%
RAD 188 TR 5021	**1,11±0,15* 72,05%**	**82,5±3,21** 20,26%**	**15,03±0,42*** 14,55%**	**33,07±1,68*** 26,40%**	71,92±5,84 42,25%	**3,05±0,28** 48,82%**
In vitro 188 TR 5021	0,96±0,18 103,38%	71,85±2,13 16,29%	**14,53±0,36*** 13,81%**	23,21±1,16 27,43%	58,56±4,69 43,86%	2,0±0,20 55,02%

*Notă: *, **, *** - diferenţă semnificativă pentru P ≤ 0,05; 0,01; 0,001 (în comparaţie cu martorul).*

Valorile medii ale caracterului *talia plantei* variază pentru somaclonele SC_1 obţinute prin cultura *in vitro* şi este dependentă de genotip. Astfel, la genotipurile Ingen 93(*in vitro*) şi Ingen 35(*in vitro*) s-au constatat valori medii mai mari faţă de martor (cu 13,49 – 13,89%). Valoare maximă a caracterului *talia plantei* pentru genotipul Ingen 93 (*in vitro*),are aceeaşi tendinţă şi în generaţia următoare, diferenţele fiind semnificative la nivel de 99,9%.

La variantele iradiate cu raze gama (150 Gy) s-au înregistrat valori medii mai mici faţă de martor pentru toate genotipurile cu 9,98 – 31,36 %. Deci, radiaţia gama a avut efect inhibitor asupra caracterului *talia plantei* pentru toate somaclonele SC_1 studiate, iar pentru somaclonele SC_2 188 TR (RAD) efectul radiaţiei a indicat valori medii mai mari cu18%, faţă de martor, semnificative la nivel de 99 %. Aceasta demonstrează sensibilitatea genotipului 188 TR la acţiunea factorilor luaţi în studiu. Coeficientul de variaţie a atins valori mici şi medii (4,57 – 24,61%), indicând că caracterul *talia plantei* este stabil în ambele generaţii.

În rezultatul analizei datelor obținute pentru caracterul *lungimea spicului principal* a somaclonelor SC_1 și SC_2s-a evidențiat o reacție specifică pentru fiecare genotip. S-au constatat valori medii mai înalte cu 9,37- 13,29% pentru genotipurile Ingen 93 (*in vitro*, RAD) și Ingen 35 (*in vitro*)în prima generație și a avut aceeași tendință pentru unele genotipuri și în generația următoare, diferențele fiind semnificative la nivel de 99,9% în comparație cu martorul. Valori medii mai înalte cu 15-20% au fost înregistrate pentru genotipurile Ingen 93 *(in vitro*) și 188 TR (*in vitro*). S-a constatat aceeași evoluție a genotipului 188 TR (RAD) în ambele generații, tendință demonstrată și la alte caractere luate în studiu. Cea mai înaltă valoare a caracterului lungimea spicului (15,21 cm) s-a înregistrat pentru somaclonele SC_2, Ingen 93(*in vitro*). Coeficientul de variație a acestui indice a constituit 8,11 – 16%, ceea ce corespunde cu un nivel mic și mediu de variabilitate.

În mod similar, pentru somaclonele SC_1, la variantele supuse iradierii cu raze gama și obținute *in vitro*, s-au atestat valori mai mari ale caracterului *lungimea ultimului internod* cu 4,33 – 17,80%, față de martor pentru genotipurile Ingen 93 (RAD, *in vitro*) și Ingen 35 (*in vitro*). Cele mai mici valori medii a înregistrat genotipul 188TR (RAD, *in vitro*), constituind (21,17cm), respectiv (27,54cm), diferențele fiind semnificative la nivel de 99,9%. Iar pentru somaclonele SC_2 s-a înregistrat micșorarea valorilor medii ale caracterului *lungimea ultimului internod* la variantele supuse iradierii cu raze gama. Cele mai mici valori medii a înregistrat genotipul Ingen 35 (RAD), constituind 18% (21,59cm), iar pentru genotipul 188TR (RAD), s-au atestat valori mai mari ale caracterului cu 36%, cu o semnificație de 99-99,9% față de martor. Această creștere, probabil se datorează specificului impactului radiației gama în condițiile *in vitro*asupra genotipului dat.

Evaluarea gradului de variabilitate a caracterul *numărul de boabe per spic principal* a indicat valori medii mai mari cu 23,97%, față de martor la genotipul Ingen 93 (*in vitro*), semnificativ (95%). Aceste somacloneSC$_1$ au înregistrat și cele mai mari valori (47,11) ale caracterului respectiv. Efectul radiației gama s-a remarcat și asupra indicelui *numărul de boabe per spic principal*. S-au atestat diferențe semnificative (99 – 99,9%), cu 44,88 – 79,04% mai mici în comparație cu martorul pentru genotipul Ingen 35 (RAD) și 188TR (RAD, *in vitro*). Valoare cea mai mică (9,86) s-a înregistrat la genotipul 188TR (RAD). Evaluarea variabilității a caracterul *numărul de boabe per spic principal* a atestat o variație mare (24,00 – 86,71%). Pentru somaclonele SC_2 caracterul *numărul de boabe per spic principal* a indicat aceeași tendință de creștere în comparație cu SC_1, fiind atestate valori mediimai mari cu 24%, față de martor la genotipul Ingen 93(*in vitro*), cu o semnificație de 99%. Aceste somaclone au înregistrat și cele mai mari valori (75,4) ale caracterului respectiv, numărul de boabe per spic a ajuns la 124 de boabe. Efectul radiației gama s-a remarcat și asupra indicelui *numărul de boabe per spic principal*. S-au atestat diferențe semnificative (95%), cu 21% mai mici în comparație cu martorul pentru genotipul Ingen 35 (RAD). Coeficientul de variație a caracterul *numărul de boabe per spic principal*, pentru somaclonele SC_2a atestat o variație mare (20,81 – 58,40%), dar în comparație cu SC_1 mai mică.

Valoarea medie a caracterului *greutatea boabelor* pentru somaclonele SC_1și SC_2 a înregistrat diferențe semnificative dintre variante la nivel de 95 -99% la toate genotipurile în comparație cu martorul. Somaclonele SC_1, Ingen 35 (RAD), Ingen 93 (RAD) și 188 TR (RAD, *in vitro*) au avut valori medii mai mici cu 21,38 -79,17% față de martor. Acţiunea culturii *in vitro*asupra variaţiei caracterului *greutatea boabelor* per spic, se menţine la ambele generații de somaclone. Astfel, valoarea cea mai mare a acestui caracter față de martor a fost remarcată pentru genotipul Ingen 93 (*in vitro*) (SC_2) și a constituit 27,58%. Genotipul 188 TR(RAD) a atestat o îmbunătățire semnificativă a caracterului cu 50% față de martor. Celelalte forme au avut aceiași tendință a valorilor medii față de martor. Evaluarea gradului de variabilitate pentru caracterul dat a atins valori mari (22,98 -77,56%), ceea ce denotă o variabilitate mare a acestui caracter, dar mai mic în comparație cu SC_1.

Analiza dispersionala a rezultatelor obținute prin aplicarea testului ANOVA, denotă că asupra variației caracterelor cantitative la somaclonele de triticale (SC_1-SC_2) o contribuție semnificativă (la nivel de 95 - 99,9%) o are genotipul cât și factorii studiați (RAD și cultura *in vitro*) și interacțiunea dintre genotip și factori (Tab. 3).

Puterea de influență a genotipului în dependență de caracterul biomorfologic, factorul și generația analizată a manifestat valori cuprinse între 4,34 -30,77%. Cele mai mari valori ale acestui indice au fost înregistrate pentru caracterele: numărul de frați fertili 22,15% (SC_1 iradiate), talia plantei 28,74% (SC_1), lungimea ultimului internod 30,77 (SC_1), obținute prin cultura *in vitro*, greutatea boabelor 15,01-22,70% (SC_1-SC_2),pentru somaclonele obținute *in vitro.* Influența genotipului este semnificativă la nivel de 95-99,9 % pentru majoritatea caracterelor în ambele generații.

Tabelul 3. Analiza varianţei indicilor biomorfologici la somaclonele SC_1 şi SC_2(testul ANOVA).

Sursa variației	F	PI,%(SC_1)	F	PI,%(SC_2)
Numărul de fraţi fertili				
Genotipul	24,03 ***	**22,15**	0,96	1,25
RAD	14,64***	6,75	1,79	1,16
Genotip – RAD	5,12**	4,71	2,61*	3,40
Genotipul	6,47**	4,93	4,25**	5,25
Cultura *in vitro*	49,43***	18,84	6,89***	4,26
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	27,97***	**21,32**	1,11	1,37
Talia plantei				
Genotipul	39,18***	26,84	3,52*	4,02
RAD	48,49***	**16,67**	0,12	0,00
Genotip RAD	10,53***	7,21	11,90***	**13,60**
Genotipul	45,66***	28,74	1,83	2,19
Cultura *in vitro*	10,47***	3,29	4,58*	2,73
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	35,96***	**45,32**	7,42***	**8,87**
Lungimea spicului principal				
Genotipul	4,74**	5,65	4,14**	4,34
RAD	0,16	0,09	5,53*	2,89
Genotip - RAD	6,93**	8,27	16,49***	**17,28**
Genotipul	2,84*	3,27	2,95*	6,28
Cultura *in vitro*	13,87***	7,98	63,50***	**28,88**
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	5,11**	5,87	3,32*	2,92
Lungimea ultimului internod				
Genotipul	68,76***	18,93	7,44***	8,13
RAD	142,38***	19,60	2,26	1,23
Genotip - RAD	151,13***	**41,62**	10,93***	**11,94**
Genotipul	84,16***	**30,77**	2,74*	3,61
Cultura *in vitro*	13,37***	2,44	1,07	0,00
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	110,62***	**40,45**	0,43	0,57
Numărul de boabe per spic				
Genotipul	14,59***	11,0	7,53***	**9,10**
RAD	57,98***	**21,87**	2,79*	1,68
Genotip - RAD	16,96***	12,79	1,78	2,15
Genotipul	27,46***	**21,98**	3,19*	3,94
Cultura *in vitro*	11,29***	4,51	0,04	0,02
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	19.83***	15,87	5,73**	**7,07**
Greutatea boabelor				
Genotipul	14,60***	12,78	4,60**	4,89
RAD	46,87***	**20,52**	4,74*	2,51
Genotip - RAD	4,16**	3,64	15,07***	**16,02**
Genotipul	23,41***	**22,70**	14,51***	**15,01**

Cultura *in vitro*	1,01	0,48	0,23	0,15
Interacțiunea Genotip – Cultura *in vitro*	7,16***	6,94	10,01***	10,35

*Notă: * ,**, *** - diferența semnificativă pentru P <0,05;0,01;0,001.*

Puterea de influență a radiației asupra caracterelor analizate este maximală la somaclonele SC_1 pentru indicii: talia plantei- 24,67 %, numărul de boabe -21,87% și greutatea boabelor- 20,52 %, fiind semnificative la nivel de 99,9%. Acțiunea maximă a manifestat interacțiunea genotip – RAD fiind 41,62% (SC_1), pentru somaclonele SC_2 această interacțiune a constituit 17,28 %, pentru caracterul lungimea spicului principal. Factorului genotip-RAD a avut un impact considerabil asupra somaclonelor SC_2, fiind semnificativ, manifestând efect specific la majoritatea caracterelor studiate.

Cultura *in vitro* a influențat semnificativ variația caracterului *lungimea spicului principal* puterea de influență fiind 28,88% (SC_2), iar la somaclonele SC_1 a avut impact semnificativ pentru valoarea caracterului *numărul de frați fertili* (18,84%), în timp ce interacțiunea genotip – cultura *in vitro* a prezentat o putere de influență maximală pentru indicele: *talia plantei* 8,87 - 45,32% (SC_1-SC_2), *lungimea ultimului internod* 40,45%(SC_1).

Concluzii

În rezultatul cercetării influenței radiației gama (150Gy) și culturii *in vitro* a embrionilor maturi de triticale s-a constatat o variație semnificativă a caracterelor studiate (numărul de frați fertili, talia plantei, lungimea spicului principal, numărul de noduri, numărul și greutatea boabelor), ceea ce demonstrează impactul acestor factori în calitate de surse ce pot fi utilizate în sporirea variabilității genetice a somaclonelor prin crearea de forme cu însușiri valoroase.

Cultura *in vitro* și iradierea cu raze gama a indus variații semnificative la nivel de 95 – 99,9% ale valorilor medii la 6 caractere în comparație cu martorul, modificând astfel media în dependență de genotip și indicele studiat.

Evaluarea expresiei caracterelor cantitative a scos în evidență valori mici și medii ale variabilității pentru majoritatea însușirilor cercetate. Coeficientul de variație pentru caracterele: numărul de frați fertili, numărul de boabe per spic și greutatea boabelor a atins valori mari, ceea ce denotă posibilitatea evidențierii unor forme cu însușiri superioare față de genotipurile inițiale.

În rezultatul evaluării s-au evidențiat somaclonele (SC_2) derivate de la genotipul Ingen 93(*in vitro*) și 188 TR(RAD), pentru care toate caracterele analizate au avut valori mai mari decât martorul, semnificative la nivel de 95 – 99,9%, determinative fiind 4 caractere biomorfologice: talia plantei, lungimea spicului principal, numărul de boabe și greutatea boabelor.

Analiza datelor experimentale prin aplicarea testului ANOVA denotă că contribuţia radiaţiei gama asupra indicilor: numărul de frați fertili, talia plantei, lungimea ultimului internod, numărul de boabe și greutatea boabelor, constituie 95-99,9%. Acţiune maximă a manifestat genotipul (30,77%) și interacțiunea factorilor genotip - RAD (17,28-41,62%), genotip – cultura *in vitro* (21,32–40,45%) în dependenţă de caracter (99,9%). Efectul radiației pe parcursul generațiilor este un factor care acționează specific și depinde de genotip și caracterul studiat.

Rezultatele obținute confirmă eficacitatea factorilor cercetați în extinderea variabilității genetice la triticale, date ce argumentează necesitatea analizei somaclonelor în următoarele generații în vederea selectării genotipurilor cu caractere performante.

Referințe:

1. BAIRU, M., AREMU, A. and J. Van STADEN. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. In: *Plant Growth Regul*., 2011, 63, p. 147–173.
2. HAMMOUDA, D., BAAZIZ, N., and KHALFALLAH, N. Genetic characterization of octoploid (AABBDDRR) and hexaploid (AABBRR) triticales. În: *Eur. Sci. J.*, 2015, vol.11, no. 9, p. 284–296.
3. PYKALOA, S., and DUBROVNA, O. Variability of the Triticale Genome in Culture *in vitro*. In: *Cytology and Genetics*, 2018, vol. 52, no. 5, p. 385–393.

4. McGOVERIN, CM., SNYDERS, F.,MULLER, N.,BOTES, W.,FOX, G.,MANLEY, M. A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. In: *J. Sci. Food Agric.*, 2011 May, 91(7), p. 1155-1165.
5. FAN, Zhu. Triticale: Nutritional composition and food uses. In: *Food Chemistry*, Volume 241, 15 February 2018, p. 468-479.
6. VEVERIŢĂ, E., LEATAMBORG, S. Realizări în crearea soiurilor noi de triticale în Republica Moldova, În: *,,Ştiința în Nordul Republicii Moldova: realizări, probleme, perspective”,* materialele conf. șt., 21 - 22 iunie 2019, Bălți, Moldova, 2019 , p. 180-185.
7. LARKIN, P., SCOWCROFT, W. Somaclonal variation: a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 1981, bd. 60, p. 197-214.
8. KAEPPLER, S., KAEPPLER, H., RHEE, Y. Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. In: *Plant Molecular Biology*, 2000, 43(2-3), p. 179-188.
9. FOURRÉ, J., BERGER, P., NIQUET, L., ANDRÉ, P. Somatic embryogenesis and somaclonal variation in Norway spruce: morphogenetic, cytogenetic and molecular approaches. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, vol. 94, p. 159–169.
10. MICHAEL, W., ADEYEMI, O., JOHANNES, V. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. In: *Plant Growth Regulation*, 2011, vol. 63, p. 147–173.
11. BOUIAMRINE, El H., DIOURI, M. and EL-HALIMI, R. Assessment of somaclonal variation in regenerated plants from immature embryos culture of durum wheat. In: *Int. J. Agric. Biol.*, 2012, 14, p. 941–946.
12. ТАНАСИЕНКО, И., ЕМЕЦ, А., БЛЮМ, Я. Оценка эффективности каллусообразования и регенерации яровых сортов ячменя, районированных на территории Украины. В: Цитология и генетика, 2009, № 4, с. 12-19.
13. PADMAJA, G., REDDY, V., and REDDY, G. Somaclonal variation from regenerants of mature embryo calli of triticale. In: *Indian J. Exp. Biol*., 1993, vol. 31, no. 3, p. 238–241.
14. VILLAREAL, R., MUJEEB, K. and PENA, P. Agronomic performance and quality characteristics of tissue culture derived lines of spring wheat (Triticum aestivum L.) cultivar Pavon. In: *Cereal Res. Com.*, 1999, 27, p. 41–48.
15. ZIMNY, J. and BEDNAREK, P. Tissue culture-induced genetic and epigenetic variation in triticale (Triticosecale spp. Wittmack ex A. Camus 1927) regenerants. In: *Plant Mol. Biol.*, 2015, vol. 89, no. 3, p. 279–292.
16. RASTOGI, J., BUBBER, P., and SHARMA, Brij Lal. Somaclonal Variation: A new dimension for sugarcane improvement. In: *GERF Bulletin of Biosciences*, June 2015, 6(1), p. 5-10.
17. ROGHAYEH, Ah., NASSE, Z., et al. Efficient *In Vitro* Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Mature and Immature Embryos of Wheat (Triticum aestivum L.). In: *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 2016, vol. 59: e160288.
18. PATADE, V., SUPRASANNA, P. Radiation induced *in vitro* mutagenesis for sugarcane improvement. In: *Sugar Tech*., 2008, 10(1), p.14-19.
19. MUSHTAQ, Ah., RAKESH, Ch. Assessment of the effects of gamma radiations on various morphological and agronomic traits of common wheat (Triticum aestivum L.) var. WH-147. In: *European Journal of Experimental Biology*, 2015, 5(7), p. 6-11.
20. CRAVCENCO, O. *Particularităţile procesului de regenerare a plantelor şi inducerii variabilităţii genotipice la porumbul ceros in vitro*. Autoreferat al tezei de doctor în șt. biologice, Chișinău, 1999, p. 24.
21. GRIGOROV, T., SMEREA, S., ANDRONIC, L. Variabilitatea caracterelor agro morfologice la somaclonele de orz (SC_0) indusă de radiație gama și infecție virală. În: *,,Realizări ştiinţifice în ameliorare şi tehnologii inovative la culturile cerealiere în contextul schimbărilor climatice”*, materialele conf. șt., 4-5 septembrie 2020, Chișinău, 2020, p. 153-161.
22. MURASHIGE, T. and F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. In: *Physiol. Plant*, 1962, 15, p. 473–497.
23. CIOBANU, R. Influenţa genotipului şi a razelor gama asupra regenerării de plantule în cultura *in vitro* la triticale. În: *„Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice”*: materialele conf. șt. intern., ediția a II-a, 23 noiembrie 2018, Chișinău, 2018, p. 164-170.

Date despre autor:
Renata CIOBANU, cercetător științific, Laboratorul Genetica Rezistenței Plantelor, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: renata.ciobanu@igfpp.md
ORCID: 0000-0003-3087-8634

Notă: *Lucrarea a fost realizată în cadrul Proiectului 20.80009.5107.03 Valorificarea eficientă a resurselor genetice vegetale și biotehnologiilor avansate în scopul sporirii adaptabilității plantelor de cultură și schimbările climatice(Program de Stat 2020-2023).*

Prezentat la 03.02.2023

CZU: 632.111.8:635.64

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАРАТУРЫ НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПРИЗНАКОВ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ПОТОМСТВ ВИРУСИНФИЦИРОВАННЫХ ГЕНОТИПОВ ТОМАТА

Татьяна САЛТАНОВИЧ, Лариса АНДРОНИК, Людмила АНТОЧ, Ана БУЛДУМАК

Институт генетики, физиологии и защиты растений,
Молдавский государственный университет

A fost studiată acțiunea factorului termic asupra funcționalității gametofitului masculin la descendenții de tomate infectați cu virusul mozaicului tutunului (VMT) și virusul aspermiei tomatelor (VAT). S-a stabilit, că influența temperaturii înalte asupra gametofitului masculin la descendenții VMT/VAT provoacă modificarea caracterelor funcționale ale gametofitului masculin. Efectul produs este controlat în mare măsură de temperatura 78,1…81,5% (pentru viabilitatea polenului), iar variația dimensiunilor tuburilor polinice este determinată de temperatura și interacțiunea factorilor (75,6%). Analiza individuală a structurilor spectrelor de variație a indicilor gametofitului masculin pentru fiecare genotip a scos în evidență diferențe semnificative în sensibilitatea acestora la acțiunea factorilor ce cauzează variabilitatea, fapt ce a permis gruparea genotpurilor după reacția la stres, cât și prognoza răspunsului la etapa de sporofit. În baza datelor obținute au fost evidențiate genotipuri cu nivel de termorezistență înaltă pentru includerea ulterioară a acestora în procesul ameliorativ.

C***uvinte-cheie***: tomate, virus, stres termic, polen, tuburi polinice, viabilitatea polenului, variabilitate, rezistență.

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON VARIABILITY OF MALE GAMETOPHYT TRAITS IN THE PROGENY OF VIRUS-INFECTED TOMATO GENOTYPES

The action of the thermal factor on the functionality of the male gametophyte in tomato progeny infected with tobacco mosaic virus (TMV) and tomato aspermia virus (TAV) was studied. It was established that the influence of high temperature on the male gametophyte in TMV/TAV offspring causes the modification of the functional characters of the male gametophyte. The effect produced is largely controlled by temperature 78.1...81.5% (for pollen viability), and the variation of pollen tubes sizes is determined by temperature and the interaction of factors (75.6%). The individual analysis of the structures of the variation spectra of the male gametophyte index for each genotype revealed significant differences in their sensitivity to the action of the factor that cause variability, a fact that allowed to the clustered of genotypes according to their reaction to stress, as well as the prediction of the sporophyte response to the stress. Based on the obtained data, genotypes with a high level of heat resistance were highlighted for their subsequent inclusion in the improvement process.

Keywords: tomato, virus, heat stress, pollen, pollen tubes, pollen viability, variability, resistance.

Введение

Экстремальное влияние факторов окружающей среды, в частности температурного, солевого и водного стрессов, создает серьезные проблемы для практического управления реакциями сельскохозяйственных культур и приводит к существенному снижению урожайности и качества продукции. В неблагоприятных климатических условиях реакция растений в значительной степени зависима от уровня их устойчивости, а генотипы генетически не способные реагировать на широкий спектр климатических изменений, не могут противостоять влиянию абиотических стрессов. Известно, что действие высоких температур существенно лимитирует рост и развитие большинства культур на различных этапах онтогенеза, в том числе igrown in Kansas. репродуктивных, оказывая прямое влияние на формирование и функционирование генеративных органов [1, 2, 3]. В условиях высокотемпературного стресса отмечается задержка цветения, нарушения в развитии мужских и женских половых клеток, ухудшение качества мужского гаметофита, а также уменьшение завязываемости и осемененности плодов [5, 6]. *П*остоянное, или даже непродолжительное, воздействие высоких

температур у томата приводит к уменьшению количества пыльцевых зерен и снижению их активности, что выражается в ингибировании прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок. Одной из возможных причин таких изменений может быть нарушение накопления крахмала в развивающихся пыльниках, что в результате уменьшает количество растворимых сахаров в зрелых пыльцевых зернах и снижает их жизнеспособность. В тоже время авторы отмечают, что генотипы томата с повышенным содержанием сахарозы в зрелых пыльцевых зернах более теплоустойчивы [7, 8]. Кроме того, показано, что действие высокой температуры в ряде случаев изменяет концентрацию некоторых фитогормонов (ауксинов и абсцизовой кислоты), а также ускоряет образование и реакции активных форм кислорода, что также нарушает жизнеспособность мужского гаметофита [9, 10]. **Даже н**епродолжительное действие высокой температуры на репродуктивные стадии развития влечет за собой возникновение изменений в положении рыльца и столбика, уменьшение пыльцеобразующей способности, а также нарушает процессы оплодотворения и эмбриогенеза [11].

Считают, что жизнеспособность пыльцы является одним из наиболее важных признаков, обеспечивающих успешное оплодотворение и качество завязавшихся семян. Ряд авторов [12] отмечают тесную зависимость значений этого признака от температуры и влажности, что позволяет использовать результаты оценки жизнеспособности пыльцы в качестве инструмента для скрининга перспективных генотипов. В условиях высокой температуры между культурными и дикими формами томата установлены различия по проценту прорастания пыльцы и пыльцеобразующей способности. В тоже время авторы не обнаружили достоверных корреляций между этими признаками, однако сочетание большого количества пыльцевых зерен и высокий процент их прорастания в условиях высокой температуры может значительно улучшить репродуктивную способность генотипов [12]. Существует и иное мнение, согласно которому, количество пыльцевых зерен не всегда может быть использовано как селекционный признак, так как в ряде случаев растения могут формировать большое количество пыльцы, но качество ее будет недостаточно высоким [12-14]. Вследствие этого рекомендуют оценивать термоустойчивость генотипов на основе анализа жизнеспособности пыльцы в условиях высокой температуры, так как многие исследователи подтвердили тесную связь этого признака с завязываемостью плодов [13, 15]. В настоящее время экспериментально подтверждена возможность проведения успешной селекции по вариабельности жизнеспособности пыльцы в условиях высокой температуры, что свидетельствует об эффективности использования значений этого признака как показателя термоустойчивости [16]. На основе результатов полученных опытным путем на ряде культур исследователи сообщают о неравноценности пыльцевых зерен по термоустойчивости и возможности идентификации и отбора устойчивых генотипов по признакам пыльцы на основе высокого процента общности генетических систем гаметофита и спорофита [16, 17].

Следует отметить, что температура является одним из важнейших факторов, определяющих характер взаимодействия растений с патогенами [18]. Существует мнение, что как непродолжительные, так и длительные периоды жаркой погоды могут вызывать значительные изменения во взаимодействии между вирусами и растениями-хозяевами. Высокие температуры окружающей среды могут изменять характер взаимодействия между вирусами и инфицированными хозяевами, что оказывает влияние на рост растений и их продуктивность [19]. Результаты наших исследований показали, что совместное влияние повышенной температуры и вирусных фитопатогенов приводит к возникновению дифференцированных реакций мужского гаметофита, которые в большей степени детерминированы действием температуры в случае изменчивости жизнеспособности пыльцы и вирусных патогенов - для вариабельности длины трубок [22]. Однако, информация о влиянии инфицирования растений на изменчивость мужского гаметофита в последующих поколениях ограничена. В этой связи исследования по изучению влияния температурного фактора на изменчивость потомства вирусинфицированных растений на разных стадиях онтогенеза приобретают особую актуальность. Цель проведенных исследований состояла в изучении влияния повышенной температуры на изменчивость функциональных признаков мужского гаметофита потомства вирусинфицированных генотипов томата.

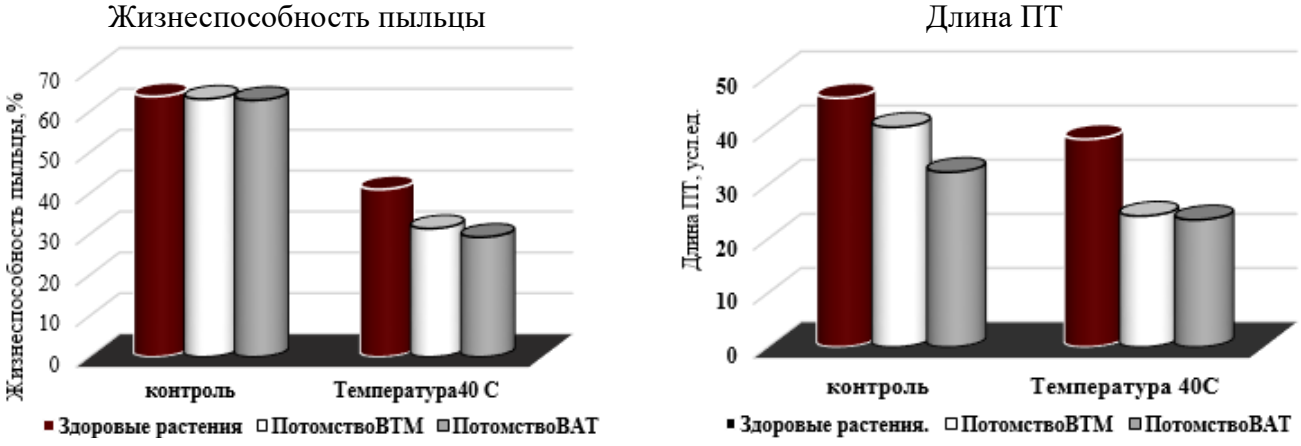
Материал и методы

Эксперименты проводили с потомствами вирусинфицированных ВТМ/ВАТ генотипами томата (вирус табачной мозаики – ВМТ, вирус аспермии томатов – ВАТ). В исследования были включены следующие сорта: Венец, Мари Гратефулли, Руфина, Томиш, Флакэра, Михаела, а также дикие виды Solanum chilense и S. pimpinellifolium. Растения выращивали в теплице рендомизированно по общепринятой для томатов методике до стадии цветения. Для оценки качества пыльцы со здоровых растений (контроль) и потомств вирусоинфицированных растений (опыт) собирали цветки, отделяли и подсушивали пыльники, выделяли пыльцу. С целью определения ее термоустойчивости проводили в течение 3-х часов прогревание части пыльцевых в термостате при температуре 40°С (опыт), в контроле пыльца также находилась в термостате при оптимальном температурном режиме 27°С. По истечении указанного срока проводили посев контрольного и опытного вариантов пыльцы на искусственную питательную среду, содержащую 15%-ный водный раствор сахарозы и борную кислоту - 0,006%. Культивирование пыльцевых зерен осуществляли в термостате при температурном режиме 27°С в течение 3-х часов. В процессе анализа препаратов под микроскопом в контрольном и опытных вариантах изучали не менее 500 пыльцевых зерен, оценивали их жизнеспособность (ЖП) и длину пыльцевых трубок (ПТ). Для определения термоустойчивости мужского гаметофита вычисляли соотношение полученных показателей в контрольном и опытных вариантах и выражали в процентах. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программ Statgraphics Plus v.5.0.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что при оптимальной температуре как у здоровых, так и у потомств инфицированных растений, уровень жизнеспособности пыльцы был приблизительно равным и составлял 62,8…63,7%. Действие температуры оказывало существенное влияние на изменение этого признака, снижая его значения в среднем в 1,6 раза у здоровых растений и в 2,0…2,1 раза у потомств ВМТ/ВАТ. При сравнении размеров пыльцевых трубок выявлено, что у здоровых растений при оптимальной температуре формировались довольно длинные пыльцевые трубки, размер которых в среднем составлял 46,0 усл.ед., тогда как у потомств инфицированных растений в этих условиях образовывались более короткие ПТ - 32,3…40,6 усл.ед.

Рис. 1. Влияние температуры (40°С) на признаки мужского гаметофита томата.



Культивирование пыльцы при высокой температуре (40°С) приводило к уменьшению размеров пыльцевых трубок потомств ВМТ/ВАТ в 1.4…1.7 раза по сравнению с контролем, тогда как у контрольных растений при оптимальной и стрессовой температурах размеры пыльцевых трубок статистически не различались (рис. 1).

В результате проведенных исследований установлено, что среди изученных потомств ВМТ наиболее сильно реагировали на термообработку сорта **Флакэра**, Венец и Руфина, у которых жизнеспособность пыльцы была ниже значений контроля в 1,9…2,7 раза. В то же время у диких видов и сорта М. Гратефулли значения этого признака были наиболее стабильными. В составе потомств ВАТ

наиболее сильная реакция отмечена у сортов Флакэра, Венец и дикого вода *S. chilense,* что выражалось в уменьшении жизнеспособности пыльцы в 1,9…2,2 раза. В то же время стабильность значений анализируемых показателей зарегистрирована у сортов (ВАТ) Томиш, М.Гратефулли, что, вероятно, связано с более высокой термоустойчивостью их пыльцевых зерен. У большинства изученных потомств ВМТ/ВАТ в результате прогревания не выявлено значительных различий по длине пыльцевых трубок по сравнению с контролем, за исключением сортов Флакэра,Томиш (ВМТ), у которых формировались более короткие трубки, что, вероятно, происходит в результате уменьшения темпов их роста.

Таким обрзом, прогревание пыльцевых зерен потомств вирусинфицированных генотипов томата приводит к дифференцированному изменению изученных функциональных признаков мужского гаметофита, что, вероятно, свидетельствует об их неравноценности по термоустойчивости.

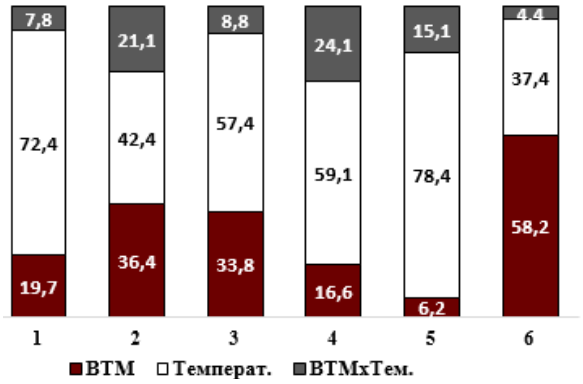
Таблица. Основные источники изменчивости признаков мужского гаметофита томата потомств ВМТ/ВАТ.

Источники изменчивости	Жизнеспособность пыльцы			Длина пыльцевых трубок		
	Степени свободы	Сумма квадратов эффектов	Доля влияния факторов, %	Степени свободы	Сумма квадратов эффектов	Доля влияния факторов, %
Потомства ВТМ						
Генотип	7	1226,9*	5,6	7	1323,2*	17,9
ВТМ	1	631,9*	2,9	1	473,9*	6,4
Температура	1	17748*	81,5	1	3056,7*	41,3
Взаимодействие факторов	22	2169*	9,92	22	2543,1*	34,3
Остаточная изменчивость	64	2,92*	1,3	64	2,93	0,04
Потомства ВАТ						
Генотип	7	1893,7*	7,9	7	1495,4*	19,7
ВАТ	1	945,6*	3,95	1	2799,4*	36,8
Температура	1	18931*	78,1	1	1646,7*	21,7
Взаимодействие факторов	22	2172*	9,1	22	1653,9*	21,8
Остаточная изменчивость	64	2,96*	1,05	64	2,72	0,04
* - $p<0,05$						

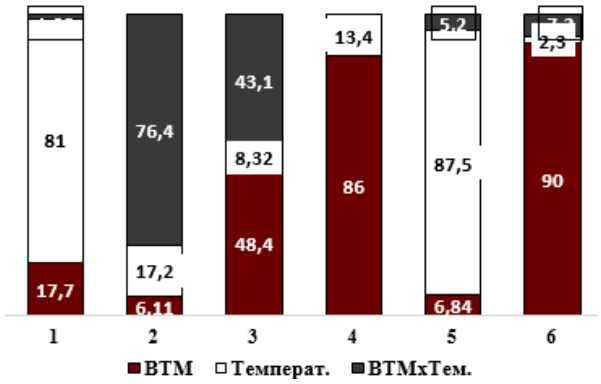
Для выявления факторов, детерминирующих изменчивость функциональных признаков пыльцы проведена обработка полученных результатов методом трехфакторного дисперсионного анализа (табл.). Установлена достоверность влияния генотипа, температуры, вирусов, а также их взаимодействий в вариабельности признаков мужского гаметофита. При этом вклад температуры в общей структуре изменчивости жизнеспособности пыльцы был решающим и составлял 78,1…81,5%, тогда как сила действия остальных факторов, в том числе и генотипа, была значительно более слабой. Анализ вариабельности размеров пыльцевых трубок потомств ВМТ выявил, что изменение их длины на 75,6% определяется температурой и взаимодействием факторов. У потомств ВАТ в изменчивости этого признака сила действия генотипа, температуры и взаимодействия факторов были примерно равными - 19,7…21,8%, тогда как влияние вируса было более сильным - 36,8% (табл.). Таким образом, температура является главным фактором, детерминирующим изменчивость жизнеспособности пыльцы изученных потомств, тогда как вариабельность длины пыльцевых трубок в зависимости от типа вируса в большей степени определяется действием температуры или ВАТ.

Полученные результаты предсталяют обобщенную информацию об источниках изменчивости признаков мужского гаметофита для всех изученных генотипов. Однако, каждый из проанализированных образцов проявляет специфическую реакцию на стресс, информация о которой наиболее интересна и важна для селекционеров. В этой связи нами выявлены источники изменчивости признаков мужского гаметофита индивидуально для каждого образца, и на этой основе охарактеризована чувствительноть генотипа к температуре, при этом, чем выше вклад фактора в структуру изменчивости признака, тем более чувствителен генотип к его действию и наоборот, при меньшей силе действия фактора устойчивость выше. Анализ компонентов спектров изменчивости показал, что температурный фактор вносит решающий вклад в вариабельность жизнеспособности пыльцы большинства потомств ВАТ (Венец, Руфина, Михаела, *S.chilense*. *S.pimpinellifolium),* а также некоторых потомств ВМТ (Венец, Руфина, *S. chilense*. *S.pimpinellifolium),* при этом сила действия фактора варьировала в пределах 52,2…97,2%. Среди изученных генотипов следует выделить сорта М.Гратефулли и Михаела (ВМТ), у которых вклад температуры в изменение жизнеспособности пыльцы составлял 37,4…42,4%, что может свидетельствовать о слабой реакции их пыльцевых зерен на прогревание и относительной стабильности значений признака в этих условиях. Следует отметить, что вариабельность размеров пыльцевых трубок была менее зависимыма от температуры. У 2-х сортов Руфина и Михаела ВМТ/ВАТ варьирование длины ПТ главным образом определялось действием вирусов, у сорта М.Гратефулли основная часть изменчивости этого признака была детерминирована взаимодействием факторов, тогда как у остальных генотипов роль температуры являлась приоритетной. Таким образом, проведенные исследования позволили установить различия и в структуре спектров изменчивости анализируемых признаков и на этой основе охарактеризовать чувствительность каждого генотипа к действию факторов (Рис. 2).

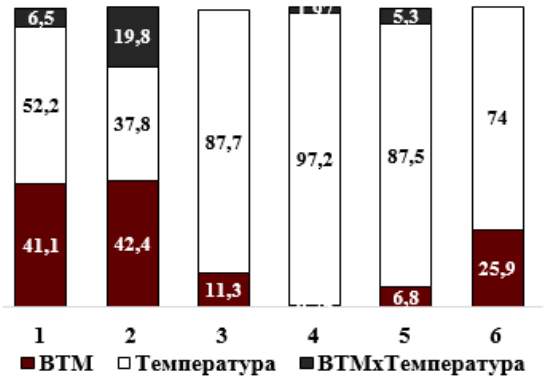
Рис. 2. Структура изменчивости признаков мужского гаметофита потомств вирусинфицированных сортов томата в результате прогревания пыльцы (**1** – Veneţ; **2** – M. Gratefully; **3** – Rufina; **4** – *S.chilenze*; **5** –*S. pimpinilifollium*; **6** – Mihaela).



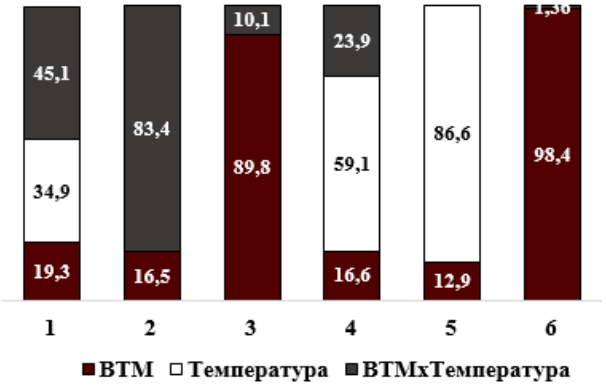
Жизнеспособность пыльцы (потомства ВТМ)



Длина ПТ (потомства ВТМ)



Жизнеспособность пыльцы (потомства ВАТ)

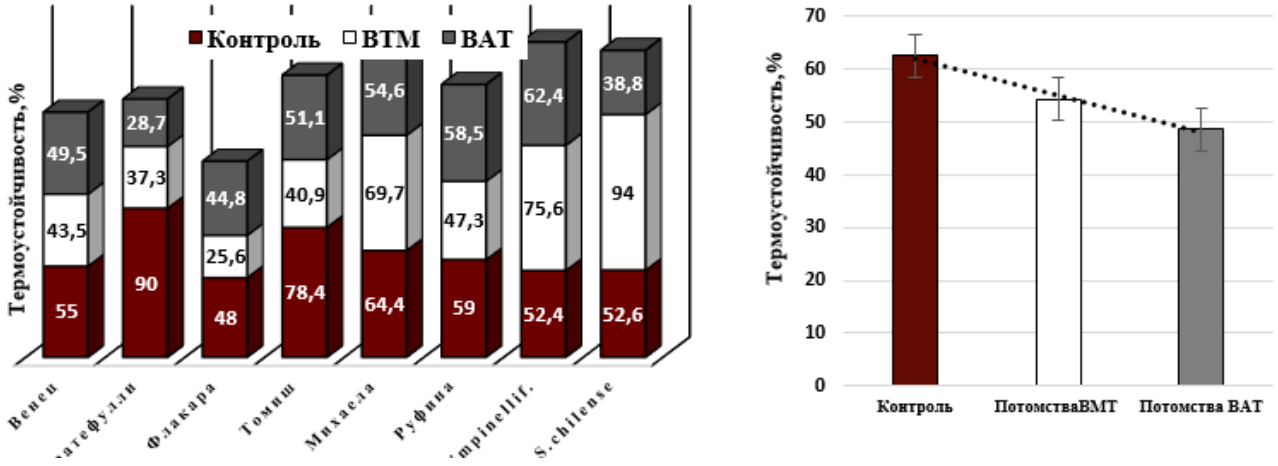


Длина ПТ (потомства ВАТ)

Учитывая то, что около 60% структурных генов, экспрессируемых в пыльце, также активны в спорофите [19, 20], полученные результаты по термочувствительности мужского гаметофита могут быть экстраполированы и на реакцию генотипов на стадии спорофита, а также рекомендовать соответствующие факторы для характеристики реакций генотипов в стрессовых условиях.

Результаты оценки термоустойчивости мужского гаметофита здоровых и потомств вирусоинфицированных растений показали, что в среднем наиболее высокий уровень значений этого признака отмечен у контрольных растений - 62,5±2,24 %, тогда как у потомств ВМТ/ВАТ уровень термоустойчивости был ниже на 8,3 и 13,9 % соответственно (рис.3 А, Б). Следует отметить, что между контрольными и опытными вариантами также были установлены различия и по устойчивости пыльцевых трубок, при этом у потомств ВМТ/ВАТ, как и в случае жизнеспособности пыльцы, наблюдали уменьшение значений признака по сравнению с контролем на 32,9 и 28,4 % соответственно, что, вероятно, может определяться снижением темпов роста ПТ этих генотипов после прогревания пыльцевых зерен.

Рис. 3. Термоустойчивость пыльцы генотипов томата.



А Б

В результате проведенной оценки в составе контрольных, а также потомств вирусоинфицировнных растений были выделены генотипы, обладающие наиболее высоким уровнем термоустойчивости мужского гаметофита (рис. 4). Обобщая полученные данные, следет выделить сорта Михаела, Руфина, а также дикий вид *S. pimpinellifolium*, у которых уровень термоустойчивости пыльцы был высоким как в составе контрольных популяций, так и у потомств ВТМ/ВАТ.

Таким образом, как показали полученные результаты, устойчивые и неустойчивые к стрессу пыльцевые зерна изученных генотипов различаются амплитудой вызванных стрессом отклонений, при этом устойчивые генотипы по отношению к контролю характеризуются меньшим диапозоном изменчивости анализируемых признаков. Следует отметить, что на стадии спорофта у многих культур также выявлены аналогичные изменения [23].

Рис. 4. Генотипы томата с высоким уровнем термоустойчивости мужского гаметофита.

Таким образом, уровень термоустойчивости мужского гаметофита контрольных популяций был выше по сравнению с вирусинфицированными потомствами, что, вероятно, связано с более высокой чувствительностью этих генотипов.

Выводы

- Действие повышенной температуры на мужской гаметофит у потомств BTM/BAT вызывает специфические изменения функциональных признаков, которые в большей степени контролируются температурой - 78,1…81,5% (для жизнеспособности пыльцы), тогда как варьирование размеров ПТ на 75,6% детерминировано температурой и взаимодействием факторов.
- Анализ структуры спектров вариабельности признаков мужского гаметофита индивиуально для каждого генотипа выявил наличие существенных различий по их чувствительности к действию факторов, вызывающих изменчивость, что в итоге позволяет охарактеризовать реакцию на стресс, провести на группировку генотипов и использовать полученные данные для прогноза реакций спорофита.
- У потомств BTM/BAT средний уровень термоустойчивости пыльцы и пыльцевых трубок был ниже показателей контроля на 8,3…13,9% и 32,9…28,4% соответственно.
- Мужской гаметофит здоровых растений и вирусинфицированных потомств сортов Михаела, Руфина и S. pimpinellifolium сочетал высокий уровень термоустойчивости пыльцы и пыльцевых трубок, что предполагает перспективу их использования в дальнейших исследованиях.

Библиография:

1. KELLY, E Z., MERAL T., JEFFREY F. H. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. In: *Journal of Experimental Botany,* 2010, Vol. 61, Issue 7, p. 1959–1968. ISSN 00220957
2. KAKANI, V., REDDY, K., KOTI, S. et al. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. In: *Annals of Botany*, 2005, vol. 96 p. 59-67. ISSN 0305-7364.
3. SALEM, M., KAKANI, V., KOTI, S., REDDY, K. Pollen-based screening of soybean genotypes for high temperatures. In: *Crop Science*, 2007, vol. 47 p. 219-231. ISSN 1435-0653.
4. BOTS, M., MARIANI, C. Pollen viability in the field. In*: Universitet Nijmegen*, 2005, p. 2–52.
5. PRESSMAN, E., PEET, M., PHARR, M. The effect of heat stress on tomato pollen characteristics is associated with changes in carbohydrate concentration in the developing. In: *Ann bot.* 2002, 90(5): p.631–636. DOI: 10.1093/aob/mcf240.
6. FIRON, N., NEPI, M., PACINI, E. Water status and associated processes mark critical stages in pollen development and functioning. In: *Annals of botany,* 2012, vol. 109, 7, p. 1204-1214. DOI:10.1093/aob/mcs070. ISNN 0305-7364.
7. SITA, K., SEHGAL, A., JITENDRA K.J. et al. Identification of High-Temperature Tolerant Lentil *(Lens culinaris Medik.)* Genotypes through Leaf and Pollen Traits Front. In: *Plant Sci*., 2017. DOI: https://doi.org/10.3389/fpls. 2017.00744.
8. THUY, T., LEE, C.-K., JEONG, J. et al. Impact of heat stress on pollen fertility rate at the Flowering stage in korean rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. In: *Korean jornal of crop science*, 65(1) p.22-29 . https://doi.org/10.7740/KJCS. 2020.65.1.022. ISNN 0252-9777.
9. ZINN, K. E., TUNC-OZDEMIR, M., HARPER, J. F. Temperature stress and plant sexual reproduction: Uncovering the weakest links. In: *Journal of Experimental Botany, 61*, 2010, p.b1959–1968. ISSN 0022-0957.
10. PAUPIÈRE, M., HAPEREN, P., RIEU, I. *et al.* Screening for pollen tolerance to high temperatures in tomato. In: *Euphytica* 213, 130 (2017). DOI: https://doi.org/10.1007/s10681-017-1927- z. ISSN 1573-5060.
11. SATO, S., PEET, M., THOMAS, J. Physiological factors limit fruit set of tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) under chronic, mild heat stress. In: *Plant Cell Environ. 2000, 23, p. 719–726*. ISSN 1365-3040.
12. YAN, C., DING, Y., WANG, Q. et al. The impact of relative humidity, genotypes and fertilizer application rates on panicle, leaf temperature, fertility and seed setting of rice. *In: J. Agric. Sci. 2010, 148,* p. 329–339. ISSN 0021-8596.
13. XU, J., WOLTERS-ART, M., MARIANI, C. et al. Heat stress affects vegetative and reproductive performance and trait correlations in tomato (Solanum lycopersicum). In*: Euphytica 2017, 213, 1–12.* 1573-5060.

14. AYENAN, M., DANQUAH, A., HANSON, P. et al. Accelerating Breeding for Heat Tolerance in Tomato (*S.lycopersicum* L.). In: *Agronomy*. 2019, *9*, p. 720. ISSN 2073-4395. DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy9110720.
15. SINGH, A., RAVIKUMAR, RL, ANTRE SH, et al. Consequence of cyclic pollen selection for heat tolerance on the performance of different generations in maize (*Zea mays* L.). In: *J Genet.* 2022, 101:33. PMID: 35975817.
16. LI, J., LIN, X., CHEN, A., et al. (2013). Global priority conservation areas in the face of 21st century climate change. In: *PLoS ONE* 8:e54839. DOI: 10.1371/journal.pone.0054839.
17. AMARI, K., HUANG, C., HEINLEIN, M. Potential impact of global warming on virus propagation in infected plants and agricultural productivity. In: *Front. Plant Sci. 2021, 12, 649768*. DOI: 10.3389/fpls.2021.649768
18. MULCAHY, D. Gametophytic gene expression. In: Blonstein AD, King PJ, editors. A Genetic Approach to Plant Biochemistry. In: *Plant Gene Research (Basic Knowledge and Application)*. Vienna: Springer; 1986. pp. 247-258. ISBN 978-3-7091-7463-0.
19. OTTAVIANO, E., MULCAHY, D. Genetics of angiosperm pollen. In: *Advances in Genetics. 1989;26, p.1-64.*
20. ГОНЧАРЕНКО, А. Сравнительная оценка адаптивного потенциала сортов зерновых культур и задачи селекции селекция растений: прошлое, настоящее и будущее. Сб. материалов конф., посв. 140-летию НИУ «БелГУ». 2016, p. 41-451.
21. ГОНЧАРОВА, Э. Изучение устойчивости и адаптации культурных растений к абиотическим стрессам на базе мировой коллекции генетических ресурсов. Санкт-Петербург, 2011, 336 с. ISBN 978-5-905064-10-4.
22. САЛТАНОВИЧ Т. И., АНДРОНИК Л. И., АНТОЧ Л. П., ДОНЧИЛЭ А. Н. Морфофункциональные признаки мужского гаметофита томата в условиях вирусного патогенеза. Овощи России N2, 2021, 16-21. DOI: https://doi.org/10.18619/2072-9146-2021-2-16-21. ISSN 2072-9146 (Print) ISSN 2618-7132.

Информация об авторах:
***Татьяна САЛТАНОВИЧ*,** доктор биологических наук, конференциар, ведущий научный сотрудник, Институт генетики, физиологии и защиты растений, Государственный Университет Молдовы.
E-mail*:* tatiana.saltanovici@igfpp.md
Tel. 069478325
ORCID: 0000-0002-1122-7433

***Лариса АНДРОНИК*,** доктор хабилитат биологических наук, конференциар, директор Института, Институт генетики, физиологии и защиты растений, Государственный Университет Молдовы.
E-mail: larisa.andronic@igfpp.md
ORCID: 0000-0002-2761-9917

***Людмила АНТОЧ*,** научный сотрудник
Институт генетики, физиологии и защиты растений, Государственный Университет Молдовы.
E-mail*:*ludmila.antoci@igfpp.md

***АНА БУЛДУМАК*,** младший научный сотрудник
Институт генетики, физиологии и защиты растений, Государственный Университет Молдовы.
E-mail: ana.doncila@igfpp.md
ORCID: 0000-0002-9674-0403

Исследования проведены в рамках проекта Государственной Программы 20.80009.7007.04, финансируемой Национальным Агентством по Исследованиям и Развитию.

Представлено 23.03.2023

CZU: 633.88(478)

DIVERSITATEA TAXONOMICĂ A COLECȚIEI DE PLANTE MEDICINALE DIN GRĂDINA BOTANICĂ NAȚIONALĂ (INSTITUT) „AL. CIUBOTARU”

Nina CIOCÂRLAN

Grădina Botanică Națională (Institut) ,,Al. Ciubotaru”, Republica Moldova

Lucrarea prezintă date noi despre starea actuală a Colecției de Plante Medicinale din Grădina Botanică Națională (Institut) ,,Al. Ciubotaru”, dinamica de creștere a numărului de taxoni în decursul ultimului deceniu, căile de mobilizare şi menținere a genofondului. Sunt prezentate rezultatele inventarierii și componența taxonomică a colecției de plante medicinale. Actualmente colecția de plante medicinale însumează 367 taxoni, încadrați în 3 filumuri, 5 clase, 66 familii şi 184 genuri. În perioada 2013-2022 colecția a fost completată cu 82 taxoni obținuți prin schimbul internațional de semințe (*Index Seminum*), precum și din flora spontană locală.

Cuvinte-cheie: *plante medicinale, colecţii ex-situ, mobilizare, componență taxonomică.*

TAXONOMIC DIVERSITY OF MEDICINAL PLANT COLLECTION FROM NATIONAL BOTANICAL GARDEN (INSTITUTE) „AL. CIUBOTARU”

The article presents new data on the current state of the Collection of Medicinal Plants from the National Botanical Garden (Institute) ,,Al. Ciubotaru”, the dynamics of taxa increase over the last decade, ways to raise and maintain the gene pool. The taxonomic diversity of medicinal plant existing currently in the collection is given. Recent taxonomic inventory of medicinal plants collection led to identification of 367 taxa, belonging to 3 phylums, 5 classes, 66 botanical families and 184 genera. During the period 2013-2022 the collection was enriched with 82 taxa obtained through the international exchange of seeds (*Index Seminum*), as well as from the local spontaneous flora.

Keywords: *medicinal plants, ex-situ collection, mobilization, taxonomic diversity.*

Introducere

Plantele au fost folosite din cele mai vechi timpuri pentru vindecarea bolilor și pentru îmbunătățirea sănătății și bunăstării umane. Se raportează, că în prezent, mai mult de 80% din populația lumii se bazează în continuare pe plantele medicinale ca sursă de remedii ale medicinii populare [1]. În ultimii ani, în întreaga lume există un interes reînnoit în utilizarea plantelor medicinale pentru tratarea diverselor maladii, ca alimente, condimente, precum și în industria de parfumuri și cosmetică. Substanțele biologic active izolate din plante au aplicații extinse fiind folosite ca și conservanți alimentari, coloranți, îndulcitori etc. [2, 3]. Compușii naturali izolați din plante joacă, de asemenea, un rol important ca sursă de materie primă în descoperirea și producerea produselor farmaceutice moderne [4, 5]. La nivel global, se estimează că 60.000 de specii sunt folosite pentru proprietățile lor medicinale, aromatice și nutritive și în fiecare an sunt comercializate peste 500.000 de tone de materie primă de plante medicinale [6]. În acest context, odată cu scăderea numărului de plante la nivel mondial din cauza crizei ecologice dezlănțuite în ultimii ani, schimbărilor climatice și a exploatării iraționale, multe plante medicinale devin rare sau sunt pe cale de dispariție.

Grădinile botanice din întreaga lume joacă un rol crucial în conservarea, cultivarea și utilizarea speciilor de plante, implicând activități de cercetare legate de ecologie, taxonomie, sistematică, biotehnologie etc. [7, 8]. Un loc aparte în grădinile botanice îl ocupă colecțiile de plante medicinale care au un rol semnificativ în conservarea, cercetarea și valorificarea speciilor de plante utilizate în scop terapeutic și alimentar. Crearea

și dezvoltarea colecţiilor de plante medicinale, extinderea și îmbogățirea lor se impune ca o necesitate în contextul misiunii care revine grădinilor botanice, în procesul de conservare *ex situ* al plantelor. În prezent, în peste 480 Grădini Botanice din lume sunt înregistrate colecții de plante medicinale fiind axate în primul rând pe conservare, cultivare, cercetare și activități educaționale [9]. Existența acestor sectoare în cadrul grădinilor botanice este necesară, în primul rând, datorită importanței științifice şi economice a speciilor de plante medicinale, dar şi datorită faptului că toate grădinile botanice dintotdeauna au găzduit asemenea sectoare, fiind una dintre sarcinile lor primordiale. Grădinile botanice și colecțiile de plante medicinale sunt, de asemenea, implicate activ în organizarea și desfășurarea evenimentelor educaționale pentru elevi, studenți și publicul larg.

Scopul acestui studiu a fost inventarierea și analiza din punct de vedere taxonomic a Colecției de Plante Medicinale din cadrul Grădinii Botanice Naționale (Institut) ,,Al. Ciubotaru" (GBNI) cu prezentarea datelor actualizate privind componența taxonomică a genofondului de plante medicinale și încadrarea sistematică a acestora.

Materiale și metode

Ca bază a acestui studiu a servit Colecția de Plante Medicinale din cadrul GBNI cu genofondul de plante medicinale (inclusiv tinctoriale, adaptogene, edulcorante, toxice). Colecţia este divizată în 12 rânduri a câte 10 parcele fiecare. Mobilizarea resurselor genetice ale plantelor medicinale s-a realizat prin schimbul internațional de semințe (*Index Seminum*) și prin colectarea semințelor și a materialului vegetal din flora spontană. Taxonii sunt distribuiţi în parcele expoziționale după criteriul taxonomic. Cercetările au fost realizate în perioada 2013-2022. Studiile în vederea aclimatizării taxonilor noi s-au efectuat în Sectorul Experimental. Observaţiile fenologice şi măsurările biometrice s-au efectuat anual în decursul întregii perioade de vegetaţie conform lucrărilor metodologice utilizate în prezent [10, 11]. Nomenclatura taxonilor este dată conform lucrărilor floristice contemporane [12-14] și rețele internaționale de date: The Plant List [15], International Plant Names Index (IPNI) [16], Plants of the World Online [17], Plantarium. Plants and lichens of Russia and neighboring countries [18].

Rezultate și Discuții

Colecţia de plante medicinale, începând cu anul 2001 devine parte componentă a Expoziţiei Plante Medicinale şi Aromatice a GBNI. Ca și bază a colecției a servit fondul genetic al plantelor medicinale și aromatice deja existent. La momentul trecerii pe teren nou colecţia număra 92 specii, forme şi varietăţi. În perioada 2003-2012 colecţia s-a îmbogăţit treptat ajungându-se la 320 taxoni, încadraţi în 62 de familii şi 195 genuri [19]. În decursul ultimului deceniu, ca urmare a intensificării activităților de mobilizare a genofondului s-a reușit completarea colecțiilor cu noi specii importante din punct de vedere economic și științific. În aceiași perioadă de tmp, din diverse motive, inclusiv condiții meteorologice nefavorabile, 35 de taxoni au pierit. Actualmente colecția însumează 367 taxoni (specii, subspecii, varietăți, cultivaruri), încadrați în 3 filumuri, 5 clase, 66 familii și 184 genuri. Pteridofitele (Phylum Pteridophyta) sunt reprezentate de 1 specie (*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott) care aparține genului *Dryopteris* Adans., familia Dryopteridaceae Herter, clasa Polypodiopsida. Gimnospermele (Phylum Pinophyta) sunt reprezentate de 2 specii – *Ephedra intermedia* Schrenk et Mey. ce aparține genului *Ephedra* Tourn. ex L., familia Ephedraceae Dumort., clasa Gnetopsida și specia *Taxus baccata* L. (genul *Taxus* L., familia Taxaceae Gray, clasa Pinopsida). Numărul Angiospermelor (Phylumul Magnoliophyta) vădit prevalează și constituie 364 specii aparținând la 180 genuri din 63 familii (56 de familii aparțin clasei Magnoliopsida și 7 specii – clasei Liliopsida). Dintre Angiosperme, clasa Magnoliopsida grupează cel mai mare număr de taxoni (351 de specii, forme și soiuri) comparativ cu clasa Liliopsida cu 13 specii. Raportat la numărul total de plante medicinale existente în colecție, pteridofitele și gimnospermele reprezintă 0,3% și respectiv 0,6%; 99,1% sunt reprezentate de angiosperme. Speciile alohtone reprezintă 65% din numărul total de specii medicinale, 35% revin speciilor ce provin din flora spontană (Fig. 1). Predomină plantele erbacee perene, speciile anuale și bienale constituind 12% din numărul total de plante existente în colecție (Fig. 2).

În continuare este prezentată diversitatea taxonomică a Colecției de Plante Medicinale din cadrul Grădinii Botanice Naționale (Institut) ,,Al. Ciubotaru".

Fig. 1. Ponderea speciilor alohtone şi spontane.

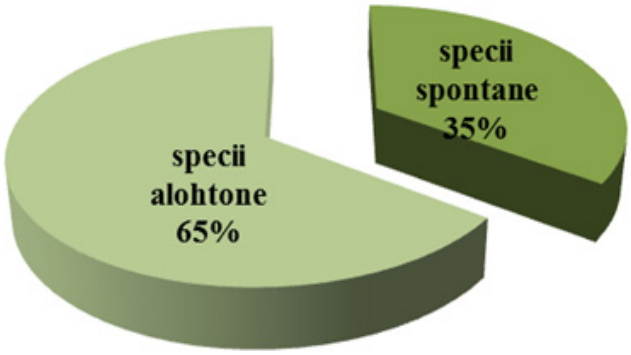
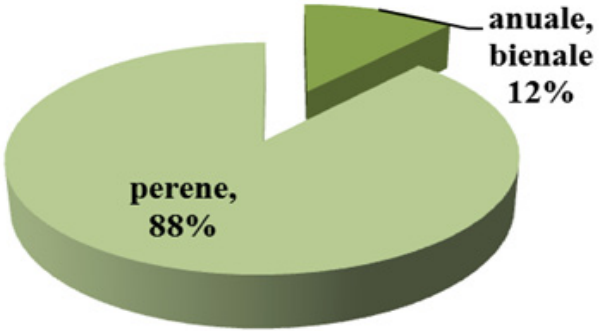


Fig. 2. Ponderea speciilor medicinale în conformitate cu ciclul biologic.

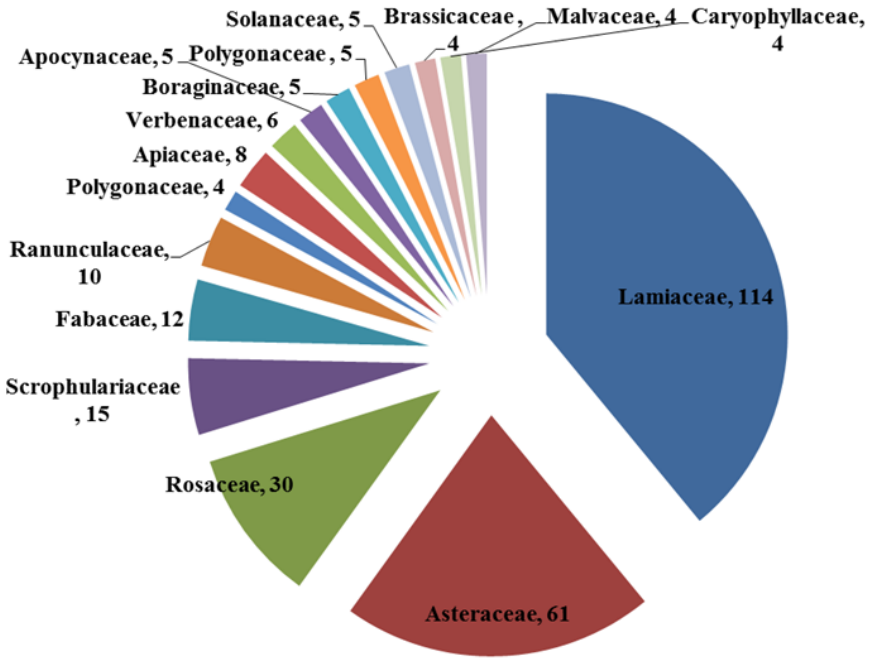


Phylum Pteridophyta
Clasa Polypodiopsida
1. Dryopteridaceae Herter (1 gen, 1 specie): *Dryopteris* – 1.
Phylum Pinophyta
Clasa Gnetopsida
2. Ephedraceae Dumort. (1 gen, 1 specie): *Ephedra* – 1.
Clasa Pinopsida
3. Taxaceae Gray (1 gen, 1 specie): *Taxus* – 1.
Phylum Magnoliophyta
Clasa Magnoliopsida (Dicotiledones)
4. Acanthaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Acanthus* – 1.
5. Actinidiaceae Engl. & Gilg (1 gen, 1 specie): *Actinidia* – 1.
6. Amaranthaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Aerva* – 1.
7. Apiaceae Lindl. (6 genuri, 8 taxoni): *Ammi* – 2, *Coriandrum* – 1, *Foeniculum* – 2, *Ferula* – 1, *Pastinaca* – 1, *Levisticum* – 1.
8. Apocynaceae Juss. (2 genuri, 5 specii): *Vinca* – 2, *Asclepias* – 3.
9. Araliaceae Juss. (2 genuri, 3 specii): *Aralia* – 1, *Eleuterococcus* – 2.
10. Aristolochiaceae Juss. (2 genuri, 2 specii): *Asarum* – 1, *Aristolochia* – 1.
11. Asteraceae Dumort. (28 genuri, 61 taxoni): *Achillea* – 8, *Ageratina* – 1, *Artemisia* – 10, *Bidens* – 1, *Calendula* – 1, *Chamaemelum* – 1, *Centaurea* – 2, *Chrysanthemum* – 2, *Cichorium* – 1, *Cnicus* – 1, *Coreopsis* – 1, *Cynara* – 1, *Echinacea* – 4, *Echinops* – 2, *Grindelia* – 1, *Helianthus* – 1, *Helenium* – 2, *Helychrisum* – 3, *Inula* – 2, *Matricaria* – 2, *Pilosella* – 1, *Polymnia* – 1, *Pyrethrum* – 1, *Scorzonera* – 1, *Silybum* – 1, *Solidago* – 2, *Stevia* – 1, *Tanacetum* – 6.
12. Basellaceae Raf. (1 gen, 2 specii): *Basella* – 2.
13. Berberidaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Berberis* – 1.
14. Boraginaceae Juss. (4 genuri, 5 specii): *Cynoglossum* – 1, *Pulmonaria* – 1, *Symphytum* – 1, *Lithospermum* – 2.
15. Brassicaceae Burn. (4 genuri, 4 specii): *Armoracia* – 1, *Crambe* – 1, *Isatis* – 1, *Sinapis* – 1.
16. Campanulaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Platicodon* – 1.
17. Cannabaceae Martinov (1 gen, 1 specie): *Humulus* – 1.
18. Caprifoliaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Lonicera* – 1.
19. Caryophyllaceae Juss. (3 genuri, 4 specii): *Gypsophila* – 1, *Saponaria* – 2, *Herniaria* – 1.
20. Chenopodiaceae Vent. (2 genuri, 3 specii): *Beta* – 1, *Chenopodium* – 2.
21. Convolvulaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Convolvulus* – 1.
22. Cornaceae Bercht. & J.Presl (1 gen, 1 specie): *Cornus* – 1.
23. Cucurbitaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Bryonia* – 1.
24. Dioscoreaceae R.Br. (1 gen, 1 specie): *Dioscorea* – 1.
25. Dipsacaceae Juss. (1 gen, 2 specii): *Cephalaria* – 2.

26. Elaeagnaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Hippophaë* – 1.
27. Euphorbiaceae Juss. (2 genuri, 2 specii): *Ricinus* – 1, *Securinega* – 1.
28. Fabaceae Lindl. (6 genuri, 11 taxoni): *Astragalus* – 3, *Cassia* – 1, *Desmodium* – 1, *Galega* – 1, *Glycyrrhiza* – 3, *Ononis* – 2).
29. Hypericaceae Juss. (1 gen, 3 specii): *Hypericum* – 3.
30. Lamiaceae Lindl. (33 genuri, 114 taxoni): *Agastache* – 2, *Ajuga* – 1, *Calamintha* – 1, *Clinopodium* – 3, *Dracocephalum* – 1, *Elscholtzia* – 1, *Horminum* – 1, *Hyssopus* – 5, *Lamium* – 1, *Lavandula* – 5, *Leonotis* – 1, *Leonurus* – 4, *Micromeria* – 1, *Melissa* – 2, *Mentha* – 8, *Monardella* – 1, *Nepeta* – 7, *Ocimum* – 1, *Origanum* – 6, *Perilla* – 2, *Phlomis* – 2, *Phlomoides* – 1, *Physostegia* – 1, *Prunella* – 1, *Pycnanthemum* – 2, *Rosmarinus* – 2, *Salvia* – 13, *Satureja* – 5, *Scutellaria* – 9, *Sideritis* – 3, *Stachys* – 2, *Teucrium* – 9, *Thymus* – 10.
31. Linaceae S. F. Gray (1 gen, 1 specie): *Linum* – 1.
32. Lythraceae J.St.-Hil. (1 gen, 1 specie): *Lythrum* – 1.
33. Malvaceae Juss. (3 genuri, 4 specii): *Althaea* – 2, *Alcea* – 1, *Malva* – 1.
34. Menispermaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Menispermum* – 1.
35. Nitrariaceae Lindl. (1 gen, 1 specie): *Peganum* – 1.
36. Onagraceae Juss. (1 gen, 3 specii): *Epilobium* – 1, *Oenothera* – 2.
37. Papaveraceae Juss. (3 genuri, 3 specii): *Chelidonium* – 1, *Glaucium* – 1, *Macleaya* – 1.
38. Pedaliaceae R.Br. (1 gen, 1 specie): *Sesamum* – 1.
39. Phytolaccaceae R. Br. (1 gen, 2 specii): *Phytolacca* – 2.
40. Plantaginaceae Juss. (1 gen, 3 specii): *Plantago* – 3.
41. Polemoniaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Polemonium* – 1.
42. Polygonaceae Juss. (2 genuri, 5 specii): *Rheum* – 2, *Rumex* – 3.
43. Primulaceae Batsch ex Borkh. (2 genuri, 3 specii): *Primula* – 1, *Lyzimachia* – 2.
44. Ranunculaceae Juss. (8 genuri, 10 specii): *Aconitum* – 1, *Aquilegia* – 1, *Adonis* – 2, *Clematis* – 1, *Helleborus* – 2, *Hepatica* – 1, *Thalictrum* – 1, *Trollius* – 1.
45. Rhamnaceae Juss. (1 gen, 1 species): *Zizyphus* – 1.
46. Rosaceae Juss. (13 genuri, 30 taxoni): *Agrimonia* – 1, *Alchemilla* – 3, *Chaenomeles* – 1, *Dasiphora* – 1, *Filipendula* – 1, *Fragaria* – 1, *Geum* – 5, *Mespilus* – 1, *Potentilla* – 9, *Poterium* – 1, *Rosa* – 2, *Rubus* – 1, *Sanguisorba* – 3.
47. Rubiaceae Juss. (2 genuri, 2 specii): *Galium* – 1, *Rubia* – 1.
48. Rutaceae Juss. (1 gen, 2 specii): *Ruta* – 2.
49. Sambucaceae Batsch ex Borkh (1 gen, 1 specie): *Sambucus* – 1.
50. Saxifragaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Bergenia* – 1.
51. Schizandraceae Blume (1 gen, 1 specie): *Schizandra* – 1.
52. Scrophulariaceae Juss. (3 genuri, 10 specii): *Digitalis* – 9, *Scrophularia* – 3, *Veronica* – 3.
53. Solanaceae Juss. (4 genuri, 5 taxoni): *Atropa* – 1, *Scopolia* – 1, *Physalis* – 2, *Lycium* – 1.
54. Tiliaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Tilia* – 1.
55. Urticaceae Juss. (2 genuri, 2 specii): *Urtica* – 1, *Parietaria* – 1.
56. Valerianaceae Batsch (1 gen, 2 specii): *Valeriana* – 2.
57. Verbenaceae St.-Hil. (2 genuri, 6 specii): *Verbena* – 2, *Vitex* – 4.
58. Viburnaceae Rafin. (1 gen, 1 specie): *Viburnum* – 1.
59. Zygophyllaceae R.Br. (1 gen, 1 specie): *Tribulus* – 1.
Clasa Liliopsida (Monocotyledones)
60. Acoraceae Martinov (1 gen, 1 specie): *Acorus* – 1.
61. Alliaceae J. G. Agardh. (1 gen, 4 specii): *Allium* – 4.
62. Amaryllidaceae J.St.-Hil. (2 genuri, 3 specii): *Galanthus* – 2, *Leucojum* – 1.
63. Asparagaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Asparagus* – 1.
64. Convallariaceae Horaninow (2 genuri, 2 specii): *Convallaria* – 1, *Polygonatum* – 1.
65. Cyperaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Cyperus* – 1.
66. Liliaceae Juss. (1 gen, 1 specie): *Lilium* – 1.

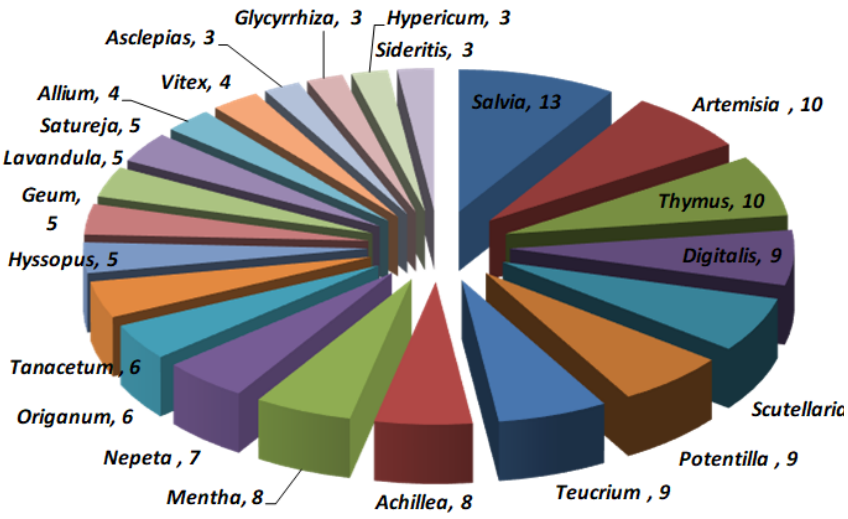
Cele mai reprezentative familii din punct de vedere numeric sunt: Lamiaceae Lindl. (33 genuri, 114 taxoni), Asteraceae Dumort. (28 genuri, 61 taxoni), Rosaceae Juss. (13 genuri, 30 taxoni), Scrophulariaceae Juss. (3 genuri, 15 taxoni), Fabaceae Lindl. (7 genuri, 12 taxoni), Ranunculaceae Juss. (8 genuri, 10 taxoni), Apiaceae Lindl. (6 genuri, 8 taxoni). Urmează familia Verbenaceae St.-Hil. cu 6 specii, iar familiile Apocynaceae Juss., Boraginaceae Juss., Polygonaceae Juss. şi Solanaceae Juss. includ fiecare câte 5 taxoni (Fig. 3).

Fig. 3. Cele mai reprezentative familii din punct de vedere numeric.



Familiile Brassicaceae Burn., Caryophyllaceae Juss. şi Malvaceae Juss. (cu câte 4 specii) sunt urmate de 8 familii (Amaryllidaceae J.St.-Hil., Araliaceae Juss., Chenopodiaceae Vent., Hypericaceae Juss., Onagraceae Juss., Papaveraceae Juss., Plantaginaceae Juss., Primulaceae Batsch ex Borkh.) reprezentate fiecare de câte 3 taxoni. Zece familii botanice deţin câte 2 specii, altele treizeci şi două sunt reprezentate de o singură specie.

Cercetările de introducere pe termen lung au făcut posibilă crearea complexelor generice şi realizarea studiilor comparative, complexe şi interdisciplinare (biologice, fitochimice, agronomice) în vederea evidenţierii speciilor de perspectivă pentru economia naţională. Astfel, genurile cu cel mai mare număr de specii în ordine descrescătoare sunt următoarele: *Salvia* (cu 13 taxoni), *Artemisia* L. (10), *Thymus* L. (10), *Digitalis* Tourn. ex L. (9), *Scutellaria* L. (9), *Potentilla* L. (9), *Teucrium* L. (9), *Achillea* L. (8), *Mentha* L. (8), *Nepeta* L. (7), *Origanum* L. (6), *Tanacetum* L. (6), *Hyssopus* L. (5), *Geum* L. (5), *Lavandula* L. (5), *Satureja* L. (5), *Allium* L. şi *Vitex* L. (cu câte 4 specii) (Fig. 4).



Pentru fiecare specie este indicată poziția sistematică cu informația care include regnul, filumul, clasa, ordinul, familia, subfamilia, genul, denumirea științifică și sinonimele. Fișele cu încadrarea sistematică a speciilor sunt însoțite de fotografii originale, realizate în colecția de Plante Medicinale și terenurile experimentale, în decursul perioadei de vegetație (pe exemplul speciei *Echinacea purpurea* (Tab. 1).

Tabelul 1. Poziția sistematică a speciilor (ex. *Echinacea purpurea*).

Regn:	Plantae
Filum:	Angiospermae
Clasa:	Magnoliopsida (Dicotyledones)
Ordinul:	Asterales
Familia:	Asteraceae Dumort
Subfamilia:	Asteroideae
Genul:	Echinacea Moench
Specia:	Echinacea purpurea (L.) Moench
Sinonime:	Brauneria purpurea (L.) Britton Helichroa purpurea (L.) Raf. Lepachys purpurea (L.) Raf. Rudbeckia purpurea L.

Introducerea plantelor prin metoda complexelor generice a făcut posibilă studierea unui număr maxim de specii și taxoni intraspecifici. Astfel, colecțiile genurilor ***Teucrium* L.** (*T. hircanicum* L., *T. nuchense* K. Koch, *Teucrium chamaedrys* L., *Teucrium polium* L., *T. botrys* L., *T. flavum* L., *T. lucidum* L., *T. orientale* L., *T. scorodonia* L.), ***Scutellaria* L.** (*S. albida* L., *S. albida* ssp. *colchica* (Rech.) J.R.Edm, *S. alpina* L., *S. altissima* L., *S. baicalensis* Georgi, *S. incana* Biehler, *S. orientalis* L., *S. supina* L., *S. rubicunda* Hornem.), ***Artemisia* L.** (*A. abrotanum* L., *A. absinthium* L., *A. annua* L., *A. balchanorum* Krasch., *A. dracunculus* L., *A. lerchiana* Weber, *A. pontica* L., *A. taurica* Willd., *Artemisia genipi* Weber ex Stechm., *A. vulgaris* L.), ***Digitalis* Tourn. ex L.** (*D. lanata* Ehrh., *D. grandiflora* Mill., *D. purpurea* L., *D. ferruginea* L., *D. lutea* L., *Digitalis ciliata* Trautv., *D. micrantha* Roth ex Schweigg., *D. laevigata* Waldst. ex Kit.), ***Thymus* L.** (*Th. citriodorus* Schreb., *Th. citriodorus* Schreb. ‚*Aureus*', *Th. elipticus* Opiz, *Th. marschallianus* Willd., *Th. marschallianus* Willd. ‚*Alba*', *Th. vulgaris* L., *Th. vulgaris* L. ‚*Faustinii*', *Th. serpyllum* L., *Th. comosus* Heuff. ex Griseb. & Schenk, *Th. moldavicus* Klok. et Schost.) au constituit, în ultimii ani, obiecte de studiu sub diverse aspecte: cercetări vizând biologia plantelor, particularitățile decurgerii ciclului ontogenetic, ritmul de creștere şi dezvoltare, mecanismul de adaptare în condiții noi, profilul chimic, strategiile de conservare [20-22]. Astfel, genofondul de plante medicinale existent în colecții servește ca bază pentru cercetări de introducere în vederea îmbogățirii sortimentului de plante medicinale cu potențial de valorificare în diverse ramuri ale economiei naționale. Programul de cercetare urmărește, de asemenea, identificarea și studierea speciilor medicinale rare și în pericol de dispariție în vederea multiplicării, conservării și reintroducerii lor în ecosistemele naturale.

Concluzii

Inventarul taxonomic recent al colecției de plante medicinale a condus la identificarea a 367 taxoni, aparținând la 3 filumuri, 5 clase, 66 familii și 184 genuri.

Cele mai reprezentative familii din punct de vedere numeric sunt: Lamiaceae (33 genuri, 114 taxoni), Asteraceae (28 genuri, 61 taxoni), Rosaceae (13 genuri, 28 taxoni), Fabaceae (6 genuri, 11 taxoni), Ranunculaceae (8 genuri, 10 taxoni), Scrophulariaceae (3 genuri, 10 taxoni). Genurile cu numărul cel mai mare de taxoni sunt: *Salvia* (13), *Artemisia* (10), *Thymus* (10), *Digitalis* (9), *Scutellaria* (9), *Potentilla* (9), *Teucrium* (9), *Achillea* (8), *Mentha* (8). În decursul ultimului deceniu (2013-2022), colecția a fost completată cu 82 taxoni obținuți prin intermediul schimbului internațional de semințe

(*Index Seminum*) cu peste 50 de Grădini Botanice și alte instituții științifice de profil din străinătate, precum și din flora spontană locală.

Referințe:

1. FITZGERALD, M., HEINRICH, M., BOOKER, A. Medicinal plant analysis: A historical and regional discussion of emergent complex techniques. In: *Front Pharmacol*. 2019, nr. 10, p. 1480.
2. SARKIC, A., STAPPEN, I. Essential oils and their single compounds in cosmetics – a critical review. In: *Cosmetics,* 2018, nr. 5, p. 11.
3. VOON, H.C., BHAT, R., RUSUL, G. Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications. In: *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2012, nr. 11, p. 34-55.
4. ATANASOV, A. G, WALTENBERGER, B., PFERSCHY-WENZIG, E.M. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. In: *Biotechnol Adv,.* 2015, vol. 33, p. 1582–1614.
5. NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. In: *J Nat Prod*, 2020, nr. 83, p. 770-803.
6. *World Health Organization (WHO). Connecting global priorities: biodiversity and human health: a state of knowledge review,* 2015. ISBN 978 92 4 150853 7.
7. CHEN, G., SUN, W. The role of botanical gardens in scientific research, conservation, and citizen science. In: *Plant Diversity*, 2018. nr. 40, p. 181-188.
8. HEYWOOD, V. H. The future of plant conservation and the role of botanic gardens. In: *Plant Divers,* 2017, nr. 39, p. 309-313.
9. HAWKINS, B. *Plants for Life: Medicinal plant conservation and Botanic Gardens***.** *Botanic Gardens Conservation International*. Richmond U. K., 2008, p. 1- 48. ISBN 1-905164-21-1.
10. МАЙСУРАДЗЕ, Н. И., ЧЕРКАСОВ, О. А., ТИХОНОВА, В. Л. Методика исследований при интродукции лекарственных растений. ЦБНТИ. *Сер. Лекарств. раст.,* 1984, nr. 3, 33 стр.
11. РУСАНОВ, Ф. Н. Метод родовых комплексов в интродукции растений и его дальнейшее развитие. Бюл. ГБС АН СССР. 1971. вып. 81, с. 15-20.
12. NEGRU, A. *Determinator de plante din flora Republicii Moldova.* Chișinău: Universul, 2007, 391 p.
13. *Flora Basarabiei: (Plantele superioare spontane):* în 6 volume / A. Negru, Valentina Cantemir, V. Ghendov et al.; sub redacția Andrei Negru. Chișinău: Universul, 2022. ISBN 978-9975-47-057-5.
14. CIOCÂRLAN V. *Flora ilustrată a României. Pteridophyta et Spermatophyta.* Bucureşti: Edit. Ceres, 2009, 1141 p.
15. *The Plant List. Version 1.1.* Published on the Internet ©2013 [accessed 15 February 2023], http://www.theplantlist.org/
16. *International Plant Names Index.* Published on the Internet ©2023 [accessed 18 February 2023], http://www.ipni.org.
17. *Plants of the World Online.* Papadakis Publisher, © 2019 [accessed on 18 February 2023], http://www.plantsoftheworldonline.org /
18. *Plantarium. Plants and lichens of Russia and neighbouring countries: open online galleries and plant identification guide.* Published on the Internet ©2007-2023 [accessed on 18 February 2023], https://www.plantarium.ru/lang/en.html
19. CIOCARLAN, N. Taxonomic diversity of medicinal plants collection from Botanical Garden (Institute) of ASM. In: *Journal of Botany*, 2015, vol. VII, nr. 2(11), p. 85-90. ISSN1857-2367.
20. APROTOSOAIE, A.C., MIRON, A, CIOCARLAN, N. et. al. Essential oils of Moldavian *Thymus* species: Chemical composition, antioxidant, anti-Aspergillus and antigenotoxic activities. In: *Flavour and Fragrance Journal*, 2019, nr. 3(34), p. 175-186.
21. CIOCARLAN, N., CIOCARLAN, A. DRAGALIN, I. et al. GC-MS and Neutron Activation Analysis of Medicinal *Teucrium* L. Species. In: *Progress of Cryogenics and Isotopes Separation*, 2019, nr. 22(1), p. 55-61.

22. CIOCARLAN, N. et. al. *Medicinal Artemisia* L. *species (A. annua, A. absinthium and A. lerchiana) in Republic of Moldova.* Chisinau: Mediul Ambiant, 2017, 144 p. ISBN 978-9975-53-798-8.

Date despre autor:
Nina CIOCÂRLAN, doctor în biologie, cercetător științific coordonator, Grădina Botanică Națională (Institut) „Al. Ciubotaru".
E-mail: n_ciocarlan@mail.ru
ORCID: 0000-0002-9477-5848

Notă: *Investigațiile au fost realizate în cadrul Programului de Stat 20.80009.7007.12. ,,Cercetarea și conservarea florei vasculare și macromicobiotei Republicii Moldova".*

Prezentat la 27.02.2023

CZU: 582.929

ASPECTS OF THE STUDY ON SOME AROMATIC SPECIES OF THE GENUS *AGASTACHE* GRONOV

Maricica COLŢUN, Alina BOGDAN

„Alexandru Ciubotaru” National Botanical Garden (Institute), Chişinău, Republic of Moldova

Elvira GILLE

„Stejarul” Biological Research Center, Piatra Neamţ, Romania

The study has been focused on the field of introduction, conservation and use of aromatic and medicinal plants, which represent inexhaustible sources of raw materials for the pharmaceutical, cosmetic and food industries. The article describes the results of the evaluation of the prospects for the introduction of 4 species of the genus *Agastache* Gronov: *Agastache foeniculum (* Pursh) Kuntze, *Agastache rugosa* (Fisch & C. A Mey.) O. Kuntze, *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze, *Agastache nepetoides* L., species that have not been studied in much detail, but of high therapeutic value. The studies focused on the bio-ecological and phytochemical research on the plants, in order to highlight the biomorphological peculiarities, the essential oil content and the possibility of using them in various branches of the national economy. Far from being an exhausted source of remedies, natural products continue to provide low molecular weight compounds with important biological properties that can be used for pharmaceutical purposes.

Keywords: *Agastache, aromatic plants, introduction, use, essential oil.*

ASPECTE PRIVIND STUDIUL UNOR SPECII AROMATICE DIN GENUL *AGASTACHE* GRONOV

Studiul este consacrat domeniului de introducere, conservare și valorificare a plantelor aromatice și medicinale, care reprezintă surse inepuizabile de materii prime pentru industria de medicamente, cosmetică și alimentară. Lucrarea este axată pe evaluarea perspectivelor de introducere a 4 specii din genul *Agastache* Gronov: *Agastache foeniculum (* Pursh) Kuntze, *Agastache rugosa* (Fisch & C. A Mey.) O. Kuntze, *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze, *Agastache nepetoides* L., specii mai puțin investigate, dar valoroase din punct de vedere terapeutic. Studiile au vizat cercetarea sub aspect bio-ecologic și fitochimic a plantelor, în scopul evidențierii particularităților biomorfologice, conținutului în ulei volatil și a posibilității de valorificare în diverse domenii ale economiei naționale. Produsele naturale sunt departe de a fi o sursă epuizată de remedii, acestea continuă să furnizeze compuși cu masă moleculară mică, cu proprietăți biologice importante, care pot fi exploatate în scopuri farmaceutice.

Cuvinte-cheie: *Agastache, plante aromatice, introducere, valorificare, ulei volatile.*

Introduction

The introduction, conservation and use of the diverse range of aromatic and medicinal plants, accumulated in the gene pool of the Botanical Garden, remains one of the long-term priority tasks.

The therapeutic and cosmetic properties of plants have been rediscovered, their role in the life of modern people has become undeniable, both due to their numerous usages and due the fact that they offer a promising alternative in maintaining health and beauty. Year by year, there has been an increase in the trend of using plants in the treatment of many diseases with remedies of natural origin. This is due to the fact that such remedies have practically no side effects. Therefore, there is a need to know and research aromatic and medicinal plants in all aspects and to obtain effective medicinal preparations based on them. Satisfying the ever-increasing demands of the population for herbal medicinal raw material can only be possible after carrying out the respective scientific research, followed by the establishment of plantations of the desired assortment.

The genus *Agastache* Gronov, synonym *Brittonastrum*, which includes about 22 species of aromatic and medicinal perennial plants, is of particular importance among the many genera of aromatic plants in the Lamiaceae family. These species originate from the dry hilly areas of the USA, Mexico, Japan and China. A long

flowering period is characteristic of most of them, thus they are considered excellent honey plants. They are used not only for their medicinal and cosmetic properties, but also as spices in various food recipes, in making teas and soft drinks. These species are also used as ornamental plants, which are grown in gardens either alone or mixed with other species, particularly in borders. They are easily cultivated, as they develop quickly, preferring moist, well-drained soil and sunny areas. The species of the genus *Agastache* are aromatic plants, which are well-known sources of bioactive principles, especially essential oil of particular economic importance.

Material and Methods

The research was carried out in 2019-2023, the research subjects being 4 species of plants of the genus *Agastache* Gronov: *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze, *Agastache rugosa* (Fisch & C.A Mey.) O. Kuntze, *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze, *Agastache nepetoides* L., all introduced in the collection of aromatic plants of the Botanical Garden from other regions. The plants were grown in plots, in an open field with southern exposure, under ecologically balanced conditions, on a general agrotechnical background. Phenological observations were made according to the method described by I.N. Beidemann, during the entire growing season [1]. The essential oil content was determined by steam distillation [2]. During the growing season, observations were made on the reaction of plants to late spring frosts, resistance to low temperatures, the influence of light intensity, the insufficiency and excess of atmospheric precipitation, the resistance of plants to diseases and pests. The phytochemical compounds of the essential oil were determined at „Stejarul" Biological Research Center, Piatra Neamț, Romania, with the help of the gas chromatograph Agilent Technologies tip 6890N coupled to the mass selective detector (MSD) 5975 inert XL MSD, by gas chromatography mass spectrometry (CG/MS) [3].

Results and Discussions

Figure 1. **The general aspect of species of the genus Agastache GRONOV in the generative phase:** a - *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze, **b** - *Agastache rugosa* (Fisch & C.A.Mey.) O. Kuntze. **c -** *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze, **d** - *Agastache nepetoides* L.

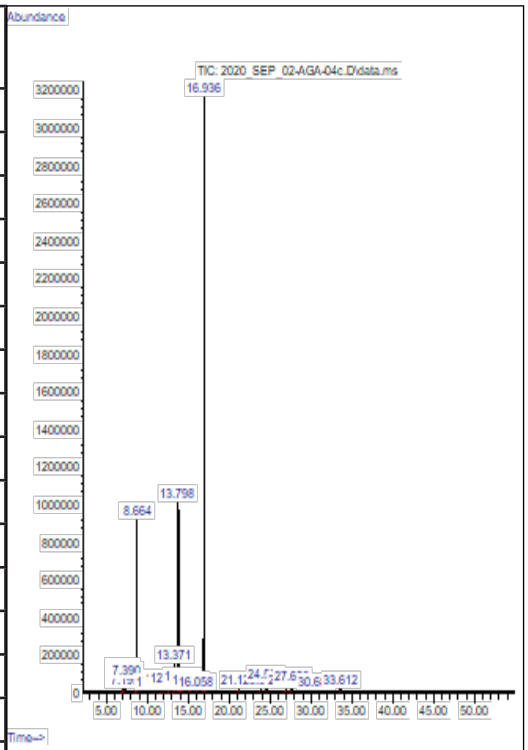
***Agastache foeniculum* (Pursh.) Kuntze (**anise hyssop) (Figure 1. a**)** is a perennial, vigorous species, native to the central areas of North America, where it has expanded to the Canadian provinces. Under the climatic conditions of the Republic of Moldova, the perennial plants of *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze, during the growing season, are characterized by the presence of 12-14 annual shoots, which start growing in the middle of April. An intensive growth is observed starting from the beginning of June. *A. foeniculum* plants enter the budding stage in early June, which lasts 30-35 days. As a result of the growth of shoots of different orders, the plant takes the shape of a bush. The beginning of the flowering stage occurs in the middle of July; therefore the full flowering takes place at the beginning of August. It blooms during a long period, lasting 75-90 days. It has small, tubular flowers arranged in terminal spikes that are about 4-8 cm long, blue, purple, pink or white, which produce a strong fragrance similar to that of anise. During this period, it has a bushy appearance, being completely covered by shoots. At the end of September, the fruit ripening stage occurs. The research carried out on the growth and development characteristics of the *A. foeniculum* plants has demonstrated that, under the climatic conditions of the Republic of Moldova, they go through the entire vegetation cycle, including the formation of viable seeds. The duration of the growing season of these plants is about 200-220 days.

Two-year-old plants develop a bush composed of 4-6 stems that grow 1.0-1.2 m tall and green, lanceolate leaves with a pointed tip and evenly toothed margins. The number of leaves on the central axis is 80-84, with 2-2.2 cm long petiole. The flowers are small, grouped in elongated inflorescences. It is propagated by seeds, which are sown shortly before the late spring frosts occur, at temperatures of 15-18 °C, covered with a 1 cm thick layer of soil, because light helps germination. It can also be propagated by division, in early spring, or by cuttings taken from young basal shoots that started growing in spring. *A. foeniculum* plants produce essential oil during the entire growing season, but its amount varies depending on the age of the plant and the stage of development. The content of essential oil in the species *A. foeniculum*, determined in the full flowering stage, in 2-year-old plants, was 0.40-0.45% in the green mass and 1.40-1.60% in the absolutely dry matter, respectively. The essential oil contains camphor, estragole, limonene, anisole, linalool, methyl chavicol, menthone, pulegone, eugenol [4].

***Agastache rugosa* (Fisch & C.A.Mey.)** O. Kuntze. (wrinkled giant hyssop) (Figure 1. b). The native range of this species is Asia, namely China, Japan, Korea, Siberia. Under the climatic conditions of the Republic of Moldova, the perennial *A. rugosa* plants are characterized by the presence of 7-11 annual shoots, which start growing at the end of March. A slow growth was observed, because of the low temperatures recorded during the given period. Starting with early June, the plants began to grow intensively, reaching a height of 80-110 cm. *A. rugosa* plants reached the budding stage at the end of June. The beginning of the flowering stage was recorded in early July. The flowering stage lasted 60-75 days, as it depended on the weather conditions during the given period. Wrinkled giant hyssop plants bore fruit starting from the first year of vegetation. The seed ripening stage began in the middle of September and lasted 30-45 days. The plants went through the entire development cycle. They are hardy plants, withstanding low temperatures. *A. rugosa* can be cultivated as a medicinal plant, for its antibacterial, antifungal, carminative and antipyretic properties. The young leaves can be eaten fresh or cooked, but are normally used to add flavour to salads. The content of essential oil in the full flowering stage was 0.68 - 0.72% of the absolutely dry matter. In order to identify some new biological compounds, we researched the chemical composition of the essential oil of *A. rugosa* plants grown under the climatic conditions of the Republic of Moldova.

Tab. 1. The chemical composition of the essential oil of Agastache rugosa determined by GC-MS.

RT (min)	Kovats index	Compounds	Area %
6.91	973	Sabinene	0.1
6.97	976	3-Cyclohepten-1-one	1.1
7.19	985	3-Octanone	0.2
7.39	993	β-Myrcene	0.8
8.66	1030	Limonene	12.3
11.68	1113	1-Octenyl acetate	0.2
12.02	1122	1,3,8-ρ-Menthatriene	0.4
12.59	1136	cis-ρ-Mentha-2,8-dien-1-ol	0.4
13.37	1155	Menthone	2.5
13.80	1166	iso-Menthone	16.9
14.26	1178	cis-Linalool oxide (furanoid)	0.7
15.21	1202	Estragole	0.1
16.93	1241	Pulegone	60.8
21.15	1340	Piperitenone	0.4
23.84	1404	Methyl eugenol	0.3
24.56	1422	β-Caryophyllene	0.9
27.66	1498	Bicyclogermacrene	0.6
		Other compounds	1.2



GC-MS chromatogram of *Agastache rugosa.*

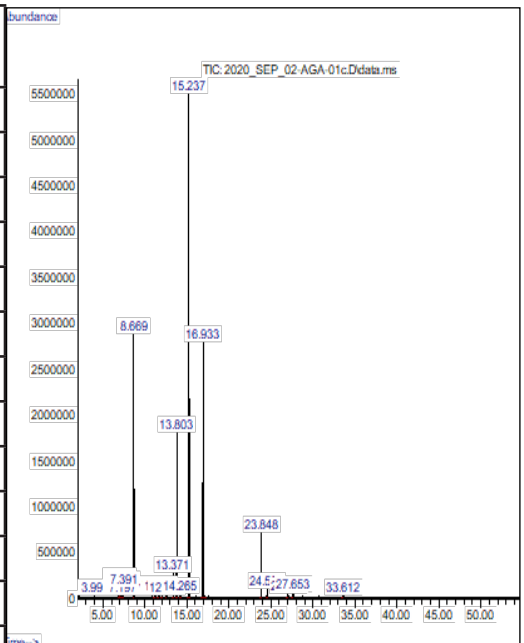
The research carried out characterizes the essential oil of *A. rugosa* by a content rich in pulegone (60.8%) (Tab. 1.). The main property of this plant is to activate the immune system and to improve metabolism. The essential oil is able to decrease blood pressure and has bactericidal properties, and the presence of bioflavonoids suggests its use as an antioxidant agent [5].

***Agastache urticifolia* (Benth.) O. Kuntze (nettleleaf giant hyssop),** (Figure 1. c) is sometimes mentioned in literature as Laphanthus urticifolius and Agastache glaucifolia. Its native range includes western areas of North America, southern California and Colorado. It is a perennial plant, reaching 1.1-1.3 m in height; it starts blooming in August, being pollinated by bees. It is not very resistant to long periods with temperatures below -12 °C; it prefers south-facing, warm, sunny, well-drained soils. In our collection, the plants withstood well the last three winters. *A. urticifolia* can be propagated by seeds, sown directly in the soil in early spring and by seedlings obtained under indoor conditions, as well as by division carried out in spring and by young rooted basal cuttings. The plants are able to complete the full cycle of development in the first year of vegetation.

They start growing at the end of April. During summer, the plants are characterized by slow development, producing 1-2 stems bearing 4-6 pairs of first-order branches, 4-5 pairs of leaves with the length of the blade of 4.5-6.5 cm and width of 3-4 cm. The plants reach a height of 50-55 cm by the end of August. In September, the first buds appear, some reaching the beginning of the flowering stage. The growing season of *A. urticifolia* plants lasts 200-220 days. According to data from the literature, the essential oil content in the full flowering stage is 0.80-0.97% of the absolutely dry matter [6]. In our research, the maximum content was recorded in the full flowering stage, in 3-year-old plants and it was 0.45-0.49% in green mass and 1.10-1.15% in absolutely dry matter, respectively. The essential oil obtained by steam distillation from *Agastache urticifolia* plants is characterized by a high content of estragole (41.1%) and pulegone (20.4%) (Tab. 2). Estragole determines the strong antibacterial effect of the oil and its phytotoxic properties. Its presence gives the anise-like smell. Pulegone, gives the essential oil insecticidal properties, therefore, it can be recommended in the biological protection of plants.

Tab. 2. The chemical composition of the essential oil of Agastache urticifolia.

RT(min)	Kovats index	Compounds	Area %
6.91	973	Sabinene	0.1
6.97	976	3-Cyclohepten-1-one	0.7
7.19	985	3-Octanone	0.1
7.39	993	β-Myrcene	0.5
8.67	1030	Limonene	15.3
11.21	1101	Linalol	0.2
11.68	1113	1-Octenyl acetate	0.3
12.02	1122	1,3,8-ρ-Menthatriene	0.2
12.59	1136	cis-ρ-Mentha-2,8-dien-1-ol	0.2
13.37	1155	Menthone	1.7
13.80	1166	iso-Menthone	12.0
14.26	1178	cis-Linalool oxide (furanoid)	0.4
15.24	1202	Estragole	41.1
16.93	1241	Pulegone	20.4
23.85	1404	Methyl eugenol	5.1
24.56	1422	β-Caryophyllene	0.7
		Other compounds	1.0



GC-MS chromatogram of *Agastache urticifolia.*

***Agastache nepetoides* L.** (yellow giant hyssop), (Figure 1. d) is also known as Hyssopus nepetoides. It is native to Asia (China, Japan, Korea, Primorsky Krai of the Russian Federation, Taiwan, India and Vietnam), being a perennial species with tall and branched stems, oval-cordate opposite leaves, with coarsely toothed margins, 15 cm long, and whitish-yellow flowers, which start blooming in July. The calyx is 5-6 mm long, with five narrow triangular lobes. The petals are 8-10 mm long. The stamens are dynamic, long. The fruits are schizocarps, with 1.8 mm elliptical obovate mericarps. The flowers and leaves have a minty smell. *A. nepetoides* grows well on fertile soils with high humidity and exposed to a lot of sunlight. Under the climatic conditions of Moldova, it reaches 50-100 cm in height.

The aroma of plants is less strong if they grow in the shadow. *A. nepetoides* plants produce essential oil during the entire growing season, but its amount varies depending on the development stage. According to data from the literature, the largest amount of essential oil accumulates in the full flowering stage, namely, 1.05-1.18% of the absolutely dry matter [7]. The essential oil contains carvacrol, estragole, thymol, citral, nepetalic acid, nepetal-glucoside-ether, limonene, geraniol, caffeic acid, ursolic and rosmarinic acid [8].

The research confirms that the species of the genus *Agastache* are characterized by high adaptive potential, great vitality, regenerative capacity and fast growth. The plants are well adapted to the pedoclimatic and ecological conditions of our country and are of high value due to their chemical composition, being recommended for use in cosmetics and medicines.

Conclusions:

- The pedoclimatic conditions of the Republic of Moldova are favourable for the growth and development of *Agastache* species. Observations on the seasonal development peculiarities have proven that the species have a stable type of phenological development. They are able to complete the full ontogenetic cycle.
- The plants can be propagated by vegetative techniques – by division and generatively – by sowing directly in the field or by transplanting seedlings grown in the greenhouse.
- The essential oil of *A. rugosa* is characterized by a content rich in pulegone (60.8%). iso-menthone (16.9%) and limonene (12.3%), that of *A. urticifolia* is rich in estragole (41.1%), pulegone (20.4%), limonene (15.3%), iso-menthone (12%) and methyl-eugenol (5.1%). Due to its chemical composition, the essential oil possesses antimicrobial, anti-inflammatory and insecticidal properties.
- The species of the genus *Agastache* introduced and researched in the National Botanical Garden as aromatic and medicinal plants can serve as local sources of raw material for the production and diversification of the range of phytocosmetic and phytotherapeutic products.

References:

1. БЕЙДЕМАН, И. Н. Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ. Москва: Наука, 1974, 280 с.
2. ГОСУДАРСТЕННАЯ ФАРМАКОПЕЯ СССР. Москва, 1968, 993 с.
3. ROBERT P. ADAMS. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured publishing, 2017, ed.4.1.
4. CAROLE MINKER. 200 Plante care ne vor binele București, Editura Rao 2015, p. 18
5. CHOI, J. S., SONG, B., PARK, H. *Gas chromatographic analysis and cholinesterase activity of the essential oil from korean Agastache rugosa*. Korean Journal of Pharmacognosy, 47(2), 2016, 192-196.
6. БОДРУГ, М. Интродукция новых эфирномасличных растений в Молдове Кишинев, Штиинца, 1993. 62, 144 р.
7. ЛОГВИНЕНКО Л. А., ХЛЫПЕНКО Л. А., МАРКО Н. В. Ароматические растения семейства *Lamiaceae* для фитотерапии // Фармация и фармакология. 2016, № 4 (4), с. 36–38.
8. **S**VOBODA, K. P., GOUGH, J., HAMPSON, J., GALAMBOSI, B**.** *Analysis of the essential oils of some Agastache species grown in Scotland from various seed sources***.** Flavour and Fragrance Journal, 1995, 10(3), 139-145.

Date about authors:
***Maricica COLȚUN*,** Ph.D. in biological sciences, coordinating researcher, ,,Plant Resources" Laboratory, ,,Alexandru Ciubotaru" National Botanical Garden (Institute), Chişinău, Republic of Moldova.
E-mail: mcoltun@mail.ru
ORCID: 0000-0001-8470-3616

Alina BOGDAN, researcher, ,,Plant Resources" Laboratory, ,,Alexandru Ciubotaru" National Botanical Garden (Institute), Chişinău, Republic of Moldova.
E-mail: alina.bogdan777@mail.ru
ORCID: 0000-0002-2069-0454

***Elvira GILLE*,** associate professor, Ph.D., ,,Stejarul" Biological Research Center Piatra Neamț, Romania.
E-mail: elgille9@yahoo.com

The research was supported by the NARD through the project "Research and conservation of vascular flora and macromycobiota of the Republic of Moldova", 20.80009.7007.22.

Presented on 06.04.2023

CZU: 639.2:504.45.06:349.6(478)

EVOLUȚIA REGLEMENTĂRILOR ÎN DOMENIUL PESCUITULUI, PROTECȚIEI ȘI FOLOSIRII RESURSELOR BIOLOGICE ACVATICE NATURALE

Dumitru BULAT, Nicolae ȘAPTEFRAȚI, Denis BULAT
Institutul de Zoologie al Universităţii de Stat din Moldova

Gheorghe AVORNIC
Universitatea de Studii Politice şi Economice Europene ,,Constantin Stere”

Măsurile de reglementare a pescuitului în Republica Moldova care s-au aplicat de-a lungul anilor în ecosistemele naturale nu au fost întotdeauna eficiente – fie prin organizarea defectuoasă a exploatării resurselor piscicole, nerespectarea regimului de pescuit, neevaluarea stării resurselor piscicole, ineficacitatea măsurilor ameliorativ-piscicole ș.a., sau prin imperfecțiunea cadrului normativ.

În lucrarea de față în premieră se face o analiză a actelor normative existente în domeniul protecției resurselor biologice acvatice din Republica Moldova în aspect istoric și de conținut. De asemenea, s-a încercat integrarea armonioasă a rezultatelor științifice din domeniul ihtiologiei în cel al dreptului mediului.

În urma abordării multisistemice al cadrului normativ existent în domeniul exploatării și protecției resurselor biologice acvatice s-au înaintat recomandări și propuneri argumentate din punct de vedere științific pentru îmbunătățirea legislației în domeniu.

Cuvinte-cheie: *protecția resurselor biologice acvatice, act normativ, unelte de pescuit, dimensiuni minime permise pentru pescuit, prejudiciu de mediu.*

EVOLUTION OF REGULATIONS IN THE FIELD OF FISHERIES, PROTECTION AND USE OF NATURAL AQUATIC BIOLOGICAL RESOURCES

The fishing regulatory measures that have been applied over the years in the Republic of Moldova in natural ecosystems have not always been effective - either through the faulty organization of the exploitation of fish resources, non-compliance with the fishing regime, failure to assess the state of fish resources, the ineffectiveness of ameliorative measures etc., or through the imperfection of the normative framework.

In this paper, for the first time, an analysis of the existing normative acts in the field of protection of aquatic biological resources in the Republic of Moldova is made in historical and content terms. Also, an attempt was made to harmoniously integrate the scientific results from the field of ichthyology into that of environmental law.

Following the multi-systemic approach of the existing normative framework in the field of exploitation and protection of aquatic biological resources, scientifically argued recommendations and proposals were submitted to improve the legislation in the field.

Keywords: *protection of aquatic biological resources, regulatory act, fishing gear, minimum sizes allowed for fishing, environmental damage*.

Introducere

În spațiul românesc, primele atestări documentate privind numărul mare de ape bogate în pești valoroși, aparțin poetului Ovidiu, care încheia poemul Halieutica cu versurile „…și tu în ape străine slăvit *Acipenser*”; în afară de aceasta, se știe că la mesele regilor Burebista și Decebal se serveau fripturi de sturioni și uriașe castroane cu icre negre [1].

Unele surse istorice mărturisesc că în secolele X−XIX, peștele era cam rar utilizat în alimentația populației băștinașe, folosit mai mult, după cum zice o vorbă veche din țărani, „pentru a îndulci hrana”. Grație ciobănitului dezvoltat, se consuma în special brânza, cașul, pastrama sărată și afumată. În pofida acestui fapt, în

perioada creștinismului, „dezlegările" cu pește la masa de post au determinat într-o măsură considerabilă dezvoltarea pescuitului și a pisciculturii tradiționale [2].

În vechiul drept moldovenesc amintim de reguli, „pravile" privind ocrotirea unor resurse naturale, precum pădurea, apele, solul, regnul animal etc. Începând cu Evul Mediu, moldovenii își reglementau relațiile între ei prin intermediul unei totalități de obiceiuri și tradiții populare orale, care au fost cristalizate de-a lungul secolelor, fiind denumite în popor „obiceiul pământului", persistând în Moldova aproape până în epoca modernă. Primele încercări de reglementare a raporturilor dintre om și natură datează cu perioada domniei lui Ștefan-cel-Mare (1457-1504), care, fiind preocupat de protejarea vânatului și a altor resurse naturale, a dat „legea braniștii" – lege care proteja flora și fauna sălbatică în anumite locuri, adică interzicea orice activitate de folosire a resurselor naturale pe anumite teritorii. Astfel, braniștea reprezenta un „loc oprit unde nimeni nu avea voie să vâneze, să pescuiască, să pășuneze vitele și nici măcar să coseasă fânul fără voia stăpânului, cei care încălcau legea fiind aspru pedepsiți cu pedeapsă corporală și confiscarea a tot ceea ce aveau asupra lor când săvârșeau fapta" [50, 121].

Folosirea plaselor este atestată într-un document din 6 iunie 1455 emis de Petru Aron „nimeni să nu îndrăznească să facă năvoade în hotarul lor» [3].

Metode și materiale aplicate

Principalele surse de informare naționale referitoare la legislația de mediu și starea resurselor biologice acvatice sunt:

1. Site-ul oficial al actelor normative în format electronic *legis.md* [4]*;*
2. Lucrările științifice ale Institutului de Zoologie [5];
3. Rapoarte anuale ale Inspectoratului de Stat pentru protecția și reproducerea resurselor piscicole și reglementarea pescuitului și ale Serviciului Piscicol de Stat [6];
4. Anuarele Inspectoratului pentru Protecția Mediului din Republica Moldova [7]
5. Alte studii relevante existente în acest domeniu.

Rezultate obținute și discuții

Pe teritoriul Republicii Moldova, începând cu anul 1918 pescuitul peștelui și a altor organisme acvatice folositoare în toate obiectivele acvatice a fost reglementat de Legea asupra pescuitului din 10 octombrie 1896 cu modificările și completările din 23 noiembrie anul 1939, elaborată de marele naturalist român Grigore Antipa (1867-1944) [8, 9, 10]. Această lege se caracterizează printr-o structură științifică care determină forma și dimensiunile uneltelor de pescuit folosite, dimensiunile minime la pești, locurile și timpul când pescuitul este permis ori interzis, precum și penalitățile privind delictul și contravențiile respective. Legea respectivă era structurată pe 8 capitole – Dispoziţiuni generale; Despre drept de pescuit; Exercițiul pescuitului; Conservarea și poliția pescuitului; Despre regiunile de cruțare; Despre înlăturarea stricăciunilor aduse pescăriei prin industrii, navigație, agricultură; Măsuri pentru regularea râurilor și apelor naturale și pentru punerea în valoare a pescăriilor; Instrucțiuni și penalități.

Prin regulamentul Legii erau determinate:

- Ordinea exploatării bazinelor piscicole amplasate pe proprietățile statului și proprietățile particulare;
- Epocile și timpul când pescuitul diferitor specii de pești este interzis, în sensul asigurării reproducerii și se stabilea anual în perioada 15 aprilie – 15 iunie pentru următoarele specii de pești: morun, nisetru, păstrugă, bogzar (se are în vedere puiet de viză), viză, cegă, șip, șalău, crap, lin, mreană, scobar, morunaș, cosac, plătică, batcă, caracudă, văduviță, roșioară, babușcă în fluviul Dunărea și râul Prut. În toate celelalte râuri, confluenții lor, interzicerea pescuitului în perioada reproducerii naturale era totală (dar nu limitată pe specii);
- Dimensiunile minime a diferitor specii de pești: morun – 100 cm, nisetru – 70 cm, păstrugă – 70 cm, bogzar (se are în vedere puiet de viză) – 50 cm, viză – 80 cm, șip – 80 cm, cegă – 35 cm, șalău – 30, lin – 20 cm, mreană – 25 cm, scobar – 20 cm, morunaș – 20 cm, cosac – 20 cm, plătică – 20 cm, batcă – 15 cm, văduviță – 20 cm, babușcă – 15 cm, roșioară – 15 cm, păstrăv indigen – 20 cm, lostriță – 60 cm, raci – 8 cm;
- Procedeele și instrumentele interzise pentru pescuit: pescuitul cu dinamita sau orice altă materie explozibilă, curent electric, sticle cu var nestins, materii narcotice sau otrăvitoare de natură animală sau vegetală, cu sulițe, furci, ostii, greble, prin împușcare cu arme de foc, cu reflectoare, faruri, făclii, lămpi, lumini;
- Dimensiunile instrumentelor pentru pescuit: năvodul, volocul, halăul, prostovolul, vârșa, plasele

și orice alte instrumente împletite a căror ochi măsurați n-au cel puțin 4 cm pe latură erau interzise pentru pescuit. Toate instrumentele (sculele) de pescuit afară de undiță, anual, la epoca eliberării permisului pentru pescuit se marcau prin aplicarea de plumburi cu număr de ordine și denumirea instituției.

Luând în considerație că bazinele piscicole erau folosite și în alte scopuri (hidroconstrucție, navigație, necesități agricole, deversarea în bazinele piscicole a reziduurilor și apelor poluate de la stabilimente industriale și agricole) legea prevedea construcția trecătorilor (scărilor) de pești în cazurile stabilirii în cursurile de ape a zăgazurilor, stăvilarelor. De asemenea, era interzisă deversarea apelor poluate și exploatarea turbinelor fără echiparea lor cu site metalice pentru prevenirea pătrunderii peștelui în turbine.

Totodată, trebuie evidențiat că legea respectivă a avut și un șir de neajunsuri importante, nefiind reflectate în conținutul său așa aspecte importante precum: – stabilirea (limitarea) cotelor anuale pentru pescuit și repartizarea pe bazine acvatice, reglementarea dimensiunilor sculelor și numărul acestora permise pentru pescuit, stabilirea capturilor maxime a peștilor sub dimensiunile minime legale, evidența capturilor, structura cantitativă și calitativă a lor ș.a.

În perioada anilor 1945-1955 pe teritoriul Republicii Moldova s-a aplicat actul normativ ,,Cu privire la reglementarea pescuitului și protecția resurselor piscicole” aprobat de Hotărârea Guvernului URSS din 25 septembrie a. 1935 în care a fost specificată determinarea și clasificarea bazinelor piscicole, ordinea exploatării resurselor piscicole [11].

Din a. 1955 și până în a. 1969 în bazinele piscicole au funcționat Regulile pescuitului în bazinul Mării Negre în limitele teritoriale ale Federației Ruse, Ucrainei și Republicii Moldova în care s-au specificat reglementarea pescuitului industrial, sportiv-amatoristic și în scopuri științifice [12]. Bazinele piscicole sau zonele pentru pescuitul industrial erau atribuite de către Inspectoratul Piscicol de Stat, în primul rând, întreprinderilor de stat specializate în pescuit și piscicultură gratuit în baza unui contract fără termen. Pescuitul sportiv-amatoristic se permitea numai pentru consumul personal tuturor cetățenilor, gratuit, în toate bazinele piscicole, cu excepția rezervațiilor naturale, crescătoriilor piscicole, zonelor pentru pescuitul industrial cu respectarea regulilor de pescuit. Pescuitul în scopuri științifice se permitea în toate bazinele piscicole naturale (inclusiv și în zonele interzise pentru pescuit), în orice timp cu orice unelte sau metode de pescuit în baza autorizației eliberate de Inspectoratul Piscicol de Stat.

În aceste reguli au fost stabilite dimensiunile minime legale pentru pescuitul principalelor specii de pești: șalău – 34 cm, plătică – 28 cm, morunaș – 21 cm. Însă la determinarea lor nu s-a luat în considerație particularitățile bazinelor și biologia speciilor principale. Așadar, dimensiunile minime legale a peștilor erau micșorate, contribuindu-se la pescuirea peștilor sub dimensiunile minime legale și respectiv au fost depășite semnificativ limitele admise.

În a. 1969 au fost puse în aplicare Regulile noi de pescuit în bazinul Mării Negre, în care, în primul rând, s-au modificat dimensiunile minime legale: șalău - 38 cm, plătică – 30 cm, somn – 60 cm, avat – 40 cm, sabiță – 40 cm, crap – 32 cm, morunaș – 26 cm, văduviță – 22 cm, lin – 20 cm, ocheană – 18 cm, scrumbie-de-Dunăre – 17 cm, caras argintiu – 15 cm [13].

Pescuitul maximal admis al peștelui sub dimensiunile minime legale a fost stabilit de 8 % la speciile reglementate din capturile totale. Pentru limitarea pescuirii puietului se permitea numai plasele cu mărimea ochiului pe latură nu mai mic de 50 mm pentru speciile de talie mare (șalău, plătică, crap) și de 32 mm pentru speciile de talie medie (*ocheană, sabiță, morunaș, scrumbie*). Totodată trebuie de remarcat că în Regulile Pescuitului în bazinul Mării Negre au fost incluse un șir de restricții cu scopul ameliorării stării resurselor piscicole: - pescuitul în gropile pentru iernatul peștelui; orice pescuit pe parcursul anului în zonele de 500 m în amonte și aval de baraj, stăvilare, poduri; pescuitul prin gonire, cu scule înțepătoare; folosirea (fără acordul Inspectoratului Piscicol) metodelor și sculelor noi pentru pescuit. De asemenea, s-a interzis excavarea pietrișului și nisipului în zonele de reproducere și în gropile pentru iernatul peștelui; folosirea apei (fără acordul Inspectoratului Piscicol) din bazinele piscicole pentru necesitățile industriilor și pentru irigare; deversarea apelor reziduale neepurate; aclimatizarea, fără acordul Inspectoratului Piscicol a speciilor noi de pești.

Prin Hotărârile Consiliului de Miniștri al URSS nr. 833 din 25.10.1974 și al Consiliului de Miniștri al RSSM nr. 389 din 27.11.1974 s-au stabilit taxele pentru recuperarea prejudiciului cauzat resurselor piscicole prin încălcarea prevederilor Regulilor de pescuit de către persoanele fizice (Tabelul. 2).

Speciile de pești sau alte organisme acvatice	**Despăgubirile pentru un exemplar de pește sau organisme acvatice indiferent de dimensiuni și greutate (ruble)**
- morun	- 400
- nisetru, păstrugă, viză, hibrizi ai acipenseridelor	- 100
- cegă, mreană	- 30
- anghilă, scrumbie de Dunăre	- 20
- văduviță, ocheană mare, somn	- 10
- morunaș, crap, cosaș, sânger, novac, scoicar	- 5
- șalău, plătică, avat, ocheană	- 3
- caras argintiu	- 2
- rac	- 1

Prin ordinul Direcției Bazinale pentru protecția resurselor piscicole ,,Zapcerrâbvod" nr. 148 din 23 octombrie 1983 au fost aprobate Regulile pescuitului sportiv-amatoristic a peștilor și altor organisme și plante acvatice în bazinul Nord-Vestic al Mării Negre [14]. Aceste reguli acordă mai multe priorități Asociațiilor Vânătorilor și Pescarilor Amatori. S-au delimitat drepturile pescarilor – membri ai Asociațiilor Pescarilor și Vânătorilor în bazinele de folosință generală care puteau pescui până la 5 kg de pește într-o zi și pescarii amatori nemembri ai Asociațiilor Vânătorilor și Pescarilor amatori doar 3 kg pește/zi. De asemenea, și numărul de cârlige s-a delimitat – 10 cârlige pentru membri asociațiilor și 5 cârlige pentru nemembri.

În unele bazine piscicole sau sectoare, cu acordul Inspectoratului Piscicol de Sat, Asociațiile Vânătorilor și Pescarilor amatori în bază de contract-angajament se puteau organiza gospodării piscicole specializate pentru pescuitul sportiv amatoristic. După îndeplinirea angajamentelor contractuale aceste obiective acvatice se transmiteau Asociațiilor Vânătorilor și Pescarilor Amatori care determinau regimul de pescuit. Pescuitul în aceste bazine se efectua contra-plată. Mărimea plății era determinată de către asociații. Unele categorii de cetățeni erau eliberați de plată – membrii onorifici ai Asociațiilor Vânătorilor și Pescarilor Amatori, președinții asociațiilor raionale, inspectorii piscicoli voluntari, invalizii și participanții la cel de-al II-lea Război Mondial și copii cu vârsta de până la 14 ani.

Pentru lacul de acumulare Costești-Stânca la 29 iunie a. 1984 prin ordinul nr. 343 al Ministrului Gospodăriei Piscicole al URSS s-au aprobat Regulile pescuitului în l.a. Costești-Stânca elaborate în baza recomandărilor Comisiei mixte Sovietico-Române din decembrie 1983 [15]. Regulile pescuitului au determinat termenii de prohibiție a pescuitului pentru asigurarea condițiilor normale de reproducere, anual, pentru un termen de 30 zile în perioada 1 aprilie-30 iunie. De asemeni, s-au stabilit mărimea minimă a ochiului pe latură la plase și ave – 50 mm, voloace și năvoade în matiță de 24 mm și la vintire – 24 mm.

Mărimile minime admise pentru pescuitul peștelui: babușcă – 15 cm, văduviță – 20 cm, avat – 20 cm, lin – 20 cm, pietrar – 20 cm, mreană – 25 cm, plătică – 20 cm, morunaș – 26 cm, caras argintiu – 12 cm, roșioară - 15 cm, obleț – 10 cm, crap – 30 cm, somn – 50 cm, șalău – 35 cm, clean – 28 cm, sânger și novac – 30 cm, sabiță – 25 cm.

În lacul Cahul și în fl. Dunărea, în limitele teritoriale ale Republicii Moldova, în perioada aa. 1968-1993, s-au aplicat ,,Regulile pescuitului în apele fluviului Dunărea și apele accesorii în hotarele URSS", dar activități privind valorificarea piscicolă nu s-au efectuat, cu excepția pescuiturilor de control și în scopuri științifice [16].

Din a. 1993 până în a. 1995 în Republica Moldova s-a aplicat ,,Regulile cu privire la protecția resurselor piscicole și reglementarea pescuitului în bazinele piscicole din Republica Moldova" în care era prevăzut că pescuitul industrial, sportiv și amatoristic în bazinele piscicole se desfășoară numai în bază de contract (pescuitul sportiv și amatoristic se permitea numai membrilor Asociațiilor Vânătorilor și Pescarilor Amatori) [17]. Crescătoriile de pește și alte obiecte construite pentru compensarea prejudiciului cauzat resurselor piscicole se exploatau conform deciziilor Consiliului Ihtiologic și supravegheate de către Inspecția Piscicolă.

Mărimea ochiului pe latură a uneltelor de pescuit s-a stabilit în baza recomandărilor instituțiilor științifice: la năvoade - în matiță – 36 mm și în aripi – 50 mm; la ave și plase – 55 mm; ietre – 36 mm.

Dimensiunile minime legale admise pentru pescuit s-au stabilit în corespundere cu particularităţile biologice ale speciilor de peşti şi caracteristicile fizico-chimice şi hidrobiologice ale bazinelor piscicole (în cm): – crap – 32 cm, plătică – 30 cm, lin – 20 cm, văduviţă – 24 cm, roşioară – 15 cm, clean – 28 cm, caras argintiu – 17 cm, morunaş – 26 cm, babuşcă – 15 cm, ocheană – 18 cm, sabiţă – 24 cm, batcă – 15 cm, scobar – 25 cm, obleţ – 10 cm, avat – 40 cm, şalău – 38 cm, mreană – 30 cm, sânger/novac - 30 cm (în lacul refrigerent Cuciurgan – 50 cm), ştiuca – 32 cm, somn – 60 cm, scrumbie – 20 cm, raci – 10 cm, scoici de rău – 9 cm, broaşte – 30 g/exp. Pescuitul peştelui sub dimensiunile minime legale s-a stabilit de 10 % din captura totală.

Începând cu a. 1995 şi până în a. 2006 pescuitul peştilor şi a altor organisme acvatice era reglementat în baza „Regulamentului cu privire la protecţia resurselor piscicole şi reglementarea pescuitului din bazinele piscicole din republică”, Anexa nr. 2 al Legii regnului animal nr. 439 – XIII din 27.04.1995 [18]. Pe lângă autoritatea centrală abilitată cu gestiunea resurselor naturale şi protecţia mediului înconjurător (Departamentul Protecţia Mediului Înconjurător) s-a constituit Consiliul Ihtiologic ca organ coordonator şi consultativ pentru desfăşurarea investigaţiilor ştiinţifice în domeniul protecţiei, reproducerii şi folosirii raţionale a resurselor piscicole şi era format din specialişti calificaţi în domeniul ihtiologiei, protecţiei resurselor piscicole din instituţiile ştiinţifice de profil, instituţiile de învăţământ, întreprinderi piscicole şi din alte organizaţii. Conform „Regulamentului cu privire la protecţia resurselor piscicole şi reglementarea pescuitului din bazinele piscicole din republică” pescuitul peştelui şi a altor organisme acvatice în bazinele piscicole se efectuează numai în baza autorizaţiei eliberate persoanelor fizice şi juridice de către Serviciul Piscicol contra plată. Pescuitul industrial se efectuează de către persoanele juridice în baza licenţelor eliberate de către autoritatea centrală abilitată cu protecţia mediului înconjurător cu respectarea normelor prevăzute în „Regulamentul cu privire la protecţia resurselor piscicole şi reglementarea pescuitului din bazinele piscicole din republică” şi condiţiilor prescrise în contractul încheiat cu Serviciul Piscicol.

Dimensiunile minime legale ale peştilor şi dimensiunile ochiului pe latură la sculele pentru pescuit, precum şi pescuitul peştelui sub dimensiunile legale au rămas neschimbate.

Pentru aplicarea măsurilor raţionale şi unificate de protecţie a resurselor biologice acvatice şi reglementarea pescuitului şi în scopul gestionării şi exploatării durabile a resurselor piscicole, dezvoltării acvaculturii şi cooperarea în domeniul cercetărilor ştiinţifice în bazinul râului Prut între Guvernele Republicii Moldova şi României la 01 august a. 2003 s-a încheiat „Acordul privind cooperarea în domeniul protecţiei resurselor piscicole şi reglementarea pescuitului în r. Prut şi în l.a. Stânca-Costeşti” având ca anexă şi „Regulamentul de exercitare a pescuitului în r. Prut şi în l.a. Stânca-Costeşti” care este alcătuit din cinci compartimente: Perioade, durate şi zone de prohibiţie a pescuitului; Protecţia resurselor piscicole; Condiţiile pentru exercitarea pescuitului în scop recreativ/sportiv; Dimensiunile minime ale exemplarelor de peşti şi ale mărimii laturii ochiului; Diverse [19]. Principale domenii de cooperare ale părţilor sunt: gestionarea şi exploatarea durabilă a resurselor piscicole, dezvoltarea acvaculturii şi cercetările ştiinţifice de evaluare a stării resurselor piscicole. S-au stabilit următoare dimensiuni minime (în cm) ale exemplarelor de peşti care pot fi reţinute la pescuit:

⇔Avat (*Aspius aspius*) 40	⇔ Plătică (*Abramis brama*) 25
⇔Babuşcă (*Rutilus rutilus*) 15	⇔ Rizeafca (*Alosa tanaica*) 15
⇔Batca (*Blicca bjoerkna*) 15	⇔ Roşioară (*Scardinius erythrophthalmus*) 15
⇔Biban (*Perca fluviatilis*) 12	⇔ Sânger (*Hypophtalmichtys molitrix*) 40
⇔ Caras (*Carassius auratus*) 15	⇔ Scobar (*Chondrostoma nasus*) 25
⇔Clean (*Leuciscus cephalus*) 28	⇔ Scrumbie de Dunare (*Alosa immaculata*) 22
⇔ Cosac (*Abramis sp.*) 25	⇔ Somn (*Silurus glanis*) 60
⇔ Cosaş (*Ctenopharyngodon idella*) 40	⇔ Şalău (*Sander lucioperca sp*.) 40
⇔ Crap (*Cyprinus carpio*) 35	⇔ Ştiucă (*Esox lucius*) 40
⇔ Morunaş (*Vimba vimba*) 25	⇔ Văduviţă (*Leuciscus idus*) 30
⇔ Mreana (*Barbus barbus*) 27	⇔ Raci 10
⇔ Novac (*Aristichtys nobilis*) 40	⇔ Scoici 8
⇔ Oblete (*Alburnus alburnus*) 12	⇔Broaşte 30 g/ex.

Pescuitul recreativ/sportiv este permis numai în cursul zilei și se practică numai de pe mal cu cel mult 2 undițe sau 2 lansete cu câte 2 cârlige fiecare, iar în timpul unei zile se poate pescui cel mult 5 kg pește sau numai un singur exemplar dacă masa lui corporală depășește 5 kg.

În anul 2006 a fost adoptată legea nr. 149 din 08.06.2006 privind fondul piscicol, pescuitul și piscicultura [20]. Prin această lege s-au efectuat un șir de modificări radicale în protecția resurselor biologice acvatice, exploatarea resurselor piscicole și reglementarea pescuitului. Inițial, această lege prevedea desfășurarea pescuitului industrial/comercial de către persoanele fizice și juridice contra plată în baza unei autorizații și a unui contract de atribuire a sectorului de pescuit cu prescrierea obligațiunilor speciale de efectuare a măsurilor ameliorativ-piscicole de menținere, exploatare rațională și de protecție a resurselor piscicole, încheiat cu Serviciul Piscicol.

Dimensiunile minime legale a peștilor admise pentru pescuit și dimensiunile pe latură a ochiului de plasă a uneltelor de pescuit au rămas identice cu „Regulamentul cu privire la protecția resurselor piscicole și reglementarea pescuitului" din Legea Regnului animal nr. 439-XIII din 27.04.1995 [18].

Însă pe parcursul anilor (Legea nr. 280-XVI din 14.12.07, Legea nr. 206-XVI din 09.10.08, Legea nr. 240 din 29.12.15, Legea nr. 164 din 20.07.17, Legea nr. 185 din 21.09.17, Legea nr. 36 din 16.03.18, Legea nr. 7 din 05.04.18) la recomandările autorității centrale abilitate cu gestiunea resurselor naturale și protecția mediului înconjurător (în multe cazuri fără argumentarea științifică a instituțiilor de cercetări în domeniu) s-au efectuat un șir de modificări dintre care unele au dus la contraziceri, neclarități și interpretarea incorectă sau numai în interes departamental a multor articole, creând confuzii în aplicarea Legii fondului piscicol nr. 149 din 08.06.2006 [4].

În urma acestor modificări pescuitul comercial nu se mai practică în baza contractelor de repartizare a sectoarelor pentru pescuit, dar se efectuează în baza certificatului de atribuire a cotelor de pescuit, fără prescrierea obligațiunilor speciale de ameliorare și protecție a faunei piscicole. Se permite pescuitul reproducătorilor fără specificarea cerințelor și condițiilor față de solicitanții acestui pescuit, transformându-l în pescuit comercial sau braconaj care se desfășoară fără plată și supraveghere.

S-au redus semnificativ zonele de prohibiție a pescuitului în locurile de reproducere naturală și zonele de aglomerație a peștelui, acestea din urmă micșorându-se de la 500 m în aval și amonte de toate podurile pe fluviul Nistru și râul Prut până la 100 m.

Reducerea zonelor de prohibiție a pescuitului și practicarea pescuitului (comercial, sportiv/amatoristic și de agrement) în aceste zone contribuie la deteriorarea și distrugerea boiștilor, gropilor pentru iernat și diminuarea loturilor de reproducători și a efectivelor populațiilor speciilor valoroase de pești.

Tronsonul situat nemijlocit în aval de barajul Dubăsari (km 356 în aval până la km 335) este o zonă ecologică deosebit de sensibilă (sunt localizate numeroase boiști ale speciilor litofile de pești care se reproduc pe substrat nisipos-pietros, zonă de concentrare a peștilor în timpul migrațiilor reproductive, trofice și de iernare ș.a.). Acest fapt indică asupra necesității imperative de a lua sub regim de protecție strictă zona respectivă, ceea ce se află în contradicție integrală cu „amendamentele recente" a legii care o reduce nejustificat până la 300 de metri (art. 40, alin. (1)).

În lege nu sunt specificate bazinele (zonele, sectoarele), unde este permis pescuitul comercial/industrial. De asemenea, nu sunt prevăzute delimitările zonelor și sectoarelor de practicare a pescuitului comercial/industrial și pescuitul sportiv/amatoristic și de agrement.

Cum se poate obliga persoanele fizice și juridice care practică pescuitul industrial/comercial să asigure acțiuni de protecție a resurselor piscicole sau efectuarea măsurilor ameliorativ-piscicole dacă pescarii sportivi/amatori pescuiesc laolaltă pe aceleași sectoare cu pescarii care practică pescuitul industrial/comercial? Cum se asigură în asemenea situații respectarea și evidența cotelor de pescuit stabilite, limitarea la unitate de efort și structura cantitativă și calitativă a capturilor?

În art. 12, *alin. (8)* este stipulată mărimea plății de 9000 lei pentru o cotă, însă nu este concretizat ce constituie o (una) cotă pentru pescuitul comercial (1 kg, 10 kg, 100 kg ……. 1000 kg?).

În art. 17, *alin. (4)* este stipulat că pescuitul comercial se efectuează cu năvoade, ave, plase și ietere, iar în art. 38 *lit. o)* se interzice tragerea năvoadelor.

În art. 21, *lit. h)* persoanele fizice și juridice care practică pescuitul comercial sunt obligate să efectueze

lucrări curente de întreținere și amenajare a canalelor și gârlelor care alimentează obiectivele acvatice naturale și să întreprindă măsuri pentru combaterea epizootiilor și a dăunătorilor resurselor biologice acvatice fără specificarea surselor de finanțare cu mijloace bănești și cine determină tipul și volumul lucrărilor.

În art. 19, *alin. (4)* pescuitul reproducătorilor se face în baza unei autorizații speciale eliberate de către Agenția de Mediu pentru un an calendaristic care se transformă în pescuit comercial sau braconaj și se desfășoară fără supraveghere și plată. De fapt, pescuitul reproducătorilor trebuie să se permită numai în perioadele și locurile concrete, cu scule și prin metode stabilite de către Inspectoratul pentru Protecția Mediului în baza recomandărilor instituțiilor științifice în domeniu și în cantități (specie, gen) care nu ar afecta potențialul reproductiv natural al ecosistemelor acvatice naturale.

De asemenea, sunt neclarități și în art. 42, *alin. (5)* care prevede că ,,mijloacele bănești de reparație a prejudiciului cauzat resurselor biologice acvatice din amenajările piscicole se virează la contul agenților economici deținători ai acestor amenajări”, nespecificându-se care prejudiciu (în urma căror acțiuni – pescuit, poluare, deversarea apei din obiectivele acvatice artificiale ș.a.).

Rolul organelor pentru protecția resurselor piscicole în reglementarea pescuitului.

Sarcinile legate de formarea și exploatarea rațională a resurselor piscicole și reglementarea pescuitului în bazinele piscicole naturale de-a lungul timpului i-au fost atribuite Inspectoratului Piscicol de Stat, având ca obligații de bază:

- protecția resurselor piscicole și altor hidrobionți, elaborarea și realizarea măsurilor pentru reproducerea speciilor valoroase de pești și reglementarea pescuitului;
- planificarea, organizarea și efectuarea lucrărilor pentru sporirea resurselor biologice acvatice, reproducerea artificială și naturală-dirijată a speciilor valoroase de pești, aclimatizarea speciilor noi, ameliorarea piscicolă și popularea bazinelor, asigurarea măsurilor ameliorative, salvarea puietului speciilor valoroase ș.a.;
- supravegherea stării bazinelor piscicole și efectuarea lucrărilor pentru prevenirea poluării și altor acțiuni antropice distructive (excavarea nisipului, prundișului și petrei de râu, pomparea apei în scopuri industriale și irigație, instalarea conductelor și cablurilor ș.a.);
- evaluarea prejudiciilor cauzate resurselor biologice acvatice în urma activităților productive și avizarea proiectelor pentru construcția instalațiilor hidrotehnice și întreprinderilor industriale și agricole care deversează apele reziduale în bazinele piscicole.

În cadrul Inspectoratului Piscicol a funcționat serviciul de control și observații ihtiologice responsabil de [21, 22, 23]:

- evidența și caracteristica bazinelor piscicole naturale;
- cartarea și pașaportizarea bazinelor piscicole;
- colectarea materialului ihtiologic cu privire la componența specifică și structura gravi-dimensională a capturilor și prelucrarea primară a acestui material;
- întocmirea șirului distribuției grupelor de vârstă, structurii gravi-dimensionale (lungimii și masei) speciilor principale de pești și calcularea valorilor medii;
- colectarea materialelor cu referire la intensitatea migrațiilor reproductive, termenii migrațiilor, componența și abundența loturilor de reproducători, gradul de folosire a boiștilor, termenii și caracterul depunerii pontelor;
- evidența zonelor principale de dezvoltare și creștere a puietului, colectarea materialelor cu privire la pescuitul și dimensiunile minime legale a capturilor din sculele pentru pescuit în bazinele piscicole;
- supravegherea condițiilor de iernare a speciilor principale pentru pescuit – termenii iernării, gradul de folosire a gropilor de iernare, regimul termic și gazos, evidența cazurilor de asfixiere a peștelui în gropile pentru iernat, elaborarea măsurilor pentru profilaxia și lichidarea cazurilor de asfixiere;
- înregistrarea și evidența modificărilor indicilor hidrologici și a regimului hidrochimic și evaluarea influenței asupra ciclului anual de viață a peștilor (migrări reproductive, reproducerea naturală, dezvoltarea alevinilor, îngrășarea și iernarea);
- identificarea cazurilor de pieire a peștilor și altor organisme acvatice, participarea la elaborarea măsurilor de prevenire. Asigurarea colectării și prelucrării materialului ihtiologic în cazurile intoxicării peștelui și altor organisme acvatice în rezultatul poluării cu ape reziduale, pesticide și alte substanțe toxice, și determinarea prejudiciului cauzat resurselor piscicole;

- colectarea materialului cu privire la influența debitelor și regimului hidrologic asupra condițiilor de reproducere și iernare cu scopul determinării regimului și debitelor optimale pe cursurile de apă regularizate;
- organizarea observațiilor ihtiologice la prizele de alimentare cu apă;
- colectarea și generalizarea materialelor statistice a pescuitului industrial/comercial;
- supravegherea asupra regimului de pescuit (mărimile minime legale, procentul pescuitului sub dimensiunile legale, dimensiunile minime a ochiului pe latură, locurile interzise pentru pescuit, termenii, sculele și metodele de pescuit). Elaborarea argumentărilor biologice de îmbunătățire a regimului de pescuit;
- evidența cantitativă și componența specifică a capturilor pescuitului amatoristic/sportiv;
- stabilirea în comun cu instituțiile științifice a productivității piscicole naturale (lacurile de acumulare Dubăsari, Cuciurgan, Costești-Stânca, lacurile Beleu și Manta ș.a.) și a formulelor de populare adecvate pentru valorificarea potențialului productiv a acestor ecosisteme.

În lumina acestor sarcini se realiza protecția resurselor piscicole și altor organisme acvatice animale sau vegetale și supravegherea respectării regulilor pescuitului. Se desfășurau lucrări pentru asigurarea reproducerii resurselor piscicole (reproducerea artificială, natural-dirijată, aclimatizarea și ameliorarea piscicolă a bazinelor, salvarea puietului, valorificarea piscicolă a lacurilor de acumulare, supravegherea funcționării instalațiilor pentru protecția peștilor la prizele de alimentare cu apă, extinderea suprafețelor existente și crearea suprafețelor noi pentru reproducerea naturală a peștilor în lacurile de acumulare Dubăsari, Cuciurgan, Costești-Stânca, Manta, Beleu ș.a.).

Luând în considerație condițiile hidrologice deosebite în golful Goieni și amplasarea lui față de l.a. Dubăsari, în a. 1972 la recomandarea Inspectoratului Piscicol de Stat, Institutului de Zoologie și Stațiunii de Cercetări în Domeniul Pisciculturii s-a creat rezervația științifică „Golful Goieni" (în prezent „Iagorlâc").

Anual, după a. 1969, în l.a. Dubăsari, golful Goieni și lacurile Manta (după a. 1992 și în l.a. Costești-Stânca) Inspectoratul Piscicol de Stat, în comun cu instituțiile științifice și întreprinderile piscicole instalau cuiburi artificiale pentru depunerea icrelor. Trebuie remarcat faptul că în perioada aa. 1978-1990, eficacitatea cuiburilor artificiale pentru depunerea icrelor instalate numai în lacul de acumulare Dubăsari, anual, constituia 19,4 tone producție piscicolă.

În golful Goieni, începând cu a. 1969 a funcționat centrul de reproducere artificială și dirijată a speciilor valoroase (șalău, plătică, știucă, crap), alevinii și puietul cărora era populat în lacul de acumulare Dubăsari. În vederea sporirii productivității piscicole naturale în lacul de acumulare Costești-Stânca în a. 2000 a fost creat un asemenea centru, însă din cauza abordării superficiale a acestei activități de către autoritatea centrală abilitată cu gestiunea resurselor naturale și protecția mediului a funcționat doar până în a. 2008 și cu mult sub capacitatea de proiectare.

De asemenea, anual, lacurile de acumulare Dubăsari, Cuciurgan și Costești-Stânca, erau populate cu puiet de specii valoroase în formule (cantitativ și calitativ) recomandate de instituțiile științifice.

În cursurile inferioare ale fl. Nistru și r. Prut, în zonele inundabile se desfășurau lucrări de curățare, de colmatare și adâncire a gârlelor și canalelor colmatate pentru asigurarea migrării puietului în cursurile de apă.

Prin Legea nr. 185 din 21.09.17 pentru modificarea și completarea unor acte legislative Serviciul Piscicol a fost desființat iar obligațiile și drepturile care i-au fost atribuite s-au repartizat între Inspectoratul pentru Protecția Mediului și Agenția de Mediu. Această modificare a Legii nr. 149 din 08.06.2006, precum și următoarele care s-au produs în perioada aa. 2017-2021 au dus la degradarea și mai profundă a instituției protecției resurselor biologice acvatice.

De menționat că aceste circumstanțe de erodare legislativă, precum și lipsa evidenței și evaluării stării resurselor piscicole din partea Ministerului Mediului nu pot garanta conservarea biodiversității și menținerea echilibrului biologic în ecosistemele acvatice naturale.

Concluzii

1. Măsurile de reglementare a pescuitului care s-au aplicat de-a lungul anilor în bazinele piscicole naturale nu au fost întotdeauna eficiente – fie prin organizarea defectuoasă a exploatării resurselor piscicole (suprapescuitul speciilor economic valoroase, lipsa evidenței pescuitului (în ultimii 7-8 ani nu se duce nici o evidență), nerespectarea regimului de pescuit, neevaluarea stării resurselor piscicole, ineficacitatea măsurilor ameliorativ-piscicole (în ultimii 10-12 ani nu s-a efectuat nici o măsură, cu excepția unor populări în

formule cantitativ-calitativ neargumentate ştiinţific) ş.a., sau prin imperfecţiunea cadrului legislativ-normativ, şi în multe cazuri, şi din incompetenţa organelor pentru protecţia resurselor piscicole care a rămas fără specialişti calificaţi (prin legea nr. 185 din 21.09.17 Serviciul Piscicol a fost desfiinţat iar obligaţiile lui au fost delegate Inspectoratului pentru Protecţia Mediului şi Agenţiei de Mediu în structurile cărora nu sunt prevăzuţi specialişti calificaţi (ihtiologi, hidrobiologi)).

2. Exploatarea resurselor piscicole naturale (autorizarea şi evidenţa pescuitului, stabilirea şi atribuirea cotelor pentru pescuit, realizarea măsurilor ameliorativ piscicole şi supravegherea respectării actelor normative şi legislaţiei în domeniu) este administrată de către autoritatea centrală abilitată cu gestiunea resurselor naturale şi protecţia mediului (legea nr. 149 din 08.06.2006, art. 33, *alin. (1)*, *lit. a)*), şi legea nr. 1515 din 16.06.1995, art. 15, *lit. c)*) şi de capacităţile şi eficienţa activităţii acestei instituţii publice, în mare parte, depinde starea resurselor biologice acvatice în bazinele piscicole naturale. În acest aspect, luând în consideraţie că resursele piscicole naturale este componentul de mediu care este administrat (evaluarea, autorizarea pescuitului, stabilirea cotelor pentru pescuit, determinarea măsurilor ameliorativ-piscicole) de către autoritatea centrală abilitată cu gestiunea resurselor naturale şi protecţia mediului, în modificările Legii fondului piscicol, pescuitul şi piscicultura nr. 149 din 08.06.2006 trebuie prevăzută crearea în cadrul Inspectoratului pentru Protecţia Mediului a unei subdiviziuni specializate (ihtiologi, hidrobiologi, evaluatori) pentru asigurarea protecţiei resurselor piscicole, reproducerea resurselor piscicole şi desfăşurarea măsurilor ameliorativ piscicole.

Referinţe:

1. CURCĂ Dumitru. Contribuţia unor personalităţi ale medicinii veterinare contemporane savantului Grigore Antipa, la dezvoltarea pisciculturii în România **În: Revista Columna N.** 10, 2017, Academia Română. p. 61-89. ISSN 2285 – 4878.
2. TUDOSE, T. „Tradiţia, promotoare a pescuitului gălăţean” Tipog: Evrica Eurodips, Galaţi, 2015, 573 p. ISBN 978-973-0-19484-5
3. GUCEAC, I., URSU V. Etapele formării legislaţiei ecologice în Republica Moldova: aspecte istorice. În: Revista Naţională de Drept, 2007, nr. 7. p. 24-26.
4. Registrul de Stat al actelor normative. https://www.legis.md/
5. BULAT, Dm. Ihtiofauna Republicii Moldova: ameninţări, tendinţe şi recomandări de reabilitare. Chişinău: Foxtrod, 2017, 343 p.
6. Rapoartele anuale ale Inspectoratului de Stat pentru protecţia şi reproducerea resurselor piscicole şi reglementarea pescuitului aa. 1952, 1955, 1979, 1982, 1983, 1987, 1992, 1993, 1996, 1998, 1999, 2001, 2002, 2003, 2005, 2007.
7. Inspectoratul pentru Protecţia Mediului din Republica Moldova (2020), Anuarul anilor 2019, 2020, 2021, 2022 „Protecţia mediului în Republica Moldova”. http://ipm.gov.md/ro/rapoarte-anuale
8. Antipa Gr. Pescăria şi pescuitul în România, 1916.
9. Decret-Lege privitor la modificarea, completarea şi unificarea dispoziţiunilor din legea asupra pescuitului din 10 octombrie 1896. (MO nr 272 din 23 noiembrie 1939).
10. Legea asupra pescuitului în România din 10 octombrie 1896.
11. Hotărârea guvernului URSS din 25 septembrie a. 1935 „Cu privire la reglementarea pescuitului şi protecţia resurselor piscicole”.
12. Regulile pescuitului în bazinul Mării Negre în limitele teritoriale ale Federaţiei Ruse, Ucrainei şi Republicii Moldova. 1955.
13. Правила рыболовства в бассейне Черного Моря. Утверждены Приказом Министерством рыбного хозяйства СССР от 1 декабря 1969, № 402. Белгород-Днестровск.
14. Правила любительского и спортивного лова рыбы и других водных организмов и растений в западномчерноморском бассейне. Утверждены Приказом начальника бассейнового управления «Запчеррыбвод» 24 октября 1983, № 148. Кишинев.
15. Правила рыболовства в водохранилище Костешты-Стынка. Утверждены Приказом Министерством рыбного хозяйства СССР от 29 июня 1984, № 343.

16. Правила рыболовства в водах реки Дунай и ее придаточной системы в границах СССР. Утверждены Приказом Министерством рыбного хозяйства СССР от 13 ноября 1968, № 362. Белгород-Днестровск.
17. Regulile cu privire la protecția resurselor piscicole și reglementarea pescuitului în bazinele piscicole din Republica Moldova. 1993. Aprobat de Departamentul de Stat pentru protecția Mediului înconjurător 27.01.1993
18. Legea regnului animal nr. 439-XIII din 27.04.1995. „Regulamentul cu privire la protecția resurselor piscicole și reglementarea pescuitului din bazinele piscicole din republică". 1995. MO nr. 62-63 din 09.11.1995, art. nr. 688.
19. Acordul între Guvernul Republicii Moldova și Guvernul României privind cooperarea în domeniul protecției resurselor piscicole și reglementarea pescuitului în r. Prut și în lacul de acumulare Costești-Stânca, 2003.
20. Legea fondului piscicol, pescuitul și piscicultura nr. 149 din 08.06.2006. https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=131203&lang=ro#
21. Природа и закон. (сборник нормативных актов по охране природы и рациональному использованию природных богатств Молдавской ССР. Кишинев, 1970. ст. 535.
22. Сборник руководящих документов органов рыбоохраны. Том 1. Охрана рыбных запасов и регулирование рыболовства, 1974, Москва, с. 436.
23. Рыбоохрана. Сборник документов. Москва «Юридическая литература» 1988, с. 613.

Date despre autori:
Dumitru BULAT, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: bulatdm@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-1134-7176

Nicolae ȘAPTEFRAȚI, cercetător științific, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: nicolae.saptefrati77@gmail.com

Denis BULAT, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: bulat.denis@gmail.com
ORCID: 0000-0003-0591-3960

Gheorghe AVORNIC, doctor habilitat, profesor, Universitatea „Constantin Stere".
E-mail: avornic@yahoo.fr
ORCID: 0000-0002-2673-4331

Prezentat la 05.04.2023

CZU: 629.73:581.9:502.62(478)

OPORTUNITĂȚI DE UTILIZARE ÎN PRACTICĂ A TEHNOLOGIILOR INTELIGENTE ÎN EVALUAREA UNOR VARIABILE BIOLOGICE

Ana BÎRSAN, Veaceslav SPRINCEAN, Ion GANEA
Universitatea de Stat din Moldova

Tehnologiile avansate bazate pe UVA au fost utilizate pentru monitorizarea unor ecositeme naturale și artificiale din aria protejată Rezervația Natural-Cuturală Orheiul Vechi. Analiza unor variabile biologice cu rol hotărâtor în asigurarea sustenabilității ecosistemelor s-a efectuat cu ajutorul camerelor multispectrale. Metodele utilizate au oferit posibilitatea identificării elementelor principale ale zonei studiate și au permis clasificarea acestora în patru clase principale de utilizare/acoperire a terenurilor: 1) teren acoperit cu vegetație spontană (ierburi, arbuşti și arbori), 2) teren agricol cultivat; 3) teren lipsit de vegetaţie; 4) teren cu construcţii. Senzorii multispectrali s-au arătat a fi eficienți în identificarea diferitor componente ale mediului, demonstrând oportunități de utilizare a acestora în menținerea și îmbunătățirea calității serviciilor ecosistemice și utilizarea durabilă a resurselor naturale.

Cuvinte-cheie: *Vehiculele Aeriene fără Pilot, indici de vegetație, arie protejată, monitoring.*

OPPORTUNITIES FOR USE IN PRACTICE OF INTELLIGENT TECHNOLOGIES IN THE EVALUATION OF SOME BIOLOGICAL VARIABLES

Advanced technologies based on UVA were used to monitor some natural and artificial ecosystems in the Orheiul Vechi Natural-Cutural Reserve protected area. The analysis of some biological variables with a decisive role in ensuring the sustainability of ecosystems was carried out with the help of multispectral cameras. The methods used offered the possibility of identifying the main elements of the studied area and allowed their classification into four main classes of land use/coverage: 1) land covered with spontaneous vegetation (grasses, shrubs and trees); 2) cultivated agricultural land; 3) land devoid of vegetation; 4) land with constructions. Multispectral sensors have been shown to be effective in the identification of different components of the environment, showcasing opportunities for their use in the maintenance and improvement of the ecosystem services' quality and the sustainable use of natural resources.

Keywords: *Unmanned Aerial Vehicles, vegetation indices, protected area, monitoring.*

Introducere

Actualmente, tehnologiile moderne atestă o expansiune vertiginoasă, fiind utilizate pe larg în diverse activități umane, oferind un suport informatic solid în luarea deciziilor pentru monitorizarea **și** evaluarea stării ecosistemelor naturale și a celor artificiale [1]. Grație eficienței, rapidității și costului relativ mic de exploatare, acestea sunt utilizate în diverse sfere, inclusiv în gestionarea resurselor ecosistemice, cartografierea terenului, colectarea datelor de mediu, în aplicațiile de cercetare și în aplicațiile directe de conservare a naturii [1, 2]. Tehnologiile avansate au devenit deosebit de utile în agricultură. Astfel, noua paradigmă a dezvoltării durabile în agricultură implică dezvoltarea tehnologiilor imagistice avansate, obținute cu ajutorul dronelor, a roboticii, a senzorilor și a produselor software, fiind puternic dependentă de cunoștințele științifice cu implicarea progresivă a celor din domenii precum *Big Data*, inteligența artificială și a altor ramuri ale științelor informației. În acest sens, managementul agricol inteligent din era ***IoT*** (în engleză: ***Internet of Things*** – Internetul Lucrurilor) combină diverse echipamente avansate și tehnici agricole, agricultura digitală integrând conceptele agriculturii de precizie și ale agriculturii inteligente.

În agricultura de precizie, dronele echipate cu utilaj optoelectronic de înaltă rezoluție reprezintă un instrument revoluționar în obținerea datelor cu referire la creșterea și dezvoltarea plantelor, starea lor fiziologică pe durata perioadei de vegetație și posibilitățile de stimulare a potențialului genetic pentru obținerea unor recolte sporite, prezentând avantaje semnificative datorită capacității de a furniza rapid date precise și detaliate despre starea agrocenozelor. În ultimii ani, acestea tot mai mult sunt implicate în diverse lucrări agricole: însămânțarea terenului, irigarea, fertilizarea, protecția integrată a plantelor etc. Atunci când sunt

combinate cu serviciul de comunicații, care permite automatizarea inteligentă prin integrarea Inteligenței Artificiale, dronele pot fi extrem de utile într-o varietate de aplicații tehnologice, economisind timpul și resursele umane și cele materiale [3].

Dezvoltarea recentă a platformelor de ***Sisteme Aeriene Fără Pilot*** (*Unmanned Aircraft System* - ***UAS***), care integrează ***Vehicule Aeriene Fără Pilot*** (*Unmanned Aerial Vehicle* - **UAV**), numite drone, precum și controlerul fizic, operatorul uman și chiar orice sateliți sau dispozitive de procesare a informației (calculatoare), necesare proceselor avansate, pune la dispoziție instrumente eficiente pentru supravegherea aeriană a culturilor agricole și efectuarea lucrărilor necesare, iar utilizarea imagisticii hiper/multispectrale permite obținerea unor rezultate științifice valoroase, de înaltă precizie datorită diversificării și majorării numărului de teste experimentale efectuate în spațiu și timp real [4]. Astfel, în timp ce agricultura tradițională se bazează pe metode laborioase de cercetare a proceselor fiziologo-biochimice și a trăsăturilor morfologice ale plantelor, care implică eșantionarea manuală și, în unele cazuri, solicită abordări individualizate, ***platformele de teledetecție ale vehiculelor aeriene fără pilot*** (*Unmanned Aerial Vehicle Remote Sensing Platforms* - **UAV-RSP**) [5], echipate cu diferiți senzori, prin care caracteristicile obiectelor analizate se pot identifica, măsura şi analiza fără contact direct, de la distanţă, furnizează date cu rezoluție înaltă și oferă soluții eficiente pentru fenotiparea rapidă, folosind unicitatea reflexiei şi a emisiei luminii.

În ariile protejate, varietatea informațiilor culese cu ajutorul dronelor reprezintă o oportunitate excelentă de a monitoriza integritatea ecologică a ecosistemelor, capacitățile dronelor oferind o alternativă pentru a asista prelevarea de probe cu referire la stuctura și compoziția floristică a zonelor studiate, documentarea monumentelor naturii și siturilor culturale, pentru estimarea şi prognozarea vulnerabilității ariilor protejate și asigurarea explorării durabile a resurselor naturale. În scopul realizării unui studiu prospectiv privind utilizarea tehnologiilor inteligente de monitorizare a ecosistemelor din ariile protejate, s-a cercetat zona localizată la poalele a doi versanți, delimitată de râul Răut, de lângă satul Morovaia, cu un peisaj complex ce se găseşte într-o dinamică accentuată determinată de condiţii naturale și antropice. Zona de studiu reprezentă o parte componentă a Rezervației Cultural-Naturală „Orheiul Vechi”.

Metodologia studiului

Zona protejată cuprinde bunuri de patrimoniu istorico-cultural (situri arheologice, complexe rupestre, complexe de arhitectură vernaculară, obiective etnografice), bunuri de patrimoniu natural (ansambluri geologice şi peisagistice, de floră și faună), suprafețe terestre şi acvatice în care se efectuează valorificarea reglementată a resurselor naturale, se practică activităţi agricole, industriale şi turistice. Segmentul selectat se distinge și prin prezența unor specii de plante invazive de îngrijorare pentru UE. Evaluarea diversității floristice în condiții de teren a fost realizată prin observarea directă (semnalarea vizuală) pe parcursul anilor 2021-2022 [6]. Observaţiile cu ajutorul dronelor asupra ariei luate în studiu au fost efectuate în toamna anului 2022, în luna septembrie, perioadă în care pot fi atestate diferențe semnificative în starea ecosistemelor naturale, cât și în starea ecosistemelor artificiale.

Analiza multispectrală s-a realizat cu ajutorul aparatului de zbor DJI Phantom 4 Multispectral, Sistemul este compus dintr-o dronă (UAV) ce realizează activități de aerofotografiere și filmări aeriene pretabile pentru prelucrarea datelor în vederea obținerii de informații legate de creșterea și sănătatea plantelor, monitorizare de mediu etc. Phantom 4 Multispectral (P4M) include un modul RTK complet integrat care oferă informații de poziție centimetrice în timp real pentru a obține o precizie foarte mare. De asemenea, include un modul GNSS redundant datorită căruia este posibilă menținerea stabilității zborului în locuri cu semnal slab. Drona se adaptează oricărui flux de lucru și se poate conecta în mai multe moduri:

- conectare la stația mobila D-RTK 2 (asemenea unui sistem baza-rover);
- conectare prin protocol NTRIP (Rețeaua de transport RTCM prin Internet Protocol). Se poate folosi sistemul național „Moldpos”. Conexiunea se poate realiza prin 4G (USB dongle), Wi-Fi, OcuSync sau LAN, ceea ce garantează o transmisie de date stabilă și neîntreruptă. Serviciul TimeSync sincronizează continuu controlerul de zbor, camera și modulul RTK, pentru a profita la maxim de modulele de poziționare ale P4M. P4M include o cameră cu 6 senzori 1/2.9. CMOS ce include si RGB. Fiecare cameră are 2.08 MP (Albastru, Verde, Roșu, Roșu-apropiat, Infraroșu-apropiat și RGB). Parametrii camerei sunt: (Red Edge (RE): 730nm (± 16nm) Near Infrared (NIR): 840nm (± 26nm) Green (G): 560nm (± 16nm) Visible Light

(RGB) Red (R): 650nm (±16nm)Blue (B): 450nm (±16nm).

Aparatul de zbor fără pilot UAV deține și senzor de soare integrat pentru rezultate precise. Un senzor spectral de soare integrat pe partea de sus a dronei captează radiația solară, maximizând acuratețea și consistența colectării datelor în diferite momente ale zilei. Combinate cu datele post-procesate, aceste informații permit obținerea celor mai precise valori NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) .

Sistemul DJI TimeSync asigură obținerea datelor de poziție și măsurători precise la centimetri în timp real, pentru fiecare dintre cele șase camere. Sistemul TimeSync aliniază continuu controlerul de zbor, camerele RGB și NB și modulul RTK pentru a se asigura că fiecare fotografie utilizează metadatele cele mai precise și fixează datele de poziție în centrul CMOS. Toate camerele trec printr-un proces de calibrare riguros care măsoară distorsiunea radială și tangențială a lentilei. Parametrii de distorsiune sunt stocați în metadatele fiecărei imagini, astfel încât software-ul (**Pix4Dmapper)** de post-procesare poate fi personalizat pentru fiecare utilizator.

Maparea profesională a imaginilor preluate cu ajutorul dronelor s-a realizat cu software fotogrammetric **Pix4Dmapper,** care transformă imaginile în modele digitale spațiale, atât prin soluții hardware locale, cât și cu ajutorul tehnologiei cloud, datele putând fi exportate în formate standard, salvate în cloud sau partajate cu diferiți colaboratori. Pix4Dmapper procesează date provenite din imagini preluate de la orișice cameră, dronă și orișice tip de imagistică: imagini RGB, imagini dronă, imagini multispectrale, imagini termice, imagini „fisheye”, imagini 360°, videoclipuri.

Rezultate și discuții

Principalele metode, adoptate pentru monitorizarea vegetației prin teledetecție UAV, includ analiza imaginilor, metoda modelului fizic, metoda statistică empirică și metoda avansată de analiză a datelor, cum ar fi învățarea automată [7]. Senzorii selectivi colectează imagini vizibile de înaltă rezoluție pentru modelarea unor indici biologici (suprafeței, înălțimii, biomasei plantelor etc.). Spectroscopia în diapazonul vizibil-infraroșu apropiat este utilizată pentru identificarea stării fiziologice a plantelor; imagistica termică - pentru detectarea stresului hidric; ansamblul de teste pentru ***Detectarea și Măsurarea Luminii - LIDAR*** (***Light Detection and Ranging***) poate fi utilizat pentru a măsura cu mare precizie parametrii biometrici ai plantelor la scară fină [8], iar prelevarea imaginilor ***IR*** (*InfraRed* - infraroșu) și combinarea acestora cu alți indici permite estimarea umidității solului și a parametrilor morfologici ai plantelor [4].

Menționăm că există, încă, o lipsă de validare prin UAV pentru fenotiparea pe terenuri a căror vegetație este constituită dintr-un număr mare de specii/soiuri de plante. În asemenea condiții, acuratețea datelor obținute cu ajutorul teledetecției UAV este redusă, diferențele fiind cauzate de diversitatea culturilor agricole, de specificul anotimpului, de variația condițiilor de mediu, dar și de etapa de vegetație a plantelor. Specificăm că, factorii limitatori pentru fenotiparea câmpului cu UAV includ stabilitatea în spațiu și capacitatea scăzută a UAV-urilor, reglementările stricte ale spațiului aerian, lipsa metodelor de procesare rapidă a datelor și a modelelor pentru estimarea trăsăturilor complexe în diferite condiții de mediu. De asemenea, limitările operaționale și de rezoluție ale senzorilor pentru captarea unei game largi de benzi de lumină la fluctuații a reflectanței creează unele dificultăți în rezolvarea problemelor complexe legate de evaluarea anumitor particularități genetice ale plantelor. Totuși, în unele condiții, datele legate de informațiile spectrale (reflexie, emisie) ale plantelor au demonstrat o acuratețe bună. În opinia cercetătorilor, este de așteptat ca, odată cu avansarea UAV-urilor cu sarcină utilă mai mare, cu parametri de zbor avansați, senzori cu sensibilitate selectivă, metode îmbunătățite de procesare a imaginilor 2D și 3D și reglementări eficiente ale spațiului aerian, va crește și potențialul pentru aplicații mai largi în fenotiparea cu ajutorul UAV [8].

Fenotiparea obținută cu ajutorul aparatelor UAV-RSP include, dar nu se limitează doar la aprecierea trăsăturilor morfologice. Parametrii fiziologo-biochimici: conținutul de clorofilă, activitatea fotosintetică, cantitatea de substanțe minerale și de apă din plante pot fi cuantificate neinvaziv prin măsurarea variațiilor în reflectanță spectrală [9], oferind informații fundamentale pentru aprecierea stării normale a plantelor, dar și cu referire la amplitudinea răspunsului plantelor la stresul abiotic/biotic, cât și la administrarea elementelor minerale. Aceste informații sunt extrem de necesare pentru predicția randamentului plantelor și, respectiv, a ecosistemelor.

Numeroase studii au demonstrat că randamentul culturilor agricole poate fi prezis prin corelarea parametrilor fiziologici ai plantei cu indicii de vegetație, selectați experimental (empiric) și calculați pentru

valori ale reflectanței la diferite lungimi de undă. Este cunoscut faptul că reflecția spectrală a vegetației este dependentă de capacitatea pigmenților clorofilieni de a absorbi selectiv razele solare pentru a realiza procesul de fotosinteză [10]. Deoarece pigmenții clorofilieni prezintă maxime de absorbție în spectrul albastru și roșu și nu absorb în spectrul verde și infraroșu apropiat, reflectanțele în benzile de verde, roșu și infraroșu apropiat sunt utilizate pe scară largă pentru studiul vegetației [11].

Structura vegetaţiei este caracterizată prin poziţia, orientarea, mărimea şi forma elementelor de vegetaţie. Arhitectura structurii vegetale se modifică cu timpul, de la fracţiuni de secunde şi minute, în dependență de acțiunea unor factori (vânt, stres hidric etc.) la sezon (evoluție fenologică, constrângeri de mediu) şi ani (dinamicele ecosistemului). Din acest motiv, alegerea unui indice de vegetație pentru monitorizarea plantelor depinde de scopul și domeniul cercetărilor, dar și de particularitățile biologice ale speciilor, și de stadiul de dezvoltare al plantelor. Menționăm că unii indici, fiind folosiți de sine stătător, oferă suficientă informație pentru monitorizarea plantelor, în cea mai mare parte a sezonului de vegetație. Însă, deoarece ciclul vital al plantelor include mai multe etape distincte, pentru a fi mai informativi, indicii utilizați în monitorizarea plantelor, la diferite etape de dezvoltare, necesită ajustări sau pot fi folosiți în combinație cu alte variabile.

În studiul de față sunt descrise oportunitățile de integrare a dronelor în ariile protejate, fiind prezentată descrierea celor mai informativi indici, utilizați în monitorizarea stării ecosistemelor cu ajutorul UAV.

Din multitudinea de variabile biologice, conținutul de clorofilă reprezintă parametrul cel mai important în evaluarea stărilor fiziologice ale plantelor. Aprecierea performanțelor fotosintetice ale plantelor în baza măsurătorilor de reflectanță cu rezoluție spectrală înaltă a arătat o capacitate puternică de a detecta variațiile fine ale caracteristicilor de absorbție spectrală legate de modificările clorofilei [12-14].

Dintre indicii multispectrali [15], cel mai frecvent utilizat pentru a monitoriza vegetația este ***Indicele Normalizat de Diferenţiere al Vegetaţiei*** (***Normalized Difference Vegetation Index - NDVI***) [16]. Acesta reprezintă raportul normalizat dintre reflectanța măsurată pentru benzile **Roșu** (Red) și **Infraroșu apropiat** (***Near Infrared - NIR***), bazându-se pe principiul absorbției energiei cuantelor de lumină de către moleculele de clorofilă în spectrul roșu și reflexiei acestora în infraroșu. Scara valorilor indicelui este cuprinsă între -1 şi +1. Valorile de la -1 la 0 sunt caracteristice materiei nevii (pietre, drumuri, case, apă, zăpadă etc.), iar intervalul de la 0 la 1 este caracteristic materiei vii. Valorile NDVI mai mici de 0.1 corespund zonelor fără vegetație, valorile cuprinse între 0.2 și 0.3 corespund zonelor cu arbuști si pajisti, valorile cuprinse între 0.6 la 0.8 corespund zonelor acoperite de paduri. La interpretarea indicelui trebuie luată în considerare faza fenologică a plantelor. Bunăoară, în agrocenoze, două câmpuri adiacente cu aceeași cultură, dar care se află în stadii diferite de dezvoltare, vor avea valori NDVI diferite. Valoarea mai mare (mai aproape de +1) se va înregistra la etapa în care se atestă valori maxime ale biomasei verzi a organelor vegetative și este asociată cu o activitate fotosintetică mai înaltă a plantelor. Astfel, bazat pe variația conținutului de clorofilă din frunze, NDVI arată vigoarea plantelor, oferind totodată informații valoroase despre densitatea vegetației și gradul de dezvoltare a acesteia, dar și cu referire la severitatea pierderilor cauzate de factorii stresogeni abiotici și biotici. Cu cât valorile NDVI sunt mai înalte (0.5-0.85), cu atât vegetația este mai sănătoasă. La etapa de senescență valorile scad până la 0.3-0.35, indicând asupra necesității recoltării culturilor.

Indicele de vegetație ajustat la sol (***Soil-Adjusted Vegetation Index - SAVI***) este similar cu NDVI, însă aplică un factor de corecție, ținând cont de luminozitatea solului. SAVI este folosit pentru a elimina efectul de bruiaj cauzat de reflectanța solului [17]. Pentru managementul culturilor este utilizat ***indicele optimizat de vegetație ajustat la sol*** (***Optimized Soil Adjusted Vegetation Index - OSAVI***). În formula sa intervine parametrul ***L***, care este o constantă empirică cu valori de 0, 0.5 sau 1, în funcție de densitatea vegetației. În plantațiile aflate la stadiul inițial de dezvoltare sau în podgorii, în prima jumătate a sezonului, când o bună parte a terenului este dezgolit, acest indice este utilizat pentru a minimaliza influența reflectanței solului. Există mai multe versiuni de SAVI: indicele ajustat la umiditate (***Moisture Adjusted Vegetation Index*** – **MSAVI** [18] și indicele modificat (***Modified Soil Adjusted Vegetation Index - MASAVI2***) [19]. Informațiile valoroase obținute cu ajutorul MSAVI permit selectarea culturilor celor mai potrivite pentru un anumit câmp și contribuie la înțelegerea mai bună a modului de gestionare a culturilor în anumite zone de cultivare. Astfel, la etapele inițiale de creștere a plantelor, **MSAVI** poate fi utilizat pentru a detecta gradul de uniformitate a răsăririi plantelor și pentru a reduce efectul solului asupra calculului densității vegetației,

atunci când fruzele plantelor sunt încă slab dezvoltate. Pe parcursul perioadei de vegetație, când unii indici (NDVI și NDRE) nu prezintă acuratețe suficientă, MSAVI oferă o imagine validă a sănătății culturilor, indicând și asupra stărilor de stres, cauzate de diverși factori (frig, căldură, exces sau lipsă de umiditate, carențe nutritive sau aplicarea incorectă a îngrășămintelor etc). Valorile MSAVI variază de la -1 la +1. Intervalul -1 până la 0,2 indică solul gol; 0,2 până la 0,4 - stadiul de germinare a semințelor; 0,4 până la 0,6 - stadiul de dezvoltare a frunzelor. De subliniat însă că, atunci când vegetația este suficient de densă și acoperă o bună parte a solului, iar valorile depășesc 0,6, se recomandă de a utiliza NDVI. La sfarșitul sezonului, indicele MSAVI poate fi aplicat pentru a aprecia starea de maturitate a culturilor și termenii mai exacți de recoltare.

Pentru estimarea cantității de biomasă [20] este utilizat ***Indicele Îmbunătățit al Vegetației*** (***Enhanced Vegetation Index - EVI***) [21] folosit pentru cuantificarea intensității culorii verzi a vegetației [22]. ***EVI*** este dezvoltat pentru optimizarea semnalului vegetației în zonele cu biomasă abundentă[23-25]. Astfel, în zonele cu densitate mare a plantelor, unde indicele suprafeței frunzelor (LAI) este ridicat, rezultatele indicelui NDVI poate fi optimizat, folosind pe lângă benzile spectrale roșu și infraroșu apropiat și informații din regiunea de reflexie în albastru, pentru a corecta semnalele de fundal ale solului și pentru a reduce efectele atmosferice, inclusiv împrăștierea aerosolilor. Intervalul de valori pentru EVI este de la -1 la +1, unde vegetația sănătoasă se încadrează în intervalul 0,20-0,80 [23,26]. Spre deosebire de Indicele Normalizat de Diferențiere al Vegetației, Indicele Îmbunătățit al Vegetației este influențat mai mult de forma coronamentului, arhitectura și fenotipul plantelor decât de conținutul de clorofilă.

Totuși, o abordare mai potrivită este considerată aprecierea unui alt indice, ***NDSI*** (***Normalized Difference Snow Index***) [27], care permite determinarea speciilor de plante pe baza variației conținutului de pigmenți asimilatori (clorofilieni și carotenoizi) [28]. În plus, o sensibilitate îmbunătățită a imaginilor multispectrale individuale (înainte de a obține un NDSI) poate fi realizată prin efectuarea unei analize statistice preventive a componentelor principale, aplicate adesea în analiza și clasificarea imaginilor pentru a reduce cantitatea de informații nerelevante.

La sfârșitul sezonului de vegetație, începând cu mijlocul sezonului până când plantele se maturizează și sunt gata de a fi recoltate, un alt indice - ***NDRE*** (***Normalized Difference Red Edge***) [15], deosebit de sensibil la concentrația de clorofilă din frunze, este mai indicat pentru analiza stării culturilor. În timp ce NDVI este capabil să măsoare densitatea plantelor și intensitatea culorii verzi în ansamblu pe câmp, în straturile superioare ale plantelor, NDRE este conceput pentru a „vedea” mai profund în coronamentul vegetației. Indicele este reprezentat de o anumită valoare calculată, folosind o combinație între o bandă ***Near-Infra-Red*** (***NIR***) și intervalul **RedEdge** ***(marginea între Roșu vizibil și NIR)*** [26]. Cu ajutorul acestui indice se obțin date cu referire la gradul de maturitate a plantelor, a recoltei, dar și cu referire la gradul de infestare a câmpului. Intervalul de valori se situează între -1 și +1. Valorile mici pozitive indică asupra existenței unor probleme (plante bolnave, plante deteriorate, carențe nutritive etc). Valorile de la -1 până la 0,2 indică un sol gol sau o cultură la etapele inițiale de dezvoltare, de la 0,2 până la 0,6 - plante deteriorate, nesănătoase, stresate, sau plante nemature, de la 0,6 la 1 - plante sănătoase, mature. Diferențele indicelui NDRE pot fi date de o etapă diferită de dezvoltare a plantelor, carența de nutrienți sau de aspectul și starea frunzelor afectate de patogeni. S-a stabilit că, pe măsură ce plantele se maturizează, conținutul lor de clorofilă scade, iar indicele NDRE returnează valori eronate. În mod similar, valorile NDVI devin din ce în ce mai puțin precise din cauza ofilirii plantelor sau căderii frunzelor bătrâne. Aceasta duce la creșterea gradului de dezgolire a solului. În acest caz, se recomandă de utilizat indicele MSAVI, ce furnizează date mai precise despre starea de sănătate a culturilor. Aceste informații sunt deosebit de necesare pentru a interveni într-un mod țintit în evoluția bolii și permit de a ameliora starea plantelor pe întregul câmp, evitând risipa de fitochimicale.

Un bun indicator al eficienței utilizării luminii care estimează concentrația de clorofilă în frunză este ***Indicele de reflectare fotochimică*** (***Photochemical Reflectance Index - PRI***) [29].

Un alt indice, indicele ***Conținutului de Clorofilă al Învelișului Foliar*** (***Canopy Chlorophyll Content Index - CCCI***) măsoară cantitatea de clorofilă din plantă [30], oferind totodată informații despre cantitatea de azot asimilat. Pe măsură ce valoarea acestui indice se reduce, scade și vigoarea plantei [31], prin urmare, este posibil de a estima necesitatea fertilizării și cantitățile exacte de substanțe necesare plantelor, în funcție de calitatea solului [32].

La rândul său, starea clorofilei poate fi monitorizată cu ajutorul indicelui ***CARI (Chlorophyll Absorption Ratio Index)*** care măsoară nivelul de absorbție a clorofilei la lungimea de undă de 670 nm raportat la vârful de reflectanță de verde la 550 nm și reflectanța la 700 nm [33]. Prin simplificarea indicelui CARI s-a obținut indicele modificat ***MCARI (Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index***) sensibil la concentrația de clorofilă și la variația suprafeței frunzelor (LAI). Acest indice nu este influențat nici de nivelul de iluminare, nici de alte variabile nefotosintetice, precum solul [14,33].

Un alt indice, ***Indicele de Vegetație a Diferențelor Normalizate în Verde*** (***Green Normalized Difference Vegetation Index – GNDVI***) [14, 26] folosește banda verde în loc de roșu. Acest indice este similar cu NDVI, însă fiind mai sensibil la concentrația de clorofilă, el se utilizează pentru evaluarea vegetației deteriorate și îmbătrânite, aprecierea nivelului de umiditate și de asimilare a azotului de către plante. Analizat, de preferință, la etapele inițiale ale dezvoltării plantelor și în prima jumătate a sezonului, el permite evaluarea prezenței apei în câmp și a modului în care are loc utilizarea acesteia, oferind informații privitor la necesitatea irigării, precum și a fertilizării câmpului, printr-o distribuție diferențiată în funcție de zonă.

Informații asupra stării apei în învelișul foliar se pot obține prin intermediul ***indicilor WBI*** (***Water Band Index***) și ***WMI*** (***Water Moisture Index***) [34, 35]. Un indicator sensibil al creșterii conținutului de apă al frunzelor este ***Indicele de Stres la Umiditate*** (***Moisture Stress Index - MSI***). Pe măsură ce conținutul de apă din frunze crește, crește și absorbția cuantelor de lumină. MSI folosește canalele NIR și ***Indicele de Vegetație Bazat pe Infraroșu cu Unde Scurte*** (***Short Wave Infrared – SWIR***) [36] pentru a măsura conținutul de apă în plante, pixel cu pixel, cu un algoritm simplu. Aplicațiile MSI includ analiza nivelului de stres, predicția și modelarea productivității, pericolul de incendiu și evaluarea stării ecosistemelor. Valorile acestui indice variază de la 0 la mai mult de 3. Intervalul caracteristic pentru vegetația sănătoasă este de la 0.4 la 2 [15, 38].

Poluarea atmosferei cu diverse particule mărește dispersia radiației, ceea ce modifică semnătura spectrală a acoperirii reale cu vegetație, detectate de senzor. Pentru a reduce aceste efecte, se utilizează ***Indicele Vegetației Rezistent la Atmosferă*** (***Atmospherically Resistant Vegetation Index - ARVI***), care ia în calcul unele efecte ce au loc în atmosferă și folosește în formula sa reflexia în albastru [38]. Rezistența mai bună a ARVI la efectele atmosferice (în comparație cu NDVI) se realizează printr-un proces de autocorecție a efectului atmosferic asupra canalului roșu, folosind diferența de strălucire dintre canalele albastru și roșu pentru a corecta strălucirea în canalul roșu [39].

Nivelul de stres poate fi sesizat printr-o scădere progresivă a reflectanței în domeniul NIR, însoțită de o creștere a acesteia în domeniul SWIR [40]. Astfel, mai mulți cercetători au luat în calcul unele variabile derivate din reflectanța luminii, pentru a selecta genotipurile tolerante la stresul abiotic [41]. Unii cercetători au aplicat particularitățile imagisticii multispectrale derivate, cu ajutorul UAV, pentru fenotiparea precisă și rapidă a dinamicii creșterii grâului, iar spectrele indicilor de clorofilă au fost utilizate ca indicatori inteligenți la diferențierea gradului de senescență a genotipurilor expuse la secetă și la stresul termic [9]. S-a demonstrat că, în comparație cu colectarea manuală de date, metoda bazată pe imagini UAV este fezabilă, convenabilă, avansată din punct de vedere tehnologic, mai ieftină din punct de vedere economic și cu mai bune perspective de aplicare pe scară largă, spre exemplu, pentru evaluarea uniformității plantațiilor [41]. De asemenea, datele de reflectantă spectrală provenite din imaginile UAV sunt un instrument valoros pentru monitorizarea nutriției plantelor, tendințele de reducere a aplicării îngrășămintelor pe bază de azot în agricultura ecologică, aducând beneficii atât economice, cât și de mediu. S-a stabilit că, utilizând senzori spectrali multifuncționali se poate evalua în mod adecvat distribuția spațială a azotului.

UAV-urile sunt frecvent folosite pentru monitorizarea plantațiilor de pe terenurile deluroase, mai greu accesibile. În livezi și podgorii, dronele au fost utilizate în scopul analizei indicilor solului, problemelor de combatere integrată a dăunătorilor, diferențelor de maturitate a fructelor [42, 43].

Există o gamă largă de senzori pentru monitorizarea ecosistemelor forestiere cu ajutorul UAV, dintre care cei mai des întâlniți sunt RGB, receptorii multispectrali și hiperspectrali. Totuși, din cauza rezoluției lor spectrale scăzute, senzorii RGB sunt nepotriviți pentru a monitoriza diversitatea floristică a pădurilor, în timp ce senzorii cu bandă largă de sensibilitate nu permit monitorizarea pe termen lung a acestora [44], dar în prezent, se atestă o creștere exponențială de utilizare a senzorilor cu bandă supra largă de sensibilitate pentru recunoașterea speciilor [3, 29-32], în special, pentru determinarea speciilor dominante etc. Determinarea

structurii și a compoziției pădurilor prin teledetecție se bazează pe principiul individualității profilului spectral al fiecărei specii de arbori. Senzorii (camera RGB), permit măsurarea răspunsului spectral unei anumite specii de arbori și al unui arbore particular într-un interval specific de lungimi de undă a radiației electromagnetice de la 400 nm până la 760 nm. Discriminarea speciilor de arbori se realizează în baza diferențelor spectrelor de reflexie difuză/emisie luminiscentă al fiecărui copac în parte. Astfel, imaginile UAS cu rezoluție spațială de ordinul unităților de centimetru sunt foarte promițătoare pentru discriminarea speciilor forestiere [43]. Este cunoscut faptul că fenologia arborilor variază în funcție de numeroși factori care interacționează, inclusiv condițiile ecologice, microclimatul sau starea fiziologică a arborelui. Astfel de diferențe sunt mai pronunțate la momentul înfrunzirii, înfloririi și fructificării, sau a colorării frunzișului, la etapa de senescență [34, 44]. Particularitățile caracteristicilor spectrale și tehnologice caracteristice diferitor spectre de arbori sunt factorii care permit diferențierea categoriilor de arbori [45]. Cu toate acestea, pentru a obține imagini integrale, imagistica hiperspectrală necesită utilizarea multor sute de benzi spectrale, fapt care este greu de realizat din punct de vedere computațional, solicită mult timp, resurse de calcul vaste și experiență practică pentru a interpreta datele. Cei mai promițători senzori UAV sunt senzorii multispectrali, cu care se pot obține imagini pe diferite benzi spectrale din regiunea vizibilă și *NIR* cu rezoluție spectrală satisfăcătoare aplicabilă pentru monitorizarea ecosistemelor [27].

Monitorizarea patrimoniului cultural-natural reprezintă condiţia de bază a conservării Rezervaţiei Natural - Culturale „Orheiul Vechi”. Din aceste considerente, identificarea modalităților de monitorizare a ariei protejate cu ajutorul tehnologiilor avansate, bazate pe UAV, reprezintă o abordare inovativă, iar argumentele prezentate în studiul de față vin întru susținerea posibilității utilizării în acest scop a indicilor descriși mai sus. Menționăm că informațiile obținute cu ajutorul teledetecției referitor la structura și compoziția floristică sunt extrem de valoroase pentru inventarul ariilor protejate, din interacțiunea componentelor biotice și abiotice, în mare măsură, rezultând multe alte caracteristici ale ecosistemelor. În opinia unor autori, din perspectivă ecologică, analiza relaţiei dintre acoperirea terenurilor constituie punctul cheie pentru monitorizarea, în general, a stării ecosistemelor şi, în special, a celor din cadrul zonelor protejate, eterogene şi supuse presiunii antropice [46].

Cercetările efectuate de noi cu referire la analiza particularităților spectrale ale vegetației s-au realizat la etapa de senescență, atunci când fenologia plantelor variază semnificativ, datorită colorării frunzișului, diferențele fiind mai pronunțate, ceea ce permite diferențierea categoriilor de plante și a stării lor de sănătate. În afară de evidențierea prezenței și a starii vegetației, datele multispectrale obținute în infraroșu apropiat au oferit posibilitatea identificării și a altor elemente principale ale zonei: drumuri, case de locuit etc. și au permis clasificarea acestora în patru clase principale de utilizare/acoperire a terenurilor: 1) teren acoperit cu vegetație spontană (ierburi, arbuşti și arbori), 2) teren agricol cultivat; 3) teren lipsit de vegetaţie; 4) teren cu construcții.

Metoda utilizată de teledetecție a permis evidențierea suprafețelor acoperite cu vegetație atât în localitate, dar și din apropierea localității, în spațiile ocupate de vegetația spontană, cât și pe terenurile agricole. Din date de teledetecţie se pot extrage parametri biofizici, biologici sau structurali ai vegetaţiei. Astfel, după cum era de așteptat, în baza gradului de reflexie a radiației electromagnetice, compararea imaginilor A și B, redate în Figura 1, denotă prezența plantelor cu grad diferit de vitalitate. Nuanțele luminoase de gri deschis spre alb, în imaginea B, atestă existența unor specii de plante cu un coronament bine dezvoltat, o biomasă abundentă și un conținut de clorofilă sporit.

Figura 1. Determinarea stării de sănătate a plantelor cu ajutorul aparatului multispectral *(***A** – *imagini prelevate cu camera RGB* ***și*** **B** – *imagini prelevate cu camera NIR).*

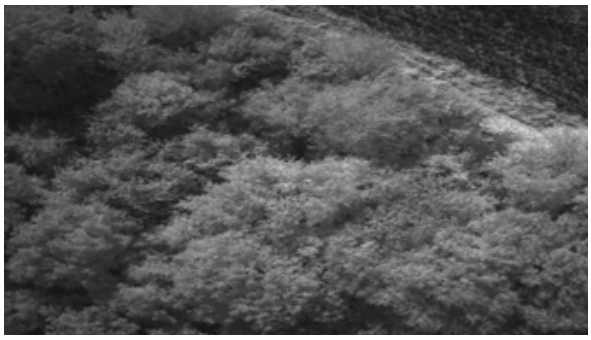
A **B**

Totuși, analiza imagistică cu camera NIR (Figura 2) nu a permis stabilirea unor diferențe notabile între arborii din fâșia de pădure, din apropierea satului, nici pe terenul agricol cultivat cu porumb. Astfel, imaginea B din Fig. 2 demonstrează o omogenitate mare a nuanțelor atat pentru arborii cu frunzișul îngălbenit, cât și pentru cei cu coroana verde, dar și o omogenitate înaltă a nuanței de gri întunecat în lanul de porumb. În același timp, analiza gradientului nuanței de gri a permis de a evidenția gradul mai înalt de senescență a culturii agricole în comparație cu arborii din fâșia forestieră, nuanța de gri întunecat fiind datorată gradului de maturitate mai avansat al vegetației.

Figura 2. Fenotiparea speciilor din ecosistemele naturale și artificiale cu aparatul multispectral *(***A** *– imagini prelevate cu camera RGB* ***și*** **B** *– imagini prelevate cu camera NIR).*

A

B



Indicele NDVI și NIR (Figura 3, 4) a pus în evidență valori mai mici redate prin culoarea roșie mai accentuată pentru construcțiile prezente în zonă, drumuri, poteci, cărări etc. Pe terenurile agricole, vegetația ilustrează zone cu un NDVI diferit. Zonele marcate cu roșu denotă un NDVI foarte scăzut, ceea ce indică asupra prezenței unor probleme determinate fie de maturarea neuniformă a plantelor în agrocenoză.

Figura 3. Determinarea indicelui NDVI cu ajutorul camerei multispectrale a aparatului de zbor DJI Phantom 4.

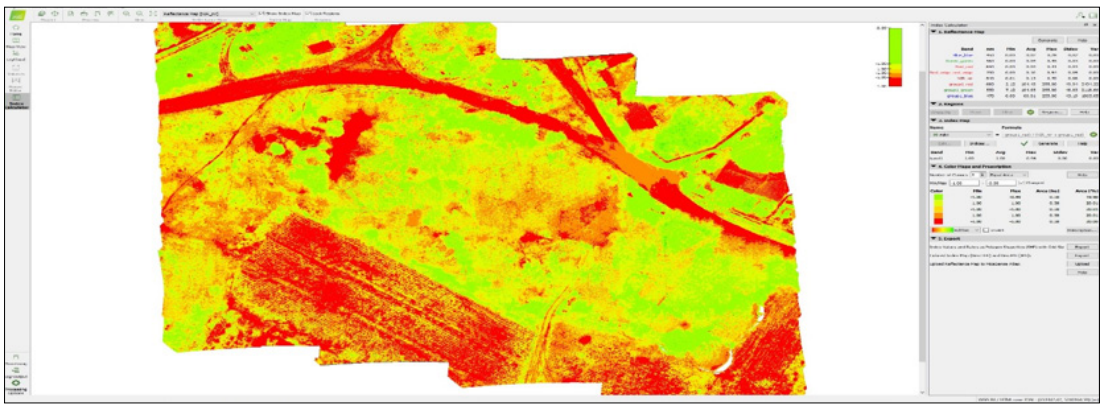
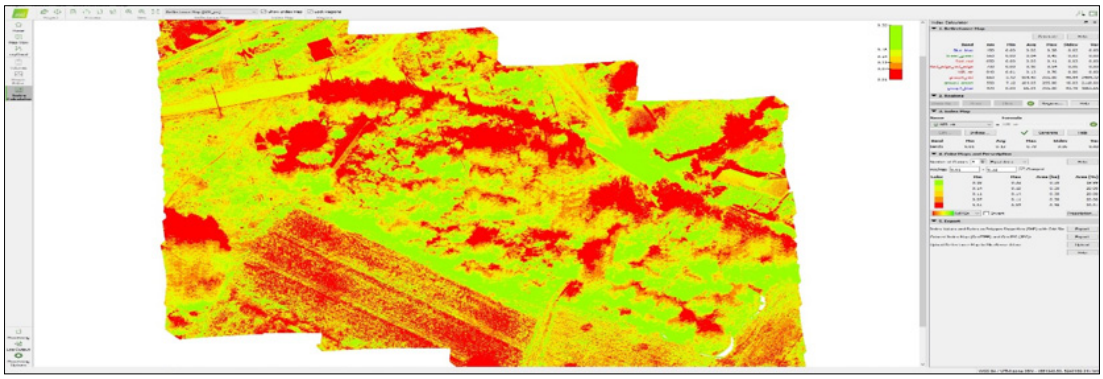


Figura 4. Imagine NIR.



Astfel, metodologia utilizată a permis evidențierea distinctă a elementelor de bază a zonei studiate, identificarea prezenței învelișului vegetal și a suprafețelor acoperite cu vegetație, evidențierea vitalității plantelor în agrocenoze și în flora spontană, datele colectate la moment însă nu au fost suficiente pentru discriminarea speciilor de plante. Aceasta indică asupra faptului că este necesar de a identifica metode mai potrivite pentru clasificarea speciilor de plante în plantațiile forestiere și în agrocenoze, spre exemplu, metoda de procesare a imaginilor multispectrale cu utilizarea algoritmului NDSI.

Concluzii

Tehnologiile avansate de teledetecție pe teren, alături de metodele și procedeele tradiționale de colectare a datelor evaluate prin observație și analiză directă, sunt de un real ajutor, în special, pentru rezolvarea problemelor ecosistemelor naturale și artificiale ce țin de protecția mediului și de conservarea biodiversității. Utilizarea dronelor în monitorizarea ecosistemelor oferă numeroase beneficii, contribuind la gestionarea eficientă a resurselor ecosistemice, la identificarea și soluționarea în timp util a problemelor legate de mediu, la dezvoltarea durabilă și sustenabilă a agriculturii, ca rezultat al monitorizării stării de sănătate a plantelor etc. Avantajele utilizării acestor tehnologii rezultă în economisirea resurselor umane, materiale, de cost, de timp etc.

Indicii descriși, fiecare în parte, oferă o anumită informație relevantă, însă pentru a obține cunoștințele cuprinzătoare este necesară o abordare holistică în care întregul este mai mare decât suma factorilor. Pentru a facilita procesarea datelor este necesară identificarea unui set de indici, gruparea acestora, ceea ce ar permite obținerea informațiilor suplimentare, mai complete și exacte referitor la variabilele obținute pentru fiecare parametru investigat și analiza diferențiată a variabilelor studiate, inclusiv identificarea și eliminarea datelor incomplete sau eronate.

Analiza informațiilor oferite de seturile de indici, obținute cu ajutorul tehnologiilor inteligente, oferă posibilitatea de pătrundere în esența lucrurilor, surprindere și înțelegere în profunzime a problemelor studiate - capacitate definită ca ***perspicacitate.*** Aceasta permite cercetătorilor, agricultorilor, autorităților să adapteze strategiile de dezvoltare la noile condiții, abordând problemele majore ale societății asociate cu sustenabilitatea mediului, bunăstarea socială și dezvoltarea economică.

Referințe:

1. SANDBROOK, C. The social implications of using drones for biodiversity conservation. In: Ambio, 2015, Nr. 44 Suppl 4, p. 636-47. DOI: 10.1007/s13280-015-0714-0.
2. DÍAZ-DELGADO, R., MÜCHER S. Editorial of Special Issue Drones for Biodiversity Conservation and Ecological Monitoring. In: Drones, 2019, 3(2):47. https://doi.org/10.3390/drones3020047
3. GALLEGO-MADRID J., MOLINA-ZARCA, A., SANCHEZ-IBORRA, R., BERNAL-BERNABE, J., SANTA, J., RUIZ, P. M., SKARMETA-GÓMEZ, A. F. Enhancing Extensive and Remote LoRa Deployments through MEC-Powered Drone Gateways. In: Sensors, 2020, Nr. 20(15), p. 4109. doi: 10.3390/s20154109.
4. YANG, G., et al. Unmanned Aerial Vehicle Remote Sensing for Field-Based Crop Phenotyping: Current Status and Perspectives. In: Frontiers in Plant Science, 2017, Vol. 8. DOI: 10.3389/fpls.2017.01111. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.01111.
5. SANTAFE SANZ, F. J. Comprobación de requisitos alimentarios en campo mediante análisis de imágenes, p. 56. https://academica-e.unavarra.es/xmlui/bitstream/handle/2454/30736/TFM%20Fco %20Santafe%202017.pdf?sequence=1&isAllowed=y
6. BÎRSAN, A. Specii de plante alogene invazive şi potenţial invazive în rezervaţia cultural-naturală „Orheiul Vechi”. În: Studia Universitatis Moldaviae, 2022, nr. 6(156), p. 64-71. ISSN 1814-3237 ISSN online 1857-498X. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.7442419
7. YANG, M. et al. Assessment of Water and Nitrogen Use Efficiencies Through UAV-Based Multispectral Phenotyping in Winter Wheat in Sec. In: Technical Advances in Plant Science. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00927. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.00927/full
8. WALLACE, L., LUCIEER, A., WATSON, C., TURNER, D. Development of a UAV-LiDAR System with Application to Forest Inventory. In: Remote Sensing. 2012. nr. 4(6), p. 1519-1543. https://doi.org/10.3390/rs4061519

9. HASSAN, M.A, YANG, M., RASHEED, A., TIAN, X., REYNOLDS, M., XIA, X., XIAO, Y., HE, Z. Quantifying senescence in bread wheat using multispectral imaging from an unmanned aerial vehicle and QTL mapping. In: Plant Physiol, 2021, Nr. 187(4), p. 2623-2636. DOI: 10.1093/plphys/kiab431.
10. MERTON, R. N. Monitoring community hysteresis using spectral shift analysis and the red-edge vegetation stress index, 1998. NASA, Jet Propulsion laboratory, Pasadena, California, 12 p.
11. BERNARD, J-Ph. Indices de teledetection et agronomie. Application de la télédétection pour la réalisation de diagnostics agronomiques sur peuplement végétal, 2016, 16 p. https://opera-connaissances.chambres-agriculture.fr/doc_num.php?explnum_id=145896
12. DELEGIDO, J., VERGARA, C., VERRELST, J., GANDÍA, S., MORENO, J . Remote Estimation of Crop Chlorophyll Content by Means of High-Spectral-Resolution Reflectance Techniques. In: Agronomy journal, 2011, Vol. 103, Issue 6, p. 1834-1842. https://doi.org/10.2134/agronj 2011.0101
13. ROUSE, J. W., HAAS, R. H., SCHELL, J. A., DEERING, D.W. Monitoring Vegetation Systems in the Great Plains with ERTS (Earth Resources Technology Satellite). Proceedings of 3rd Earth Resources Technology Satellite Symposium, Greenbelt, 1973, 10-14 December, SP-351, p. 309-317.
14. LUCULESCU, M. C. Aplicații ale sistemelor mecatronice avansate în agricultură, industrie și medicină. TEZĂ DE ABILITARE. BRAŞOV, 2017, 129 p. https://www.unitbv.ro/documente/cercetare/doctorat-postdoctorat/abilitare/teze-de-abilitare/luculescu-marius/05-Luculescu-Teza_abilitare_RO.pdf
15. Index DataBase. http://www.indexdatabase.de/db/i-single.php?id=48
16. PIROTTI, F. Corso di Telerilevamento e Sistemi Informativi Territoriali, Padova, 2019, 16 p.
17. RONDEAUX, G., RONDEAUX, S., BARET, M., BARET, F. (1996). Optimization of Soil-Adjusted Vegetation Indices. In: Remote Sensing of Environment, 1996, nr. 55, p. 95-107. DOI: 10.1016/0034-4257(95)00186-7.
18. ZHU, G., JU, W., CHEN, J. M., LIU, Y. A novel moisture adjusted vegetation index (MAVI) to reduce background reflectance and topographical effects on LAI retrieval. In: PLoS One, 2014, Nr. 15; 9(7):e102560. DOI: 10.1371/journal.pone.0102560.
19. VERMOTE, E., JUSTICE, C., CLAVERIE, M., FRANCH, B. Preliminary analysis of the performance of the Landsat 8/OLI land surface reflectance product. In: Remote Sensing of Environment, 2016, nr. 185, 46-56.
20. ScienceDirect. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1470160X18 30 4692.
21. USGS: Science for a changing world. https://www.usgs.gov/landsat-missions/landsat-enhanced-vegetation-index
22. AHMED, S., NICHOLSON, C. E., MUTO, P., PERRY, J. J., DEAN, J. R. Applied aerial spectroscopy: A case study on remote sensing of an ancient and semi-natural woodland. In: PLoS One, 2021, Nr. 16(11):e0260056. DOI: 10.1371/journal.pone.0260056.
23. HUETE, A., DIDAN, K., MIURA,T., RODRIGUEZ, E. P., GAO,X., FERREIRA, L. G. Overview of the radiometric and biophysical performance of the MODIS vegetation indices. In: Remote Sensing of Environment, 2002, Vol. 83, Issues 1–2, 2002, p. 195-213, https://doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00096-2 (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034425702000962)
24. HUETE, A., Christopher Justice, and Huiqing Liu. Development of vegetation and soil indices for MODIS-EOS. In: Remote Sensing of Environment, 1994, nr. 49(3), p. 224–234.
25. MATSUSHITA, B.; YANG, W.; CHEN, J.; ONDA, Y.; QIU, G. Sensitivity of the Enhanced Vegetation Index (EVI) and Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) to Topographic Effects: A Case Study in High-density Cypress Forest. In: Sensors. 2007, nr. 7, p. 2636-2651. https://doi.org/10.3390/s7112636 2.
26. Soft Farm. Vegetation indices NDVI, EVI, GNDVI, CVI, True color. https://www.soft.farm/en/blog/vegetation-indices-ndvi-evi-gndvi-cvi-true-color-140.
27. EOS DATA ANALYTICS. https://eos.com/make-an-analysis/ndsi/
28. National Snow and Ice Data Center. https://nsidc.org/data/user-resources/help-center/what-ndsi-snow-cover-and-how-does-it-compare-fsc
29. ROSSINI, M. et al. Discriminating Irrigated and Rainfed Maize with Diurnal Fluorescence and Canopy Temperature Airborne Maps. In: ISPRS International Journal of Geo-Information, 2015, Vol. 4, p. 626-646. DOI: 10.3390/ijgi4020626.
30. PENG, Y., NGUY-ROBERTSON, A., ARKEBAUER, T., GITELSON, A. Assessment of Canopy Chlorophyll

Content Retrieval in Maize and Soybean: Implications of Hysteresis on the Development of Generic Algorithms. In: Remote Sensing, 2017, nr. 9(3):226. https://doi.org/10.3390/rs9030226
31. CAMMARANO, D., et al. Remote estimation of chlorophyll on two wheat cultivars in two rainfed environments. In: Crop and Pasture Science, 2011, Nr. 62, 267-275. DOI:10.1071/CP10100.
32. FITZGERALD, G.J., RODRIGUEZ, D., O'LEARY, G. Measuring and predicting canopy nitrogen nutrition in wheat using a spectral index—The canopy chlorophyll content index (CCCI). In: Field Crops Research, 2010, nr. 116(3), p. 318-324.
33. KOBAYASHI, N., TANI, H., WANG, X., SONOBE, R. Crop classification using spectral indices derived from Sentinel-2A imagery, In: Journal of Information and Telecommunication, 2020, Nr. 4:1, p. 67-90. https://doi.org/10.1080/24751839.2019.1694765
34. GIANQUINTO, G., ORSINI, F., PENNISI, G., BONA, S. Sources of Variation in Assessing Canopy Reflectance of Processing Tomato by Means of Multispectral Radiometry. In: Sensors, 2019, Nr. 19(21):4730. DOI: 10.3390/s19214730.
35. HUNT, Jr., RAYMOND, R., BARRETT, N. Detection of changes in leaf water content using Near- and Middle-Infrared reflectances. In: Journal Remote Sensing of Environment, 1989, Vol. 30, Issue 1, p. 43-54. DOI:10.1016/0034-4257(89)90046-1. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0034425789900461
36. KUMAR, S., ARYA, S., JAIN, K. A SWIR-based vegetation index for change detection in land cover using multi-temporal Landsat satellite dataset. In: International Journal of Information Technology, 2022, Nr. 14, p. 2035–2048. https://doi.org/10.1007/s41870-021-00797-6
37. ELHAG, M., BAHRAWI, J. Soil salinity mapping and hydrological drought indices assessment in arid environments based on remote sensing techniques. In: Geoscientific Instrumentation, Methods and Data Systems, 2017, Nr. 6, p. 149-158. DOI: 10.5194/gi-6-149-2017.
38. KAUFMAN, Y. J., TANRE, T. Atmospherically resistant vegetation index (ARVI) for EOS-MODIS. In: IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing, 1992, vol. 30, no. 2, p. 261-270. DOI: 10.1109/36.134076.
39. Scuola di Agraria Medicina Veterinaria. Corso di Telerilevamento e Sistemi Informativi Territoriali. https://samv.elearning.unipd.it/pluginfile.php/157981/mod_resource/ content/2/03_ indici _16Ottobre2019.pdf
40. AFANAS, D. Implementarea dronelor în agricultura de precizie. Recomandări de politici. Chișinău. 2022, 36 p. http://viitorul.org/files/library/Agricultura%20de%20precizie.%20Recomand%C4%83 ri %20de%20politici.pdf
41. CHEN, X., TANG, J., LAO, S. Review of Unmanned Aerial Vehicle Swarm Communication Architectures and Routing Protocols. In: Applied Sciences, 2020, vol. 10(10), p. 3661. https://doi.org/10.3390/app10103661
42. CATUREGLI, L., CORNIGLIA, M., GAETANI, M., et al. Unmanned Aerial Vehicle to Estimate Nitrogen Status of Turfgrasses. In: PLoS One, 2016, Nr. 11(6):e0158268. DOI: 10.1371/journal.pone.0158268..
43. DAPONTE, P., PALADI, F., BULIMAGA, T. Educație pentru drone. Suport de curs. Chișinău: CEP-USM, 2019, 330p.
44. LA VIGNE, H., CHARRON, G., RACHIELE-TREMBLAY, J., RANCOURT, D., NYBERG, B., DESBIENS, A. Collecting critically endangered cliff plants using a drone-based sampling manipulator. Sci Rep, 2022.
45. LISEIN, J., MICHEZ, A., CLAESSENS, H., LEJEUNE, P. Discrimination of Deciduous Tree Species from Time Series of Unmanned Aerial System Imagery. In: PLoS One, 2015 Nov 24;10(11):e0141006. DOI: 10.1371/journal.pone.0141006..
46. VOROVENCII, I. Identificarea, evaluarea şi monitorizarea schimbărilor din mediul înconjurător folosind metode ale teledetecţiei satelitare. Teză de abilitare, Braşov, 2015, 115 p.

Date despre autori:
Ana BÎRSAN, doctor în științe biologice, conferenţiar universitar, Facultatea de Biologie şi Geoştiinţe, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: birsanana@mail.ru
ORCID: 0000-0003-1696-080X

Veaceslav SPRINCEAN, doctor în științe fizice, confențiar universitar, Facultatea de Fizică și Inginerie, șeful Oficiului de Educație pentru Drone.
E-mail: sprincean@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6719-7387

Ion GANEA, doctorand, Școala Doctorală de Matematică și Știința Informației, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: iganea9@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9346-2575

Notă: *Articol elaborat în cadrul proiectului din cadrul Programul de Stat (2020-2023) „Tehnologii fizice avansate cu aplicarea UVS în monitorizarea și modelarea factorilor de mediu”, Cifrul 20.80009.7007.05.*

Prezentat la 06.04.2023

CZU:635.64:581.148.5:631.53.026

PROGNOZAREA LONGEVITĂȚII MOSTRELOR DIN COLECȚIA DE TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) PRIN UTILIZAREA TESTULUI DE ÎMBĂTRÂNIRE ACCELERATĂ A SEMINȚELOR ȘI DETERMINAREA POTENȚIALULUI LOR DE PĂSTRARE PENTRU CONSERVAREA *EX SITU*

Liudmila CORLĂTEANU, Victoria MIHĂILĂ, Lolita MELIAN, Anatolie GANEA
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova

Articolul este dedicat analizei eficacității metodei de îmbătrânire accelerată (ÎA) a semințelor pentru evaluarea rezistenței mostrelor din colecția de tomate și determinării longevității acestora în timpul conservării *ex situ* în colecțiile active ale Băncii de gene vegetale. Utilizarea acestei metode, care constă în incubarea semințelor la temperatura și umiditatea aerului înalte, permite de a modela adecvat acțiunea factorilor nefavorabili ai mediului și a prognoza influența lor asupra rezistenței semințelor. După diferiți parametri morfo-fiziologici ai semințelor și germenilor (energia germinativă și capacitatea de germinare a semințelor, lungimea rădăcinițelor, biomasa uscată și proaspătă a rădăcinițelor, scurgerea electroliților din semințe) a fost determinat potențialul de păstrare (PP) a semințelor pentru conservarea lor pe termen mediu, adică s-a efectuat gradarea după acest indice complex important. Rezultatele obținute demonstrează faptul că testul privind ÎA a semințelor permite a aprecia diferențele de rezistență între diverse soiuri ale speciilor valoroase de culturi agricole.

Cuvinte-cheie: *semințe, tomate, îmbătrânirea accelerată, energia germinativă, germinația, scurgerea electroliților, potențialul de păstrare.*

DETERMINATION OF THE LONGEVITY OF COLLECTION SAMPLES OFTOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) USING THE ACCELERATED SEEDAGEING TEST AND ASSESSMENT OF THEIR STORAGE POTENTIAL FOR *EX SITU* COSERVATION

The article is dedicated to the analysis of the effectiveness of the accelerated aging method (AA) of seeds for assessing the stability of tomato collection specimens and determining their longevity during *ex situ* conservation in active collections of the plant genetic bank. The use of this method, which consists in the incubation of seeds under increased temperature and air humidity, allows adequately modeling the impact of unfavorable environmental factors and predicting their effect on seed resistance. The storage potential (SP) of seeds for their medium-term storage in the plant genetic bank was determined according to various morphophysiological parameters of tomato seeds and seedlings (germination energy and seed germination, root length, dry and wet root biomass, electrolyte yield). Tomato varieties with high and medium storage potential were identified, i.e. gradation was carried out according to this important complex indicator. The obtained results indicate that the accelerated seed ageing test allows to assess differences in resistance between different varieties of important crop species.

Keywords: *seeds, tomato, accelerated ageing, germination energy, germination, electrolyte yield, storage potential.*

Introducere

Longevitatea semințelor plantelor agricole depinde nu numai de condițiile de depozitare, ci și de germinația lor inițială, dimensiunea, gradul de coacere, condițiile climatice de cultivare, prezența sau absența agenților patogeni, caracteristicile speciilor și alți factori care nu pot fi întotdeauna luați în considerare în timpul depozitării. Reieșind din aceasta, în Băncile de gene se acordă o mare atenție metodelor de prognozare a longevității semințelor cu ajutorul cărora poate fi determinată capacitatea lor de păstrare fără diminuarea germinației [1, 2, 3]. Cea mai răspândită este metoda îmbătrânirii accelerate a semințelor

(Hampton, TeCrony) [4] care reprezintă în esență un proces de accelerare artificială a îmbătrânirii semințelor prin incubarea lor la temperatură supraoptimală și umiditate relativă sporită pe un termen bine stabilit. Posibilitatea utilizării unor metode noi de îmbătrânire artificială a semințelor (ÎA) este pe larg studiată la Institutul *Resurse Genetice Vegetale* „N. I. Vavilov" din Rusia (Sankt Petersburg) [5]. Utilizând testul dat, pot fi elucidate deosebirile între diverse soiuri de plante în experimente ce vizează determinarea longevității semințelor mostrelor din colecțiile active în timpul păstrării germoplasmei *ex situ* pe un termen mediu ţn Banca de gene. Prin intermediul acestui test poate fi efectuat monitoring-ul specimenelor genofondului după viabilitatea lor. Evaluarea semințelor după efectuarea testului ÎA se efectuează în baza examinării diferiților parametri morfo-fiziologici. Caracteristica acestor indici permite de a efectua o gradare a genotipurilor după potențialul lor păstrare, la fel și de a înainta anumite recomendări privitor la termenul de reproducere a seminţelor. Deosebit de informativ rămâne a fi testul de conductibilitate electrică a semințelor care se bazează pe scurgerea electroliților din semințele îmbătrânite și reflectă gradul de deteriorare a permeabilității protoplasmei. De menționat că rezistența semințelor este influențată de mai mulți factori începând de la influența plantei materne și finalizând cu parametrii mediului ambiant în care se află sămânța după maturizarea ei. Din acest motiv, la efectuarea analizei comparative a soiurilor e necesar de a utiliza semințe ce au fost obținute și păstrate în condiții identice [6].

Scopul cercetărilor efectuate a vizat studierea parametrilor morfo-fiziologici ai semințelor și plantulelor de tomate în urma aplicării testului de ÎA a seminţelor, determinarea potenţialului de păstrare și gradarea genotipurilor în baza acestui parametru pentru a garanta o păstrare sigură în Banca de gene.

Materiale și metode

În calitate de obiect de studiu au servit mostrele de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) din colecția activă a Băncii de gene, semințele cărora au fost recepționate de la Institutul de Cercetări Științifice în Agricultură din Transnistria.: *Potoc*, *Nezabudca*, *Serenada*, *Novinca Pridnestrovia*, *Alex*, *Laguna*, *Leana*, *Luci*, *Zolotaia oseni*, *Marafon*, *Obereg*, *Novella*. Regulile internaționale de testare a semințelor recomandă pentru tomate derularea testului de îmbătrânire a semințelor la temperatura de 41°C, umiditatea aerului de 90-100% timp de 72 ore. În experiențele pe care le-am efectuat asupra soiurilor menționate de tomate s-a constatat că e necesar a modifica condițiile de îmbătrânire: temperatura de 42-43^{0}C, umiditatea aerului 80-90%, termenul de expunere – 96 ore. După astfel de aplicare a ÎA semințele au fost amplasate în incubatoare în cutii Petri la temperatura de 25^{0}C. Pentru fiecare variantă a experienței au fost folosite câte 200-300 semințe în 3-4 repetiții. Conform Regulilor internaționale de testare a semințelor ISTA [7] au fost determinați următorii parametri morfo-fiziologici ai semințelor și plantulelor: energia germinativă, capacitatea de germinație a semințelor, lungimea rădăciniței, biomasa proaspătă și uscată a rădăcinițelor. Scurgerea electroliților a fost apreciată prin metoda conductometrică utilizând conductometrul de tipul N 5721 (Polonia). Semințele au fost incubate în apă distilată pe un termen de 24 și 48 de ore. În calitate de martor au servit semințele proaspete din același an de reproducere. Rezultatele obținute au fost prelucrate cu ajutorul pachetului de programe *Statistica 7*.

Rezultate și discuții

Experiențele efectuate au demonstrat că testul ÎA a influențat în mod diferit asupra procesului de îmbătrânire a semințelor mostrelor de tomate incluse în studiu. Diminuarea energiei germinative și a viabilității semințelor de tomate în varianta experimentală față de martor pentru diverse genotipuri a constituit 12,57 – 56,3% și 6,7 – 23,8%, ceea ce denotă individualitatea genotipică a mostrelor testate. Cea mai înaltă micșorare a germinației semințelor, în urma aplicării testului ÎA, a fost semnalată la soiurile *Luci, Zolotaia oseni, Marafon, Obereg, Novella*, iar cea mai mica – la genotipurile *Potoc, Nezabudca, Serenada, Novinca Pridnestrovia, Alex, Laguna* și *Leana* (Fig. 1,2). În baza acestor indicatori importanți ai viabilității semințelor, luând în considerație variația acestor parametri în urma aplicării testului, genotipurile de tomate incluse în studiu au fost divizate în două grupe. În primul grup au fost incluse genotipurile care au manifestat un înalt potențial de păstrare – *Potoc, Nezabudca, Serenada, Novinca Pridnestrovia, Alex, Laguna* și *Leana*, în urma aplicării testului ÎAA având o germinație de 81,4 – 93,3% (Fig. 1,2). Diminuarea germinației seminţelor la aceste soiuri în varianta experimentală a consituit 6,7 – 14,1% față de martor (Fig. 1). În cea de-a doua grupă au fost incluse genotipurile cu un potențial mediu de păstrare a semințelor:

Luci, Zolotaia oseni, Marafon, Obereg, Novella, având o germinație de 68,6 – 83,0%, micșorarea acestui parametru în raport cu martorul a constituit 15,0 – 30,0% (Fig. 2). Astfel, în decursul studierii mostrelor din colecția de tomate, pentru prima dată nu au fost depistate genotipuri ce ar avea un potențial scăzut de păstrare a semințelor, în comparație cu alte culturi. În cercetările efectuate am investigat lungimea rădăciniţelor, biomasa proaspătă și uscată a lor (tabelul). Diminuarea maximală a lungimii rădăciniţelor la varianta experimentală față de martor a fost detectată la genotipurile cu un potențial mediu de păstrare a semințelor, constituind în medie 5,9 mm (Fig. 3). Biomasa proaspătă a radiculelor la germenii din acest grup a diminuat în mediu cu 48,0 g (tabelul). La genotipurile din grupul cu potențial înalt de păstrare a semințelor micșorarea valorilor acestor indici a constituit în mediu 3,8 mm și 26,0 mg corespunzător. Sistemul radicular al acestor germeni a fost mult mai bine dezvoltat. În manifestarea parametrului *biomasa uscată a radiculelor* s-au păstrat legitățile constatate și în cazul biomasei proaspete. Rezultatele experimentale au fost prelucrate în programul *Statistica 7*. Aproximativ la toate genotipurile a fost constatată o corelație pozitivă a germinării semințelor cu energia germinativă (r +0,60), lungimea rădăciniţelor (r +0,65) și biomasa proaspătă (r +0,65).

Fig. 1. Germinația semințelor de tomate după îmbătrânirea lor accelerată, % (Genotipuri cu potențialul de păstrare înalt). 1 – Martor; 2 - Îmbătrânirea accelerată. Genotipurile evaluate: 1-*Potok*; 2-*Nezabudka*; 3-*Serenada*; 4-*Novinka Pridnestrovia*; 5-*Alex*; 6- *Laguna*; 7- *Leana.*

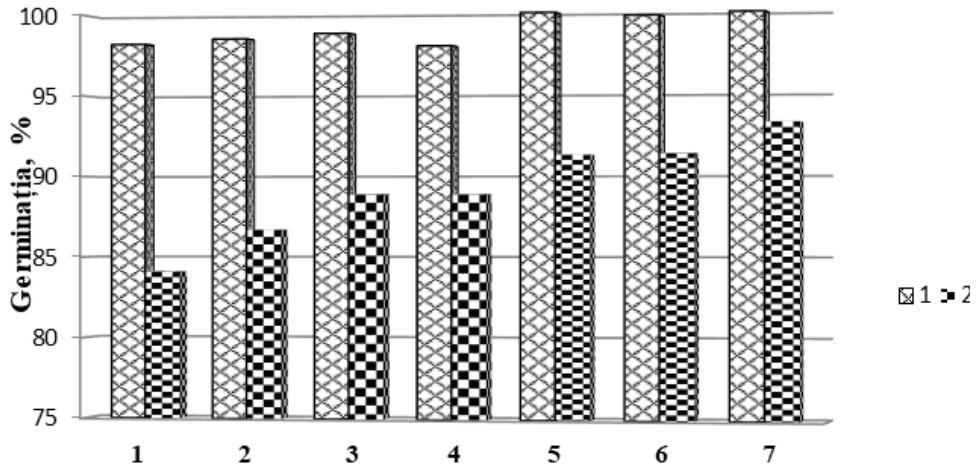
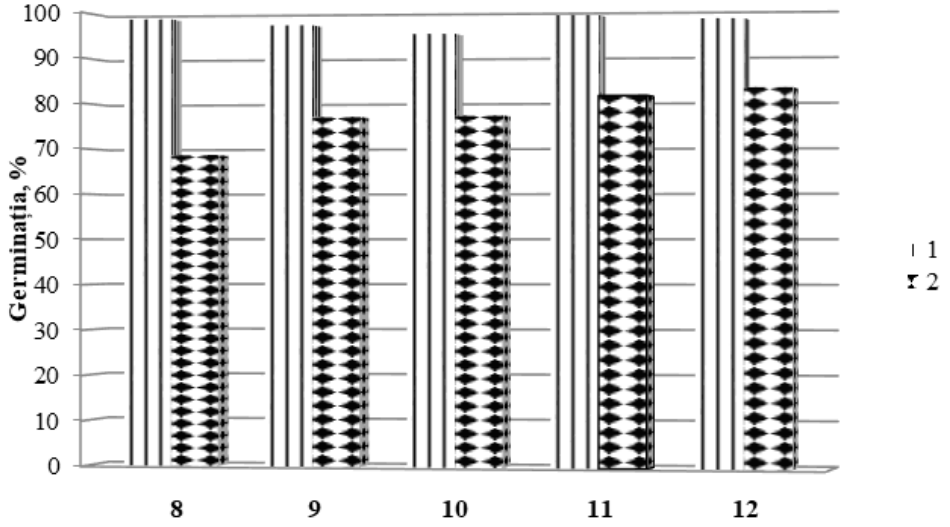


Fig. 2. Modificarea germinației semințelor de tomate după îmbătrânirea lor accelerată, % (Genotipuri cu potențialul de păstrare mediu). 1 – Martor; 2 - Îmbătrânirea accelerată. Genotipurile evaluate: 8-*Luch*; 9-*Zolotaia oseni*;10-*Marafon*; 11-*Obereg*; 12-*Novella.*



Tabel. Manifestarea parametrilor germenilor de tomate în urma îmbătrânirii accelerate a semințelor.

Genotipul	Variante	Lungimea rădăciniței, mm	Biomasa radiculelor, g
Potok	Martor	20,0±1,9	0,150±0,04
	Experiența	16,6 ±2,6	0,120±0,03
Nezabudka	Martor	20,6±2,2	0,170±0,05
	Experiența	15,9±1,8*	0,140±0,04
Serenada	Martor	16,9±1,1	0,100±0,01
	Experiența	14,2±1,6	0,070±0,01*
Novinka Pridnestrovia	Martor	18,8±1,7	0,140±0,02
	Experiența	16,8±0,5*	0,120±0,01
Alex	Martor	17,4±2,1	0,110±0,02
	Experiența	14,9±2,6	0,090±0,03
Laguna	Martor	19,4±1,8	0,130±0,01
	Experiența	16,0±1,7*	0,100±0,02
Leana	Martor	20,0±1,9	0,110±0,03
	Experiența	17,5±2,1	0,090±0,02
Luch	Martor	17,0±1,4	0,090±0,01
	Experiența	9,4±0,9*	0,050±001*
Zolotaya oseni	Martor	14,8±2,4	0,100±0,02
	Experiența	8,0±3,6*	0,050±0,02*
Marafon	Martor	18,9±1,4	0,150±0,03
	Experiența	14,7±2,1*	0,100±0,02*
Obereg	Martor	13,4±0,9	0,120±0,02
	Experiența	8,1±0,7*	0,060±0,02
Novella	Martor	12,7±3,1	0,080±0,01
	Experiența	7,0±2,8*	0,040±0,02*

* - diferențe semnificative la $p < 0,05$.

Scurgerea electroliților a fost determinată în baza conductibilității soluțiilor cu semințe netratate și îmbătrânite, fiind menținute în apa deionizată în decurs de 24 și 48 ore (Fig. 4). Sporirea maximală a conductanței soluțiilor a fost detectată la semințele din varianta experimentală și anume din grupul cu potențial mediu de păstrare. La soluțiile cu semințe îmbătrânite ce aparțin soiurilor *Zolotaia oseni, Obereg* și *Novella* conductibilitatea a fost de 1,4 – 1,6 ori mai mare ca martorul. În cazul genotipurilor cu un potențial înalt de păstrare (*Serenada, Novinca Pridnestrovia, Laguna*) acest parametru a înregistrat o creștere neesențială față de martor (de 1,1 – 1,2 ori), fiind un factor benefic pentru păstrarea viabilității de lungă durată a semințelor. Adică la ultimele genotipuri nu a fost semnalată o sporire bruscă a scurgerii electroliților. În literatură fenomenul creșterii nivelului de scurgere a electroliților în soluțiile cu semințe îmbătrânite se explică prin mărirea permeabilității protoplasmei. Determinarea acestui parametru a demonstrat încă o dată că testul privind conductibilitatea soluțiilor cu semințe după îmbătrânirea accelerată este destul de informativ în cazul efectuarii gradării genotipurilor după longevitatea semințelor.

Astfel, în urma efectuării analizei comparative a diferitelor parametri morfo-fiziologici ale semințelor și plantulelor de tomate supuse testului de îmbătrânire accelerată a semințelor s-a constatat că cel mai înalt potential de păstrare a fost la genotipurile *Potoc, Nezabudca, Serenada, Novinca Pridnestrovia, Alex, Laguna* și *Leana*, iar un potențial mediu a fost evidențiat la soiurile *Luci, Zolotaia oseni, Marafon, Obereg* și *Novella.*

Fig. 3. Lungimea rădăcinițelor plantulelor de tomate după îmbătrânirea accelerată, mm. 1 – Martor; 2 - Îmbătrânirea accelerată. Genotipuri: 1-*Potok*; 2-*Nezabudka*; 3-*Serenada*; 4-*Novinka Pridnestrovia*; 5-*Alex*; 6-*Laguna*; 7-*Leana*; 8-*Luch*; 9-*Zolotaya oseni*; 10-*Marafon*; 11- *Obereg*; 12-*Novella.*

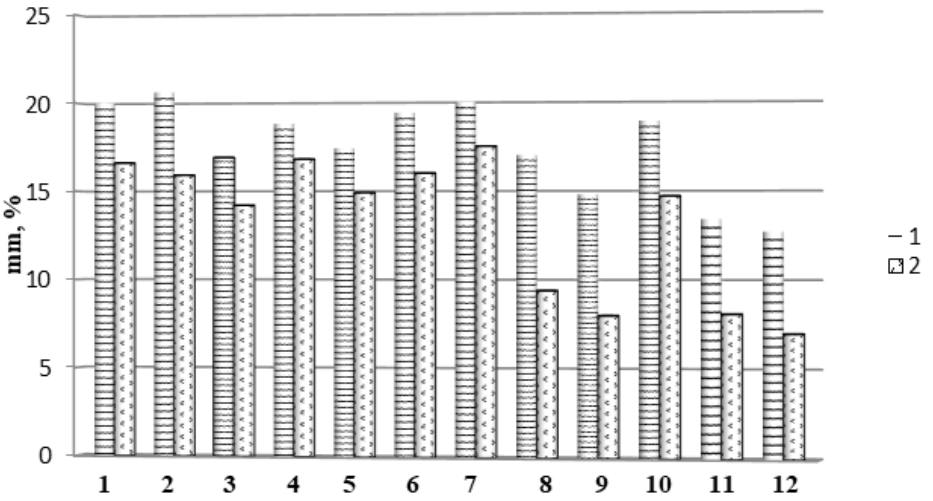
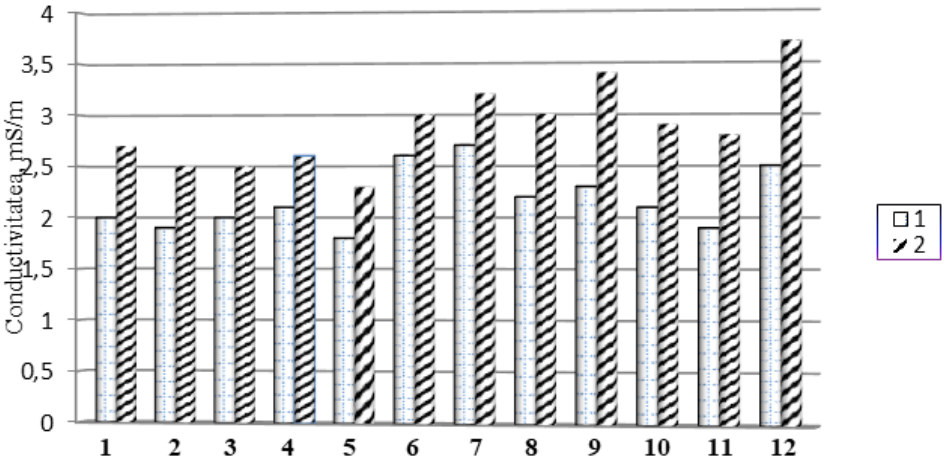


Fig. 4. Conductivitatea soluțiilor cu semințe de tomate netratate și îmbătrânite după acțiunea testului de îmbătrânire accelerată, Ms/m (48 ore). 1 – Martor; 2 - Îmbătrânirea accelerată. Genotipuri: 1-*Potok*; 2-*Nezabudka*; 3-*Serenada*; 4-*Novinka Pridnestrovia*; 5-*Alex*; 6-*Laguna*; 7-*Leana*; 8-*Luch*; 9-*Zolotaya oseni*; 10-*Marafon*; 11- *Obereg*; 12- *Novella.*



Concluzii

1. Experiențele, ce vizează determinarea potențialului de păstrare la mostrele din colecția de tomate realizate prin utilizarea testului de îmbătrânire accelerată a semințelor, au demonstrat că genotipurile suportă în mod diferit procesul de îmbătrânire, iar rezistența la temperatură și umiditate înaltă poartă un caracter individual.
2. În baza parametrilor morfo-fiziologici evaluați a fost efectuată o gradare a mostrelor de tomate și s-au evidențiat genotipuri cu un potențial de păstrare înalt și mediu.
3. Testul de îmbătrânire accelerată a semințelor poate fi utilizat pentru a prognoza longevitatea semințelor ca rezultat al depozitării lor pe termen îndelungat. S-a arătat că viteza de îmbătrânire a semințelor depinde de particularitățile de specie și genotipul culturii.
4. Aplicarea testelor menționate (îmbătrânirea accelerată a semințelor și conductibilitatea soluțiilor cu semințe) permite de a evidenția acele genotipuri de tomate, semințele cărora necesită o reproducere mai frecventă pentru a fi păstrate cu siguranță, pe un termen îndelungat în Banca de gene, la fel și de a oferi recomandări legate de termenii de reproducere a materialului semincer.

Referințe:
1. WALTERS, C., WHEELER, L. M., GROTENHUIS, J. M. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristic. În: *Seed Science Researche*, 2005, Nr. 15, p. 1-20.
2. NAGEL, M., BORNER, A. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. În: *Seed Science Researche,* 2010, Nr. 20, p. 1-12.
3. REHMAN ARIF M. A., NAGEL, M., NEUMANN, K. et. al. Genetic studies of seed longevity in hexaploid wheat using segregation and association mapping approaches. În: *Euphytica*, 2012, Vol. 186, p. 1-13.
4. HAMPTON, J. G., TEKRONY, T.M. *Handbook of vigour test methods.* ISTA, Zurich, Switzerland, 1995, 120 p.
5. САФИНА, Г. Ф., ФИЛИПЕНКО, Г.И. Долговечность семян при хранении и ее прогнозирование методом ускоренного старения. În: Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, Т. 174, Санкт-Петербург: ВИР. 2013, с. 124-131.
6. СМОЛИКОВА, Г. Н. Применение метода ускоренного старения для оценки устойчивости семян к стрессовым воздействиям. În: Вестник СПбГУ, Сер. 3, 2014, Вып. 2, с. 82-93.
7. *International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology. International Seed Testing Assosiation,* Zurich, Switzerland, 2007.
8. АЛЕКСЕЙЧУК, Г. Н., ЛАМАН, Н. А. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки. Минск, 2005, 48 с. ISBN 985-442-188-0.

Date despre autori:
***Liudmila CORLĂTEANU*,** doctor în științe biologice, cercetător științific coordonator, lab. Resurse Genetice Vegetale, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM.
E-mail: lcorlateanu@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-1018-1832

Victoria MIHĂILĂ, cercetător științific, lab. Resurse Genetice Vegetale, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM.
E-mail: victoriamihaila373@gmail.com
ORCID: 0000-0003-3984-9477

Lolita MELIAN, doctor în științe biologice, cercetător științific coordonator, lab. Resurse Genetice Vegetale, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM.
E-male: lolitamelian@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9192-0560

Anatolie GANEA, doctor în științe biologice, șeful laboratorului Resurse Genetice Vegetale, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM.
E-male: anatol.ganea@gmail.com
ORCID: 0000-0002-8658-6879

Notă: *Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului Programului de Stat: ,,Conservarea ex situ de lungă durată a resurselor genetice vegetale în Banca de gene cu utilizarea metodelor biologiei moleculare în testarea stării de sănătate a germoplasmei vegetale", cu cifrul 20.80009.5107.11, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.*

Prezentat la 07.04.2023

CZU: 597.556.33(478)

DEZVOLTAREA GONADELOR LA FEMELELE BIBANULUI COMUN *PERCA FLUVIATILIS* DIN NISTRUL INFERIOR ÎN PERIOADA VEGETATIVĂ

Dumitru BULAT, Nina FULGA, Denis BULAT

Institutul de Zoologie al Universităţii de Stat din Moldova

În lucrarea de faţă sunt prezentate rezultatele ştiinţifice cu privire la particularităţile ovogenezei bibanului comun din sectorul inferior al fluviului Nistru. La specia menţionată dezvoltarea oocitelor poartă un caracter sincron, ceea ce determină un mod unitar de depunere a icrelor. S-au stabilit deosebiri în caracterul dezvoltării oocitelor la reproducătorii de diferite dimensiuni, ceea ce indică la depunerea mai timpurie a icrelor de către reproducătorii de biban din grupele gravimetrice mai mici. La femelele de şapte ani cu ovare în stadiile de dezvoltare II şi II-III s-a constatat resorbţia oocitelor în faza creşterii protoplasmatice şi în fazele iniţiale de vacuolozare a citoplasmei, ceea ce indică la atenuarea funcţiei reproductive în grupele superioare de vârstă.

În luna mai a fost capturat un individ de biban hermafrodit cu o dezvoltare anormală a celulelor germinale.

Cuvinte-cheie: *biban comun, fluviul Nistru, gametogeneză, ovogeneză, hermafrodit.*

THE DEVELOPMENT OF GONADS IN FEMALES OF THE COMMON PERCH *PERCA FLUVIATILIS* FROM THE LOWER DNISTER IN THE VEGETATIVE PERIOD

The present paper presents the scientific results regarding the particularities of the oogenesis of the common perch in the lower sector of the Dniester river. In the mentioned species, the development of the oocytes is synchronous, which determines a unitary mode of spawning. Differences in the character of oocyte development were established in breeders of different sizes, indicating earlier spawning by breeders of perch in smaller gravimetric groups. In seven-year-old females with ovaries in developmental stages II and II-III, resorption of oocytes was found in the phase of protoplasmic growth and in the initial phases of vacuolation of the cytoplasm, which indicates the attenuation of reproductive function in higher age groups.

In May, an individual hermaphrodite perch with an abnormal development of germ cells was captured.

Keywords: *common perch, Dniester river, gametogenesis, oogenesis, hermaphrodite.*

Introducere

Bibanul *Perca fluviatilis* aparţine familiei *Percidae* şi este un reprezentant tipic al ihtiofaunei nistrene. Această specie este destul de răspândită în multe corpuri de apă dulce din Asia de Nord şi Europa. A fost introdusă în ţările africane, Noua Zeelandă, Australia şi SUA, provocând în multe ecosisteme recipiente un impact invaziv major [1].

În Republica Moldova, bibanul comun se întâlneşte în toate tipurile de ecosisteme acvatice supuse unui presing antropic variat: râuri de diferite dimensiuni, lacuri de acumulare şi naturale, bălţi, iazuri şi heleşteie [2, 3].

O serie de lucrări au fost dedicate studiului oogenezei *bibanului comun*: M. P. Statova (1973) [4], B. V. Koshelev (1984) [5], L. V. Chepurnova (1991) [6], A. A. Tykheev (2016) [6], dar informaţii despre particularităţile dezvoltării produselor sexuale a speciei în Nistru inferior lipsesc.

Material şi metode

În cercetările de faţă sunt utilizate metodele histofiziologice unanim recunoscute [8]. Pe baza structurii morfologice a ovarului şi particularităţilor de dezvoltare s-a determinat starea funcţională a ovarului. Toţi indivizii au fost supuşi analizei biologice complexe cu determinarea valorilor gravi-dimensionale, vârstei şi indicelui gonadosomatic [9]. Probele de ovare au fost fixate în formol de 4% cu o tratare ulterioară conform metodelor clasice unanim recunoscute. Stadiul de maturare a ovarelor este determinat după Maien cu unele modificări Sacun, Buţcoi (1963) [10], iar gradul de dezvoltare a ovocitelor – conform clasificării

Kazanskii [11]. Secţiunile de ovare cu grosimea de 7µm sunt colorate după metoda Mallori [12]. Indicele gonadosomatic (GSI) se determină raportând greutatea ovarelor la greutatea corporală (fără viscere) [9]. Microfotografiile sunt obținute cu ajutorul microscopului cu cameră foto „Lomo, Mikmed-2".

Rezultate și discuții

Dimensiunea maximă a bibanului comun variază semnificativ atât în aspect regional, cât și local datorită variabilității fenotipice pronunțate. Spre exemplu, în lacurile de acumulare Ghidighici, Dubăsari și Costești-Stânca s-a identificat forma ecologică a bibanului de litoral care se deosebește, în primul rând, printr-un ritm mai lent de creștere, înălțimea mai mică a corpului și coloritul mai accentuat a liniilor transversale de pe flancuri. Acest ecofen ocupă habitatele de litoral și sublitoral, duce un mod de viață gregar și are o nutriție preponderent bentosofagă. Numai în perioadele lunilor aprilie-iunie, când progeniturile de pește au încă dimensiuni mici și se găsesc în cantități suficiente în această zonă, bibanul de litoral trece temporar la o nutriție ihtiofagă (mai ales prin canibalism) [2].

Conform unor cercetări, s-a constatat că lungimea și greutatea corporală a bibanului din lacul refrigerent Cuciurgan [4] erau mai mari în comparație cu indivizii acestei specii din sectorul superior [13] și inferior a Nistrului [14]. Cauza decalajului în caracterul creșterii sunt resursele trofice mai abundente din lac. În Nistrul inferior, în prezent, dimensiunile bibanului în toate grupele de vârstă corespund cu cele ale populației locale din aval de barajul hidrocentralei Dubăsari [14] (Tabelul 1).

Tabelul 1. Caracteristicile biologice ale femelelor de biban comun din Nistrul inferior.

Vârsta	Lungimea corpului, cm	Lungimea corpului, cm (după Chepurnova, 1975) *	Greutatea corpului, g	Greutatea corpului fără viscere, g
1+	17,4 ± 0,38	16,5 - 17,0	78,5 ± 2,32	69,37 ± 1,93
3	18,5 ± 0,42	18,0 – 19,0	127,0 ± 10,52	114,0 ± 9,08
3+	21,83 ± 0,57	_	186,5 ± 12,40	164,0 ± 10,50
4+	24,5 ± 0,62	20,0 – 24,0	260,0 ± 6,70	232,0 ± 7,56
6+	30,25 ± 0,87	29,0 – 36,0	494,3 ± 61,63	411, ± 61,5

* *În aval de barajul hidrocentralei Dubăsari.*

Structura de vârstă a populației de biban din diferite sectoare ale bazinului Nistrului este de asemenea diferită. În Nistrul de jos, conform datelor noastre (Tabelul 1), și în aval, conform lui Chepurnova (1973) [15], există până la șase grupe de vârstă, în cursul superior a Nistrului - până la cinci [13] și în lacul refrigerent Cuciurgan până la 10 grupe de vârstă [16].

Conform investigațiilor noastre, bibanul comun poate atinge maturitatea sexuală la diferite vârste. În anii precedenți, în lacul de acumulare Dubăsari, conform lui Burnashev și colab. (1955) [17], bibanul se maturiza la 2-3 ani, în lacurile de acumulare Cuciurgan și Ghidighici [4,18], femelele atingeau maturitatea sexuală la 3-4 ani, iar în Nistrul superior [13] și în aval de hidrocentrala Dubăsari [6] - la 3 ani. Analiza histologică a gonadelor a constatat că cea mai mare pondere a bibanului din Nistrul inferior depune icre pentru prima dată la vârsta de 3 ani.

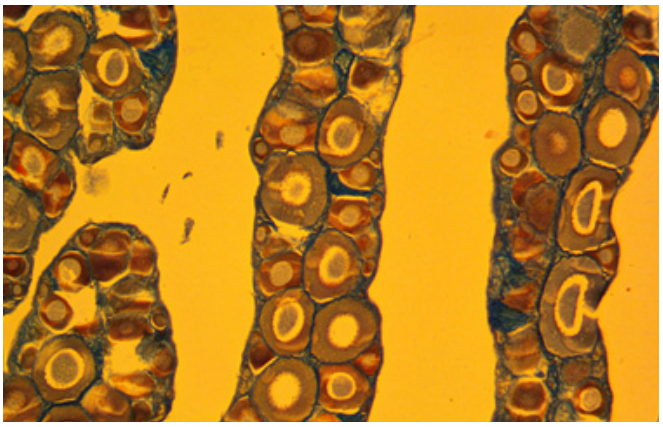
De menționat că în capturi sunt identificați indivizi cu lungimea și greutatea medie de 14,8 ± 0,62 cm și respectiv 56,3 ± 2,23 g care deja au participat la prima reproducere (fig. 1). Astfel, la fenotipul bibanului cu ritm lent de creștere ponderea metabolismului energetic în funcție de metabolismul total este mai mare, iar ponderea metabolismului plastic și generativ este mai mică decât la indivizii cu creștere rapidă, femelele atingând maturitatea sexuală la vârsta de 2 ani [19].

Pe baza datelor din literatură, s-a demonstrat că reproducerea naturală a bibanului în aval de lacul de acumulare Dubăsari demarează de la sfârșitul lunii aprilie și se încheie în primele zece zile ale lunii mai, la un regim termic al ecosistemului de 8-13 ^{0}C [6]. Depunerea icrelor în lacul refrigerent Cuciurgan, în diferitele sectoare ale sale are loc în perioade calendaristice diferite (a doua jumătate a lunii martie și prima jumătate a lunii aprilie), dar la același regim termic (8-10 ^{0}C.). Astfel, principalul factor care determină momentul de depunere a icrelor la bibanul comun este temperatura apei din ecosistem [20].

În timpul perioadei de depunere a icrelor, după cum a constatat Koshelev(1984), se eliberează simultan tot conținutul ovocitar existent în ovare, astfel că după depunerea icrelor în ovare nu se constată resturi de oocite neejaculate [5].

Gonadele femelelor de biban capturate la sfârșitul lunii mai sunt în stadiul II de dezvoltare postreproductivă. În ovarul indivizilor care au depus icrele, sunt identificate oocite doar din faza de creștere protoplasmatică din generația viitoare și membrane foliculare rămase de la reproducerea recentă în proces de resorbție (Figura 1).

Figura 1. Fragment de ovar în stadiul II de dezvoltare după reproducere. Oocitele sunt în faza creșterii protoplasmatice.



În această perioadă valorile indicelui gonadosomatic (IGS) și dimensiunea oocitelor sunt minime (Tabelul 2). La sfârșitul lunii iulie, la o temperatură a apei de 25 ^{0}C, gonadele trec în stadiul II-III de maturitate, iar generația de oocite intră în faza de vacuolizare a citoplasmei.

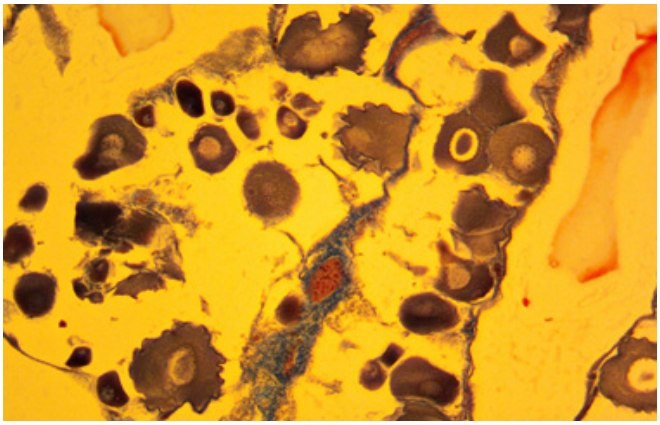
Al III-lea stadiu de dezvoltare a ovarelor este relativ scurt și durează aproximativ 60 de zile. În această perioadă valoarea indicelui IGS și dimensiunea oocitelor cresc semnificativ (Tabelul 2). Tranziția oocitelor la faza de vacuolizare în iulie este descrisă de Chepurnova (1975, 1991) [6, 14]. Autorul constată dezvoltarea sincronă a oocitelor în fazele de vacuolizare, ceea ce coincide cu cercetările noastre privind bibanul din Nistrul inferior, iar în lacul refrigerent Cuciurgan, după cum menționează Statova (1973), procesul de vacuolizare a oocitelor se desfășoară asincron [4].

Tabelul 2. Caracteristicile morfo-fiziologice ale femelelor de biban comun din Nistrul de Jos.

Data capturării	Stadiul de dezvoltare al ovarelor	Greutatea ovarelor, g	IGS, %,	Dimensiunile oocitelor din generația primară, µ	Faza de dezvoltare a oocitelor
Mai, decada III	II	0,30 ± 0,09	0,26 ± 0,04	125,6 ± 3,05	Creșterea protoplasmatică
Iulie, decada III	II-III	1,30 ± 0,11	0,71 ± 0,07	169,0 ± 2,53	Începutul vacuolizării
Septembrie, decada I	III	1,99 ± 0,28	1,36 ± 0,18	306,4 ± 2,92	Vacuolizarea citoplasmei „D_3”
Octombrie, decada III	III -IV	18,70 ± 1,24	7,18 ± 0,21	617,0 ± 4,8	Începutul vitelogenezei „D5”
	IV	19,73 ± 2,01	8,46 ± 0,32	718,0 ± 3,72	Vitelogeneza intensivă „D6”

În această perioadă, au fost identificate femele de șapte ani cu produse reproductive degenerate în stadiile II și II-III de maturitate. Pe preparatele histologice, modificările distructive ale tuturor oocitelor din faza creșterii protoplasmatice se exprimă prin distrugerea tuturor organitelor celulare și fuziunea conținutului acestora într-o masă omogenă.

Figura 2. Ovarul în stadiul II de dezvoltare nemijlocit după reproducere la femela de biban de vârsta 5+. Se constată resorbția totală a oocitelor în faza de creștere protoplasmatică.



La femelele în gonadele cărora sunt prezente oocite în faza incipientă de vacuolizare, modificările distructive sunt însoțite de deformarea membranei proprii a ovocitului și de dispariția nucleului. După cum au observat Telezhnikova și colab. (2018), potențialul de reproducere crește până la o anumită vârstă, iar după atingerea de către femele a vârstei de cinci ani, se constată atenuarea funcției reproductive a gonadelor [21].

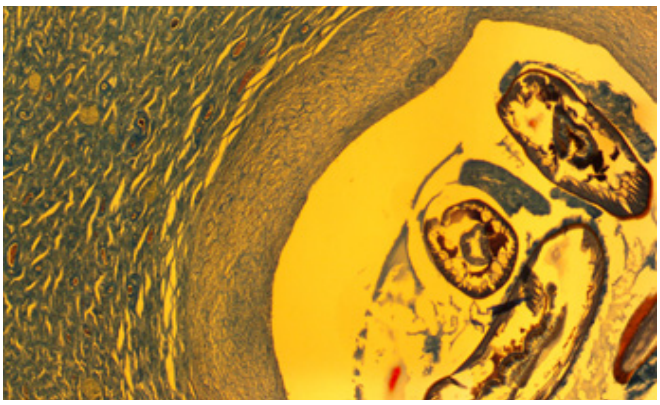
La sfârșitul celei de-a treia decade a lunii octombrie, odată cu scăderea temperaturii apei în Nistrul inferior până la 12 ^{0}C, gonadele trec în stadiul IV de maturitate, iar în oocitele din generația primară are loc procesul de acumulare a granulelor de gălbenuș. Mai mult decât atât, la unele femele, oocitele au început vitelogeneza intensivă, pe când la alți indivizi, de dimensiuni mai mari, acest proces abia demarează, ceea ce se constată conform valorilor diferite ale indicelui gonadosomatic și ale dimensiunilor oocitelor (Tabelul 2).

În consecință, femelele cu o greutate corporală mai mică participă primele la procesul reproductiv. Diferențele constatate în perioadele de depunere a icrelor de către indivizii speciei de diferite dimensiuni sunt confirmate și în lucrările lui Chepurnov (1975) [14]; Gillet C., Dubois J. P (2007) [20].

În anii precedenți, conform datelor lui Chepurnova (1991) [6], vitelogeneza bibanului în aval de baraj începea mai târziu, în luna noiembrie, ceea ce se datorează probabil condițiilor termice deosebite. În ovar, în această perioadă, erau prezente și oocite din faza creșterii protoplasmatice, inclusiv membrane foliculare goale în stare de resorbție profundă. Koshelev (1984), de asemenea, a subliniat prezența urmelor foliculare în stare de resorbție în toate etapele de dezvoltare a ovarelor la bibanul comun [5].

Printre femelele de biban comun capturate în luna mai, a fost identificat un individ de patru ani cu dezvoltare anormală a gonadelor. În centrul țesutului seminal al gonadei sunt localizate oocite vitelogene în stadiul de resorbție totală (Figura 3).

Figura 3. Fragment de gonadă la bibanul hermafrodit.



Țesutul generativ este înlocuit cu țesut conjunctiv. Acest fenomen de hermafroditism la unele specii de pești, când într-un testicul se conțin oocite mature s-a constat și în cercetările anterioare. Astfel, drept

exemplu poate servi carasul argintiu din lacul de acumulare Dubăsari [22], soretele din lacul de acumulare Cuciugan [23] și speciile de zvârlugi din Nistrul inferior [24].

Concluzii

1. La bibanul comun din Nistrul inferior dezvoltarea oocitelor poartă un caracter sincron, ceea ce determină un mod unitar de depunere a icrelor. Gonadele femelelor nemijlocit după procesul reproductiv conțin doar oocite din faza de creștere protoplasmatică și foliculi eliberați în stadiul de resorbție. Rămășițele membranelor foliculare în stadiul de resorbție se identifică pe parcursul următoarelor faze de dezvoltare a ovarelor.
2. Tranziția gonadelor în stadiul II-III de maturitate, iar a oocitelor la începutul fazei de creștere trofoplasmatică, are loc în ultimele zile ale lunii iulie. Procesul de vacuolizare a citoplasmei în oocite durează două luni, și doar cu scăderea temperaturii apei până la 12^0C, la sfârșitul lunii octombrie, începe acumularea de granule de vitelus în oocitele la femelele de dimensiuni mai mari. La femelele de dimensiuni mai mici în această perioadă în oocite începe deja vitelogeneza intensivă. În consecință, femelele de dimensiuni mai mici a acestei specii sunt primele care depun icrele.
3. În Nistrul inferior, la femelele de șapte ani cu ovare în stadiile de dezvoltare II și II-III s-a constatat resorbția oocitelor în faza creșterii protoplasmatice și în fazele inițiale de vacuolizare a citoplasmei, ceea ce indică la atenuarea funcției reproductive din cauza pragului de vârstă.
4. Printre femelele de biban capturate în luna mai, a fost identificat un hermafrodit de patru ani, cu o dezvoltare anormală a celulelor germinale.

Referințe:

1. https://www.fishbase.se/summary/Perca-fluviatilis.html
2. BULAT, Dm. Ihtiofauna Republicii Moldova: amenințări, tendințe și recomandări de reabilitare. Chișinău: Foxtrod, 2017, 343 p.
3. ДОЛГИЙ Н.П. Ихтиофауна бассейнов Днестра и Прута. Кишинев «Штиинца», 1993, с. 196-215.
4. СТАТОВА М.П. Половое созревание, размножение и плодовитость рыб с однократным икрометанием В: Кучурганский лиман-охладитель Молдавской ГРЭС. Кишинев «Штиинца», 1973, с. 148-153.
5. КОШЕЛЕВ Б. В. Эколоия размножения рыб М. Изд-во «Наука», 1984, с. 90-132.
6. ЧЕПУРНОВА Л. В. Структура и экология размножения популяций днестровского ихтиоценоза В: Закономерности функций гонад, размножения и состояния популяций рыб бассейна Днестра в условиях гидростроительства, 1991, с. 116-122.
7. ТЫХЕЕВ, А. А. Гистологические данные яичников плотвы, язя и окуня в Истоминском сору Кабанского района Республики Бурятия В: Сб. науч. трудов по материалам 1 междунар. науч.- практ. конф. Нижний Новгород, 2016, с. 5-16.
8. КАЛАЙДА М. Л., Общая гистология и эмбриология рыб. Практикум [Электронный ресурс]: Учебное пособие / М. Л. Калайда. - СПб : Проспект Науки, 2017, 88 с.
9. ПРАВДИН И. Ф. Руководство по изучению рыб. Москва: Пищевая промышленность, 1966, 376 с
10. САКУН О. Ф., БУЦКАЯ Н. Ф. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. Мурманск: Изд-во «ПИНРО», 1968, 48 с.
11. КАЗАНСКИЙ Б. Н. Особенности функции яичников у рыб с порционным икрометанием. В: Тр. лаб. основ рыбоводства. Ленинград: Изд. АН ССР, 1949, Т. 2, с. 64-121.
12. РОСКИН Г.И., ЛЕВИНСОН Л. Б. Микроскопическая техника. Москва: Советская наука, 1957, 487 с.
13. ОПАЛЕНКО Л. К. Ихтиофауна бассейна верхнего Днестра В: Автореф. Дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Львов, 1967, 24с.
14. ЧЕПУРНОВА Л. В. Размножение днестровских рыб (осетровых, сельдевых, окуневых). Кишинев «Штиинца», 1975, 52 с.
15. ЧЕПУРНОВА Л.В. Влияние гидростроительства на популяции рыб Днестра.: Кишинев «Штиинца», 1972, 59с.
16. СТАТОВА М. П. Годичные половые циклы у рыб Кучурганского лимана В: Биологические ресурсы водоемов Молдавии. Кишинев «Штиинца», 1971, с. 53-60.

17. БУРНАШЕВ М. С., ЧЕПУРНОВ В. С, РАКИТИНА Н. П. Рыбы Дубоссарского водохранилища и вопросы развития речного промысла в нем. В: Научные труды Кишиневского госуниверситета, 1955, с. 7-29.
18. ДОЛГИЙ В.Н. Ихтиофауна Днестра и Прута (современное состояние, генезис, экология и биологические основы рыбохозяйственного использования). Изд. Штиинца. Кишинев, 1993, 323 с.
19. ШАТУНОВСКИЙ, М. И. ШАТУНОВСКИЙ, Г. И. РУБАН Г. И. Внутривидовая изменчивость репродуктивных стратегий у речного окуня В: Журнал «Известия РАН» серия биологических наук № 1, 2013, с. 612-625.
20. GILLET C., DUBOIS J. P. Effect of water temperature and size of females on the timing of spawning of perch *Perca fluviatilis* L. in Lake Geneva from 1984 to 2003 (англ.) In: Journal of Fish Biology, 2007, Vol. 70, no. 3, p. 1001-1014. DOI:10.1111/j.1095-8649.2007.01359.x https://www.fishbase.se/summary/perca-fluviatilis.html
21. ТЕЛЕЖНИКОВА Т. А., САЙФУЛИН Р. Р., ГРАНИН А. В. ШАКИРОВ И. Р. Характеристика популяции речного окуня *Perca fluviatilis* центрально части Куйбышевского водохранилища В: Весник Астраханского технического университета серия: Рыбное хозяйство, Вып. 1, 2018, с. 76-83.
22. СТАТОВА М. П. Гистологический анализ половых желез самцов серебряного карася //Изв. АН Молдавской ССР. Кишинев «Штиинца», №1 1966, с. 35-38.
23. ФУЛГА Н. И, ТОДЕРАШ И. К., БУЛАТ ДМ. Е., БУЛАТ Ден. Е. РАЙЛЯН Н. К. Морфофункциональная характеристика гонад солнечного окуня в условия Кучурганского водохранилища-охладителя Молдавской ГРЭС. В: Российский журнал биологических инвазий, Россия. Москва. IF 1,544, № 4, 2018. Из-во МАИК «Наука/интерпериодика», с. 94-100. ISSN 1996-1499.
24. ФУЛГА Н. И., БУЛАТ Дм. Е., БУЛАТ Ден. Е. Развитие гонад гибридных полиплоидных щиповок Cobitis taenia в периодериод размнония в нижнем Днестре. В: Журнал «Известия ДГПУ», серия «Естественные и точные науки» Дагестан, Т. 16, №1 2022, с. 19-25. ISSN1995-0675 (Print).

Date despre autori:
Dumitru BULAT, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: bulatdm@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-1134-7176

Nina FULGA, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: fulganina@yahoo.com
ORCID:

Denis BULAT, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: bulat.denis@gmail.com
ORCID: 0000-0003-0591-3960

Prezentat la 20.03.2023

CZU: 636.594(478)

POLIPARAZITISMUL LA FAZANI (*PHASIANUS COLCHICUS L.*) DIN DIVERSE ECOSISTEME NATURALE ȘI ANTROPIZATE ALE REPUBLICII MOLDOVA

Maria ZAMORNEA, Dumitru ERHAN, Ștefan RUSU, Oleg CHIHAI, Olesea GLIGA, Nicolai BOTNARU

Universitatea de Stat din Moldova, Institutul de Zoologie

Endoparaziții prezintă un rol semnificativ în patologia fazanilor (*Phasianus colchicus* L). În perioada aa. 2020-2022, au fost examinate 123 de eșantioane biologice prelevate de la fazani din diverse biotopuri naturale și antropizate ale Republicii Moldova. Rezultatele investigațiilor parazitologice efectuate au relevat prezența poliinvaziilor formate din 14 specii *(Choanotaenia infundibulum, Raillietina tetragona, Raillietina echinobotrida, Prosthogonimus ovatus, Capillaria caudinflata, Capillaria annulate, Heterakis gallinarum, Heterakis isolonche. Ascaridia galli, Singamus traheia, Trichostrongylus tenuis, Eimeria colchici, Eimeria duodenalis, Eimeria phasiani)* de paraziți, dintre care 7 specii *(Prosthogonimus ovatus, Syngamus tracheia, Ascaridia galli, Heterakis gallinarum, Raillietina tetragona, Raillietina echinobotrida, Eimeria duodenalis),* sunt comune ***și*** pentru galinaceele domestice. S-a evidențiat **că 39 de probe (31,7%) erau infestate în formă de monoinvazii, iar 84 de probe (68,3%) – în formă de poliinvazii**. S-au estimat asociații poliparazitare formate din 2 specii de paraziți în 36 de probe (42,8%); din 3 specii – în 26 de probe (30,9%); din 4 specii – în 13 probe investigate (15,6%); din 5 specii – în 5 probe (5,9%) ***și*** din 6 specii de paraziți s-au identificat în 4 probe (4,8%).

Cuvinte-cheie: *Phasianus colchicus*, poliparazitism, coccidii, helminți.

POLYPARASITISM IN PHEASANTS (*PHASIANUS COLCHICUS L.*) FROM VARIOUS NATURAL AND ANTHROPOIZED ECOSYSTEMS IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA

Endoparasites have a significant role in the pathology of pheasants (*Phasianus colchicus* L). During the 2020-2022 period, 123 biological samples taken from pheasants from various natural and anthropogenic biotopes of the Republic of Moldova were examined. The results of the parasitological investigations carried out revealed the presence of polyinvasions consisting of 14 species (*Choanotaenia infundibulum*, *Raillietina tetragona*, *Raillietina echinobotrida*, *Prosthogonimus ovatus*, *Capillaria caudinflata*, *Capillaria annulate*, *Heterakis gallinarum*, *Heterakis isolonche*, *Ascaridia galli*, *Singamus traheia*, *Trichostrongylus tenuis*, *Eimeria colchici*, *Eimeria duodenalis*, *Eimeria phasiani*) of parasites, of which 7 species (*Prosthogonimus ovatus*, *Syngamus tracheia*, *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinarum*, *Raillietina tetragona*, *Raillietina echinobotrida*, *Eimeria duodenalis*) are also common for domestic gallinaceae. It was revealed that 39 samples (31.7%) were infested in the form of monoinvasions, and 84 samples (68.3%) – in the form of polyinvasions. Polyparasitic associations consisting of 2 parasite species were estimated in 36 samples (42.8%); from 3 species – in 26 samples (30.9%); from 4 species – in 13 samples (15.6%); from 5 species – in 5 samples (5.9%) and from 6 species of parasites were identified in 4 samples (4.8%).

Keywords: *Phasianus colchicus*, polyparasitism, coccidia, helminths.

Introducere

Pentru aviafauna cinegetică fazanul comun (*Phasianus colchicus L*) reprezintă cea mai importantă specie atât prin ponderea ei numerică și gradul de răspândire, cât și prin perspectivele care se întrevăd pentru vânătoarea acestei specii în Republica Moldova ha [1]**.**

Fazanul (*Phasianus colchicus*) este o specie aclimatizată în ecosistemele republicii, în perioada reproductivă, populează ecosistemele arboricole, stufărișurile, lizierele pădurilor, culturile multianuale (vii, livezi), în deosebi nelucrate, în apropierea surselor de apă, pe o arie de peste 205 mii ha [2].

Populația fazanului către finele anului 2020 a fost evaluată la circa 97 mii indivizi cu o densitate medie

de 38 fazani la 1 mie ha de teren a fondurilor. Zona de Sud este populată cu densități de peste 33 fazani la 1 mie ha [3]**.**

Totodată, menționăm, că populația fazanului suportă toamna-iarna pierderi de cca 51% din efectivul estimat la începutul sezonului de vânătoare, dintre care 12,9% sunt pierderi din perioada de iarnă a anului 2021. În biotopurile favorabile cuibăritului fazanul este estimat primăvara cu o densitate medie de 41,2 specimene la 100 ha, mai numeros în zona de Sud (61,0 fazani la 100 ha) și în zona de Centru (42,9 fazani la 100 ha). În raioanele de Nord, grație condițiilor mai aspre de iarnă, fazanul a înregistrat densități medii de 19,8 specimene la 100 ha de teren favorabil cuibăritului [2].

Studierea faunei parazitare la păsările sălbatice prezintă un interes major prin faptul că ele într-o perioadă scurtă de timp parcurg distanțe mari de la un continent la altul, transportând, totodată, în/pe organismul lor o gamă bogată de agenți parazitari externi (malofagi, purici, acarieni) și interni (nematode, trematode, cestode etc.) [4].

S-a stabilit, că infestațiile poliparazitare la fazani cu malofagi, purici și acarieni gamazizi duce la o reducere a masei corporale de 228 g, în raport cu păsările neinfestate. Totodată, provoacă modificări metabolice a organismului-gazdă, ca rezultat al acțiunii poliparazitismului [5, 6].

Gh. Olteanu și col. [7] remarcă omniprezența fenomenului de poliparazitism cu protozoare, inclusiv diferite specii de *Eimeria*, *Sarcocystis*, helminți și artropode.

Este menționat că atât animalele sălbatice, cât și cele domestice din Republica Moldova au un grad sporit de infestare cu diverse specii de ecto- și endoparaziți sub formă de mono- și poliinvazii, care în unele cazuri constituie cca 100% [8].

Helminții gastrointestinali (cestode, trematode, nematode) sunt considerați a fi o cauză importantă nu doar a pierderilor în productivitate, dar și a îmbolnăvirilor și, adesea, chiar și a mortalității. Frecvent, la păsările sălbatice de interes cinegetic se înregistrează un poliparazitism asociat. Rezultatele investigațiilor relevă o infestare cu 8 specii de helminți (trematode – 1, cestode – 2 și nematode – 5), care dețin o poziție dominantă în structura poliparazitismului la fazani [9].

Investigațiile parazitologice efectuate la fazanul comun (*Phasianus colchicus* L) în zona de Centru a Republicii Moldova au înregistrat prezența mixtinvaziei cu 14 specii de helminți (Trematoda, Cestoda, Nematoda, Conoidasida), aparținând taxonomic la 7 familii și 8 genuri. Acest studiu a permis aprecierea situației parazitologice, determinarea unor caracteristici în formarea focarelor de agenți parazitari și elaborarea unor măsuri de profilaxie și tratament [10].

Unii autori menționează, că fazanii care sunt poliparazitați cu nematode, cestode și trematode prezintă un rezervor al acestor paraziți în mediul ambiant. Totodată, reprezintă o problemă serioasă pentru programele de conservare a speciilor ca potârnichile, fazanii etc., care implică în principal reproducerea acestor păsări și eliberarea lor în mediul natural [11].

La fazanul comun *(Phasianus colchicus* L, 1758) în Brazilia a fost stabilit poliparazitismul cu diverse specii de nematode: *Dispharynx nasuta* (Rudolphi, 1819; Stiles & Hassall, 1920), *Gongylonema ingluvicola* (Ransom, 1904), *Oxyspirura mansoni* (Cobbold, 1879; Ransom, 1904; Subulura- Nempyra (CraLopez-Nempti) 1923) și *Tetrameres fissipina* (Diesing, 1860; Travassos, 1914). Sunt furnizate date morfologice a speciilor de paraziți, precum prevalența, intensitatea, abundența medie la păsările infestate [12].

La fel a fost stabilit poliparazitismul la galinaceele domestice și sălbatice din Uzbekistan. Autori relevă, că infestările cu helminți la galinaceele domestice și sălbatice au fost de 50,5%. În total, la păsările studiate au fost identificate 43 de specii de helminți, care au fost reprezentate de clasele Cestoda, Trematoda și Nematoda [13].

Totodată, s-a stabilit, că fauna helminților la galinaceele sălbatice în crescătorii s-a dovedit a fi mai diversă la fazani și potârniche, la care s-a evidențiat poliparazitismul cu 20 de specii. Diferența intre fauna helminților galinaceelor domestice și cele sălbatice din crescătorii este direct dependentă de habitat și compoziția alimentelor pe care le consumă [14].

Implicațiile epidemiologice ale parazitozelor la animalele de interes cinegetic, creșterea standardelor sanitare pentru produsele de vânătoare, precum și importanța acordată stării de sănătate a acestora argumentează necesitatea stabilirii prevalenței infestației cu agenți parazitari gastrointestinali la fazani proveniți din fondurile de vânătoare ale Republicii Moldova.

În scopul identificării diverselor specii de endoparaziți, s-au recoltat eșantioane biologice de la fazani din diverse biotopuri naturale și antropizate ale Republicii Moldova.

Material și metode

Pentru stabilirea diversității speciilor de agenți parazitari s-au recoltat de la fazani (*Phasianus colchicus L.*) 123 eșantioane biologice. În scop de identificare a agenților parazitari s-au utilizat metode parazitologice parțiale (după K. I. Skriabin [15], coproovoscopice (Fulleborn, Darling, spălării repetate) și coprolarvoscopice (Popov, Baermann) [16].

Investigațiile au fost efectuate pe parcursul anilor 2020-2022 în cadrul Laboratorului de Parazitologie și Helmintologie al Institutului de Zoologie.

Evaluarea parazitologică s-a efectuat prin determinarea extensivităţii (EI, %) și intensivităţii invaziei (II, exemplare), folosind microscopul Novex Holland B series, ob. 20-40 WF 10x Din/20mm.

Rezultate și discuții

În rezultatul examenului parazitologic a 123 de eșantioane biologice recoltate de la fazani (*Phasianus colchicus L.*) s-a evidențiat un nivel sporit de infestare al acestora cu diverși agenți parazitari: clasa Cestoda – 3 specii (*Choanotaenia infundibulum, EI-2,0%, II–2,0ex.*, *Raillietina tetragona, EI–3,1%, II–2-3ex*, *Raillietina echinobotrida, EI-4,0%, II-1-2ex.*), clasa Trematoda o specie (*Prosthogonimus ovatus*, EI 2,4% și II–1-2 ex.), clasa Secernentea 7 specii (*Capillaria caudinflata*, EI-1,6%, II–3-4ex., *Capillaria annulata*, EI–2,8%, II–1-2ex., *Syngamus tracheia*, EI–3,2%, II–3-5ex., *Heterakis isolonche*, EI–28,3%, II–16-19 ex., *Ascaridia galli*, EI–38,4%, II–20-24 ex., *Heterakis gallinarum*cu, EI–11,5%, II–11-20ex., *Trichostrongylus tenuis*, EI–2,7%, II– 4-5ex.), iar din clasa Conoidasida 3 specii (*Eimeria colchici*, EI–14,6%, II–15oochiști, *Eimeria duodenalis*, EI–20,0%, II–19 oochiști, *E. phasiani*, EI–32,1%, II–26 oochiști) (tab.1).

Tabelul 1. Diversitatea parazitofaunei la fazani (*Phasianus colchicus* L.) din Republica Moldova.

Nr. d/o	Specia invaziei	EI, %	II, ex
Clasa CESTODA			
1.	*Choanotaenia infundibulum* (Bloch,1779)	2,0	2,0
2.	*Raillietina tetragona* (Molin,1858)	3,1	2-3
3.	*Raillietina echinobotrida* (Megnin,1880)	4,0	1-2
Clasa TREMATODA			
4.	*Prosthogonimus ovatus (*Rud.,1803)	2,4	1-2
Clasa SECERNENTEA			
5.	*Capillaria caudinflata* (Zeder,1800)	1,6	3-4
6.	*Capillaria annulata* (Molin, 1858)	2,8	1-2
7.	*Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788)	11,5	11-20
8.	*Ascaridia galli* (Schrank, 1788)	38,4	20-24
9.	*Heterakis isolonche* (Linstow, 1906)	28,3	16-19
10.	*Singamus traheia* (Montagu, 1811)	3,2	3-5
11.	*Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846)	2,7	4-5
Clasa GONOIDASIDA			
12.	*Eimeria colchici* (Norton, 1967)	14,6	15
13.	*Eimeria duodenalis* (Norton, 1967)	20,0	19
14.	*Eimeria phasiani* (Tyzzer, 1929)	32,1	26

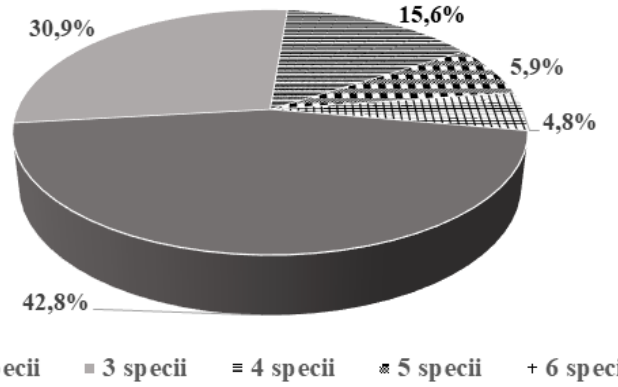
Din totalul de 123 de probe examinate de la fazani s-a evidențiat **că în 39** de probe (31,7%) erau infestate în formă de monoinvazii, iar în 84 de probe (68,3%) erau infestate în formă de poliinvazii.

Examenul parazitologic realizat la fazani a permis de a evidenția asociațiile poliparazitare formate din

2 specii în 36 de probe (42,8%), alcătuite din: *Ascaridia galli + Heterakis isolonche* **-** 11 probe (30,5%); *Ascaridia galli + Heterakis gallinarum* – 7 probe (19,5%); *Singamus traheia + Prosthogonimus ovatus* – 5 probe (13,8%); *Trichostrongylus tenuis + Eimeria phasiani* – 7 probe (19,5%) ***și*** în 6 probe - *Capillaria annulata + Eimeria colchici* (16,7%).

Asociații formate din 3 specii de paraziți s-au identificat în 26 de probe (30,9%) ***și*** fiind formate din: *Choanotaenia infundibulum + Ascaridia galli + Eimera duodenalis* – 11 probe (42,3%); *Heterakis gallinarum + Prosthogonimus ovatus + Capillaria caudinflata* – 3 probe (11,6%); *Raillietina echinobotrida + Ascaridia galli + Trichostrongylus tenuis* – 4 probe (15,3%); *Raillietina tetragona + Ascaridiagalli + Eimeria colchici* – 5 probe (19,2%) ***și*** în 3 probe (11,6%) formate din *Heterakis isolonche + Syngamus tracheia +Eimeria phasiani.*

Figura 1. **Poliparazitismul stabilit la fazani (*Phasianus colchicus* L.) din Republica Moldova.**



Asociații formate din 4 specii de paraziți la fazani s-au identificat în 13 probe investigate (15,6%) și fiind formate din: *Eimeria duodenalis + Ascaridia galli + Choanotaenia infundibulum + Heterakis gallinarum* – în 6 probe (46,2%); *Ascaridia galli + Heterakis isolonche + Prosthogonimus ovatus + Eimeria phasiani* – în 5 probe (38,4%) și în 2 probe (15,4%) *Capillaria annulata + Eimeria colchici + Capillaria caudinflata + Eimeria duodenalis.*

Asociații formate din 5 specii de paraziți s-au identificat în 5 probe (5,9%) și fiind formate din: *Eimeria phasiani + Ascaridia galli + Heterakis gallinarum + Syngamus tracheia + Eimeria duodenalis* – în 2 probe (40,0%); *Ascaridia galli + Prosthogonimus ovatus + Capillaria annulata + Trichostrongylus tenuis+ Eimeria duodenalis* – o probă (20,0%), iar în 2 probe (40,0%) formată din *Ascaridia galli + Raillietina tetragona +Heterakis isolonche + Eimeria phasiani + Trichostrongylus tenuis*.

Asociații poliparazitare formate din 6 specii de paraziți s-au identificat în 4 probe (4,8%) și fiind formate din: *Syngamus tracheia + Ascaridia galli + Heterakis gallinarum + Capillaria annulata + Eimeria duodenalis + Eimeria phasiani* – în 3 probe (75,0%) și în o probă (25,0%) formată din *Raillietina echinobotrida + Prosthogonimus ovatus + Trichostrongylus tenuis + Eimeria colchici + Ascaridia galli + Heterakis isolonche* (fig. 1).

Concluzii

1. La fazani s-a stabilit 14 specii *(Choanotaenia infundibulum, Raillietina tetragona, Raillietina echinobotrida, Prosthogonimus ovatus, Capillaria caudinflata, Capillaria annulate, Heterakis gallinarum, Heterakis isolonche. Ascaridia galli, Singamus traheia, Trichostrongylus tenuis, Eimeria colchici, Eimeria duodenalis, Eimeria phasiani)* de paraziţi, dintre care 7 specii *(Prosthogonimus ovatus, Syngamus tracheia, Ascaridia galli, Heterakis gallinarum, Raillietina tetragona, Raillietina echinobotrida, Eimeria duodenalis),* sunt comune ***și*** pentru galinaceele domestice.
2. La fazani (*Phasianus colchicus* L) s-a evidențiat **că** 39 de probe (31,7%) erau infestate în formă de monoinvazii, iar 84 de probe (68,3%) – în formă de poliinvazii.
3. S-a estimat asociații poliparazitare formate din 2 specii de paraziți în 36 de probe (42,8%); din 3 specii – în 26 de probe (30,9%); din 4 specii – în 13 probe investigate (15,6%); din 5 specii – în 5 probe (5,9%) ***și*** din 6 specii de paraziți s-au identificat în 4 probe (4,8%).

Referinţe:

1. LUNGU-BUCŞAN, A., SAVIN, A., NISTREANU, V., CIOCOI, O. Dinamica populării fazanului comun (*Phasianus colchicus* L) în fondurile de vânătoare a R. Moldova*. Simpozionul ,,Sustainable use and protection of animal world diversity*", Chișinău, Moldova, 30-31 octombrie 2014, pp. 65-67.
2. Anuarul IPM-2021 „Protecția mediului în Republica Moldova". *Inspectoratul pentru Protecția Mediului*, Chișinău, 2021, www. ipm. gov.md; mediu@ipm.gov.md.
3. Anuarul IPM-2019 „Protecția mediului în Republica Moldova". *Inspectoratul pentru Protecția Mediului,* Chișinău, 2020, www. ipm. gov.md; mediu@ipm.gov.md.
4. TODERAŞ, I. și alții. Роль птиц и эктопаразитов в поддержании, возобновлении и возможном появлении новых очаговых зоонозных инфекций. Сообщение 1. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii.* 2008, nr. 2, p. 4-10.
5. TODERAŞ, I., ZAMORNEA, M., RUSU, Ş., ERHAN, D., SAVIN, A., CHIHAI, O., GLIGA, O., BOTNARU, N., GOLOGAN, I., PORCESCU, M. Cuantificarea unor indici biochimici și productivi la fazanii infestați cu ectoparaziți. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei,* vol. 2(338*),* Chișinău, 2019, p. 112-117. ISSN 1857-04X.
6. ZAMORNEA, M., ERHAN, D., RUSU, Ş., SAVIN, A., CHIHAI, O., BOTNARU, N., GOLOGAN, I., COADĂ V., ŢIGANAŞ, A., DUMBRĂVEANU, D. Mixtinvazii cu ectoparaziţi la fazani şi impactul lor asupra indicilor productivi. *Simpozionul „Actual problems of zoology and parasitology: achievements and prospects"* Chișinău, Moldova, 13 octombrie 2017, pp. 229-233.
7. OLTEANU, Gh., PANAITESCU, D., GHERMAN, I. Poliparazitismul la om, animale, plante și mediu. București*: Ceres,* 2001, 593 p.
8. ERHAN, D. și alții. Asociațiile de ecto- și endoparaziți mai frecvent întâlnite la bovine, păsări domestice și pești ciprinizi În: ,,*Protecția, redresarea și folosirea rațională a biodiversității lumii animale". A III-a Conferință a Zoologilor din Moldova cu participare internațională*. Chișinău, 19 octombrie, 1995, p. 38.
9. OLTEANU, Gh. Prevenirea și combaterea invaziilor poliparazitare la fazani și broileri din IAs. Scroviștea în anii 1987-1991. În: *Revista Română de Parazitologie.* 1991, vol. 1, nr 2, p. 56-57.
10. ZAMORNEA, M., RUSU, Ş., ERHAN, D., CHIHAI, O., GLIGA, O., BOTNARU, N. Diversity of pheasant parasitic agents (Phasianus colchicus L.) held in captivity in the Central area of the Republic of Moldova*. Міжнародної наукової конференції «ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я –2022» 22-24 вересня* 2022 р.НУБіП України, м. Київ, p. 244.
11. RZAD, I., ZALEWSKI, K. Intestinal Helminth Communities of Grey Partridge Perdix perdix and Common Pheasant Phasianus colchicus in Poland. În: *Animals* 2021, Vol. 11, no. 12, 3396. https://doi.org/10.3390/ani11123396.
12. PINTO, R., CALDAS-MENEZES, R., CORRÊA-GOMES, D. First report of five nematode species in *Phasianus colchicus* Linnaeus (*Aves, Galliformes, Phasianidae*) În: *Rev. Bras. Zool,* 2004, Vol. 21, no. (4). https://doi.org/10.1590/S0101-81752004000400034.
13. RABBIMOV, S., YORKULOV, J., AKRAMOVA, F., SHAKARBAEV, U., MIRZAEVA, A., SAIDOVA, S., AREPBAEV, I., XAMROKULOVA, Z. Helminths of Galliformes in Uzbekistan: Fauna, Distribution and Ecology. *Central Asian Journal of Theoretical and Applied Science*, 2021 *2*(12), pp. 271-277. ISSN 2660-5317.
14. АКРАМОВА, Ф. Д., ШАКАРБАЕВ, У. А., ЖАНГАБАЕВ, А. С., АРЕПБАЕВ, И. М., РАББИМОВ, С. Ш., АЗИМОВ, Д. А. Гельминты птиц домашних и диких курообразных (Aves: Galliformes) Узбекистана. В: *Российский паразитологический журнал*, 2021, Т. 15, No 2, с. 11–16. https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-2-11-16.
15. СКРЯБИН, К. И. *Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека.* М.; Изд-во 1-го МГУ, 1928, 45 с.
16. RUSU, Ş., ERHAN, D., SAVIN, A., ZAMORNEA, M., RUSU, V., RAILEAN, N., TODERAŞ, I. Parazitofauna, impactul parazitozelor asupra organismului la fazanul comun (*Phasianus colchicus* L.), profilaxia și tratamentul. În: *Ghid metodologic*. Chișinău, 2020, 80 p. ISBN 978-9975-151-89-4.

Date despre autori:
Maria ZAMORNEA, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie
E-mail: mariazamornea@gmail.com
ORCID ID: 0000-0001-8987-3390

Dumitru ERHAN, doctor habilitat în biologie, profesor cercetător, Institutul de Zoologie, USM.
E-mail: dumitruerhan@yahoo.com
ORCID ID: 0000–0001–9722–4382

Ștefan RUSU, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, USM.
E-mail: rusus1974@yahoo.com
ORCID: 0000–0002–3322–9173

Oleg CHIHAI, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Zoologie, USM.
E-mail: olegchihai@yahoo.com
ORCID ID: 0000–0002–5881–0722

Olesea GLIGA, doctor în științe, Institutul de Zoologie, USM.
E-mail: oleseagliga@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-4917-5156

Nicolai BOTNARU, doctor în științe biologice, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, USM.
E-mail: nicolaibotnaru@gmail.com
ORCID ID: 0000-0001-5308-8307

Notă: *Cercetările au fost realizate în cadrul Programului de Stat 20.80009.7007.12. ,,Diversitatea artropodelor hematofage, a zoo- și fitohelminților, vulnerabilitatea, strategiile de tolerare a factorilor climatici și elaborarea procedeelor inovative de control integrat al speciilor de interes socio-economic".*

Prezentat la 15.03.2023

CZU: 597.556.33(478)

PARTICULARITĂȚILE BIOLOGICE ALE BIBANULUI-SOARE – *LEPOMIS GIBBOSUS* (LINNAEUS, 1758) DIN LACUL REFRIGERENT CUCIURGAN

Mihail MUSTEA
Institutul de Zoologie al USM, Universitatea de Stat Nistreană ,,T. G. Şevcenco”

Serghei FILIPENCO
Universitatea de Stat Nistreană ,,T. G. Şevcenco”

Dumitru BULAT
Institutul de Zoologie al USM

Bibanul–soare a fost înregistrat pentru prima dată la gura Nistrului în anul 1952, **însă în** ihtiofauna limanului Cuciurgan – doar în 1965. **Începând** cu a doua jumătăte a anilor 1960 nu a fost înregistrat în lacul refrigerent Cuciurgan până în anii 2000. Din 2004 se înregistrau exemplare unice, care, probabil, au nimerit, împreună cu apa pompată din brațul Turunchuk. Ponderea bibanlui–soare în capturile de control din lacul refrigerent Cuciurgan a crescut de la 0,5% în 2008 la 15,7% în 2017 devenind o specie eudominantă. Abundența înaltă a bibanului–soare atinsă într-o perioadă scurtă de timp se explică prin tipul de reproducere porționat, prolificitatea înaltă, vârsta precoce de atingere a maturității sexuale și, de asemenea grija față de progenituri. În rezervorul Cuciurgan au fost capturate femele mature de biban–soare cu o greutate de 7,2 g, iar, având, o greutate de 13,4 g, deja conțineau ovare în stadiul IV de maturare. Bibanul–soare a lacului refrigerent Cuciurgan se caracterizează cu o rată ridicată de creștere, astfel lungimea standard maximală a corpului este peste 17 cm **și o greutate corporală** de 220 g. Pentru aproximarea datelor de monitorizare a abundenței bibanlui–soare a fost obținut un model polinomial de gradul IV (coeficient de fiabilitate R2 = 0,8211), care descrie caracteristica de creștere rapidă a populației acestei specii invazive, ulterior a urmat timp de 4 ani o etapă de stabilizare a populației, după care se caracterizează printr-o scădere a abundenței, datorită apariției unei specii străine în rezervor – crabului de mâl.

Cuvinte-cheie: *bibanul–soare, lacul refrigerent Cuciurgan, ihtiofauna, rezervor, abundență.*

BIOLOGICAL PARTICULARS OF THE SUN PERCH – *LEPOMIS GIBBOSUS* (LINNAEUS, 1758) FROM THE CUCIURGAN RESERVOIR-COOLER

The sun perch was recorded for the first time at the mouth of the Dniester in 1952. In the ichthyofauna of the Cuciurgan harbor in 1965. Starting with the second half of the 1960s, it was not recorded in the Cuciurgan refrigeration lake until the 2000s. From 2004, unique specimens were recorded, which probably hit, together with the water pumped from the Turunchuk arm. The share of sun perch in the control catches of Cuciurgan Refrigerating Lake increased from 0.5% in 2008 to a record 15.7% in 2017. The high abundance of sun perch in a short period is explained by the type of portioned reproduction, high prolificacy, early age of sexual maturity and also care for offspring. In the Cuciurgan reservoir, mature sun perch females weighing 7.2 g were captured, and with a weight of 13.4 g they were identified in stage IV of gonad maturation. The sun perch of the Cuciurgan Refrigerating Lake is characterized by a high growth rate, thus the maximum standard body length is greater than 17 cm with a mass of 220 g. A polynomial model was used to approximate the sun perch abundance monitoring data of degree IV (reliability coefficient R2 = 0.8211), which determines the characteristic of rapid growth of invasive fish species, then followed for 4 years a stage of stabilization of the population, after which it is characterized by a decrease in abundance, due to the appearance of a foreign species in the tank – the mud crab.

Keywords: *Lepomis gibbosus, Kuchurgan cooling lake, ichtyofauna, reservoir, abundance.*

Introducere

Una dintre speciile invazive de pești răspândite ale bazinului Nistrului este bibanul–soare – *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758), care se întâlnește în lacul de acumulare Cuciurgan, Nistrul de Jos, brațul Turunchuk, iar în 2020 a fost remarcat și în lacul de acumulare Dubăsari [1]. Potențialul invaziv al bibanului–soare conform protocolului FISK este evaluat la 34 de puncte [2]. Bibanul–soare aparține ordinului Centrarchiformes familiei Centrarchidae. Arealul nativ al babanului–soare include bazinele Golfului Hudson, lacurile Americane Mari, bazinele fluviilor Mississippi și Missouri și apele din Carolina de Sud și nord-vestul Georgiei. În prezent, arealul secundar al bibanului–soare pe continental Nord-American s-a extins și acoperă cea mai mare parte a Canadei, cursul mijlociu al fluviului Mississippi, întregul bazin Missouri, aproape toate statele de est și vest ale SUA [1].

La sfârșitul secolului XIX, în scop decorativ (acvariumistic), bibanul–soare a fost adus mai întâi în Franța, apoi în Germania, de unde a ajuns în bazinele râurilor Rin, Oder și Dunăre [3] și s-a răspândit în mod natural în aproape toată Europa [4]. În prezent se întâlnește în cel puțin 28 de țări din Europa și Asia Mică [5]. În perioada inundațiilor mari, bibanul–soare din Dunăre a pătruns în râul Prut și afluenții săi, precum și în lacurile și iazurile adiacente. Ulterior, s-a răspândit în toată regiunea de nord-vest a Mării Negre, inclusiv în râul Nistru. Bibanul–soare a fost înregistrat pentru prima dată la gura Nistrului în 1952 [6].

Scopul lucrării constă în studierea particularităților biologice ale bibanului–soare din lacul de acumulare Cuciurgan.

Metode și materiale aplicate

Materialele ihtiologice pentru studiul reflectat în lucrare au fost colectate în urma pescuiturilor științifice de control în lacul refrigerent Cuciurgan, în perioada anilor 2019-2022. Studiile ihtiologice reflectate în lucrare s-au efectuat folosind metodele clasice in condiții de teren și laborator [7, 8, 9]. Pentru capturarea peștelui, s-a utilizat o gamă variată de unelte: plasele staționare cu latura de 20x20, 25x25, 32x32, 40x40, 50x50, năvodul pentru puiet cu lungimea de 5 m și dimensiunea laturii ochiului de 5x5 mm și vintire. Capturile au fost efectuate în diferite perioade ale zilei. Analizei ihtiologice complexe au fost supuse în total 121 exemplare de biban–soare. Datele obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorol programei Excel – 2019.

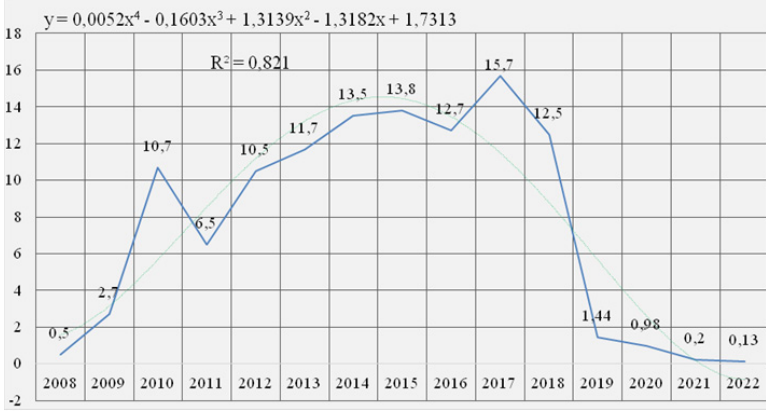
Pentru a aproxima datele de monitorizare a valorilor abundențelor bibanului–soare din acest ecosistem s-a utilizat un model polinomial de gradul 4.

Rezultate şi discuţii

La analiza literaturii științifice de specialitate, începând cu anii 1920, bibanul–soare a fost identificat în ihtiofauna lacului refrigerent Cuciurgan abia în anul 1965 [10]. După construirea centralei termice Moldovenești, bibanul–soare a dispărut și nu a fost observat în rezervor până în anii 2000. Din 2004, exemplare unice de biban–soare au fost înregistrate în ihtiofauna lacului de acumulare Cuciurgan [11], care, cel mai probabil, a nimerit, împreună cu apa pompată din brațul Turunchuc [12].

Începînd cu anul 2007, indivizi de biban–soare sunt prezenți în mod regulat în capturile de control ale lacului refrigerent Cuciurgan [13]. Ponderea bibanlui–soare în capturile de control ale lacului refrigerent Cuciurgan a crescut de la 0,5% în 2008, la maximum 15,7% în 2017 și 0,13% în 2022 (Fig. 1).

Fig. 1. Dinamica ponderii bibanului–soare – Lepomis gibbosus (în %) conform abundenței în ihtiofauna lacului refrigerent Cuciurgan.



Într-o perioadă scurtă de timp, bibanul–soare de la semnalări sporadice în 2004 a trecut în 2010 în categoria speciilor eudominante, în care s-a menținut pentru următorii 8 ani. Ponderea maximă (15,7%) a speciei în capturile de control a fost înregistrată în 2017.

Creșterea rapidă a numărului bibanului–soare într-o perioadă scurtă în lacul refrigerent Cuciurgan se explică prin faptul că această specie are un tip de reproducere porționat, prolificitatea înaltă (de la 500 la 5000 de icre), vârsta precoce de atingere a maturității sexuale (1-2 ani) și, de asemenea, grija față de progenituri [1].

În anul 2016 în rezervorul Cuciurgan pentru prima dată a fost înregistrată o nouă specie invazivă - crabul de mâl - *Rhithropanopeus harrisi* (Gould, 1841) [14], care a format deja aici o populație stabilă [15]. Apariția și creșterea abundenței crabului de mâl în rezervor a fost însoțită, începând din 2018, de o scădere bruscă a abundenței bibanului–soare în capturile de control. Probabil, motivul pentru aceasta a fost creșterea numărului de crabi în lacul refrigerent Cuciurgan, împreună cu caracteristicile de reproducere ale bibanului–soare. Bibanul–soare depune icrele în cuiburi construite la fundul rezervorului, care, probabil, devine o pradă ușoară pentru crabul de mîl [16]. Un fapt interesant este că crabul de mâl a fost inclus în lanțul trofic și a devenit obiect trofic pentru bibanul comun [17], iar conform observațiilor pescarilor cu crabi de dimensiuni mici se hrănește și crapul.

Pentru a caracteriza dinamica populațională a bibanului–soare din lacul refrigerent Cuciurgan și pentru aproximarea datelor despre abundența acestuia a fost obținut un model polinomial de gradul IV (coeficient de fiabilitate R2 = 0,8211). Acest model ($y=0,0052x^4 - 0,1603x^3+1,3139x^2 - 1,3182x+1,7313$) demonstrează creșterea rapidă a speciilor de pești invazivi, apoi a urmat timp de 4 ani o etapă de stabilizare a populației, după care se caracterizează printr-o scădere a abundenței, datorită apariției unei specii străine în rezervor – crabul de mâl.

Maturizarea sexuală a bibanului–soare din rezervorul Cuciurgan are loc la vârsta de un an – doi. În lacul refrigerent Cuciurgan au fost capturate femele mature de biban–soare cu o greutate de 7,2 g, iar, începând cu greutatea de 13,4 g se identifică indivizi cu gonadele în stadiul IV de maturizare. În Prutul inferior au fost capturați indivizi maturi cu o greutate corporală de 6,2-6,5 g [18].

Perioada de depunere a icrelor de către bibanul–soare în rezervorul Cuciurgan începe în a treia decadă a lunii mai, la o temperatură a apei de 20 °C și continuă până la sfârșitul lunii iulie. Femelele mai mari, în vârstă de cinci ani, sunt primele care încep să depună icre, în timp ce la indivizii de patru ani, ovarele în această perioadă continuă să rămână în stadiile de maturitate IV finalizate și IV-V. [19]. Studiile noastre privind structura de sex a populației de biban–soare din acest ecosistem demonstrează dominarea femelelor în raport de 1,5:1 sau 60,4% : 39,6%.

Comportamentul masculilor bibanului–soare în perioada de depunere a icrelor devine foarte captivant. Înaintea sezonului de reproducere, ei ocupă teritorii mici în zona de coastă, la o adâncime aproximativ de 50-100 cm, le curăță de plante cu ajutorul gurii, înotătoarelor pectorale și caudală și își construiesc un cuib de formă rotundă cu diametru de aproximativ 20 cm. În perioada de construire a cuibului masculii devin foarte agresivi, gata să atace indivizi și mai mari. Dacă prinzi un mascul din cuib, atunci apare imediat altul în locul acestuia.

În Nistrul de Jos și râul Prut, lungimea maximă a unui biban–soare rar depășește lungimea standard de 13 cm și o greutate de 60 g. [20]. Lungimea standard a bibanului–soare din lacul Zaporizhia nu depășește 10 cm [21]. În timp ce, în lacul de acumulare Cuciurgan, lungimea standard a corpului unui biban–soare este mai mare de 17 cm, atingând o greutate de 220 g. (Fig. 1, Tabelul 1).

Fig. 2. Bibanul–soare – Lepomis gibbosus din lacul refrigerent Cuciurgan (foto autor).

Tabelul 1. Parametrii eco-biologici ai bibanului–soare din lacul refrigerent Cuciurgan.

Vârsta	**(0^+)**	**(1^+)**		**(2^+)**		**(3^+)**		**(4^+)**	
Sex	Juvenil	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
An.	10	11	10	18	13	15	9	23	12
Lungimea L, med.(cm.)	5,34±0,46	8,7±0,19	7,8±0,18	11,4±0,26	9,6±0,35	15,4±0,27	14,5±0,6	18,8±0,28	17,3±0,2
Lungimea L, min – max (cm.)	3,5–7,1	8–10	6,9–9	9,9–14	8,5–12,1	13,7–17,5	11,5–16,4	17,3–21,3	16,2–19
Lungimea l, med. (cm.)	4,46±0,36	7,08±0,17	6,33±0,17	9,42±0,21	7,8±0,3	12,5±0,23	11,9±0,5	15,8±0,23	14,4±0,2
Lungimea l, min – max (cm.)	3–5,7	6,6–8,2	5,4–7,5	8,2–11,5	6,9–9,7	11,1–14,5	9,6–13,9	14–17,9	13,6–16
Masa corpului P, med. (g.)	2,96±0,52	11,2±1,49	7,37±1,27	34,1±3,43	15,5±2,6	85,4±5,6	58,7±5,7	151±7,6	105,3±6,9
Masa corpului P, min – max (g.)	0,8–5	7,1–20	4,5–18	20–71	7–35	51–105	36–75	115–220	70–160
Masa p, med. (g.)	2,8±0,51	10,3±1,31	6,81±1,16	28,02±3,1	14,2±2,5	74,6±5,2	54,4±5,7	131,3±6,2	98,1±5,9
Masa p, min – max (g.)	0,7–4,7	6,4–18	4,2–16,5	16,8–60	6,6–33	45–89	31–71	97–180	65–141
Correl. între (l și P)	0,98	0,91	0,85	0,94	0,99	0,86	0,96	0,84	0,89
Correl. între (l și P) comun	0,94								
I_g Fulton	3,04±0,15	3±0,2	2,76±0,24	3,8±0,1	2,9±0,14	4,18±0,1	3,5±0,14	3,76±0,08	3,5±0,12
I_g Fulton, min – max	2,22–3,73	2,4–4,4	1,98–4,27	3,05–4,75	2,04–3,8	3,58–4,63	2,7–4,1	2,78–4,6	2,7–4,2
I_g Fulton, comun	3,47±0,059 (1,98 – 4,75)								
I_g Clark	2,84±0,14	2,75±0,17	2,55±0,22	3,12±0,1	2,7±0,13	3,62±0,07	3,2±0,1	3,3±0,07	3,28±0,12
I_g Clark, min – max	2,11–3,5	2,19– 3,94	1,85– 3,9	2,72– 4,1	1,9– 3,6	3,23– 4	2,5– 3,5	2,56–4	2,58–4,1
I_g Clark, comun	3,08±0,048 (1,85 – 4,15)								

Indicatorii morfologici înalți se datorează faptului că, bibanul-soare, fiind o specie termofilă, a găsit condiții favorabile în lacul de acumulare Cuciurgan, unde temperatura apei din cauza funcționării centralelor termice devine mai ridicată decât în alte ecosisteme acvatice cu regim termic natural. În hrana bibanului–soare a fost semnalată *Dreissena polymorpha* [20], ceea ce permite bibanului–soare să acționeze ca un biomeliator.

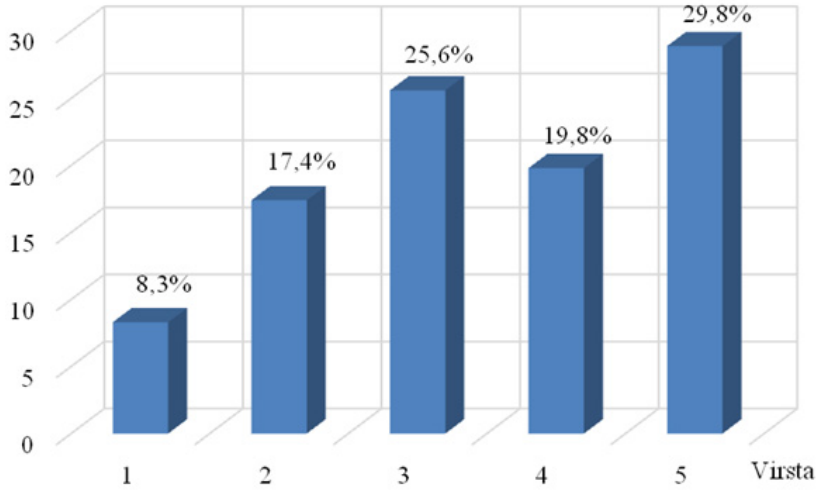
Caracteristicile biologice ale bibanului–soare din rezervorul Cuciurgan (indicatori ai lungimii totale și standard, greutatea indivizilor) sunt prezentate în Tabelul 1. Pentru o caracterizare mai completă a stării biologice a bibanului–soare din rezervorul Cuciurgan, a fost analizată valoarea coeficientului de ingrășare conform Fulton și Clark, care atinge 3,47±0,059 și 3,08±0,048 respectiv.

Lungimea totală a masculilor a variat în intervalul 8,0 și 19,0 cm, iar a femelelor – de la 10,0 la 21,3 cm. Indivizii juvenili de vârsta o vară (0+) au avut lungimea stadart de la 3,5 până la 7,1 cm și masa de la 0,8 până la 5,0 g. Femele cu vârsta de (1^+) – 6,6–8,2 cm cu o greutate de 7,1–20 g. Masculi – 5,4–7,5 cm și 4,5–18 g. Femele cu vârsta de (2^+) – 8,2–11,5 cm și 20–71 g, masculi – 6,9–9,7 cm și 7–35 g. Femele cu vârsta de (3^+) – 11,1–14,5 cm și 51–105 g, masculi – 9,6–13,9 cm și 36–75 g. Femele cu vârsta de (4^+) – 14–17,9 cm și 115–220 g, masculi – 13,6–16 cm și 70–160 g.

Conform datelor din literatură, lungimea medie a corpului femelelor bibanului–soare de cinci ani în apele naturale ale Republicii Moldova este de 14,5 ± 0,21 [19]. Conform rezultatelor studiilor noastre din ecosistemul lacului Cuciurgan, lungimea medie a femelelor bibanului–soare atinge în medie 15,8 ± 0,23 cm. În capturile de control bibanul–soare a fost reprezentat de indivizi de la 0+ la 5 ani, cu dominarea următoarelor grupe de vârstă: cinci ani (29,8%), trei ani (25,6%) și patru ani (19,8%).

Din figura 3. constatăm că în capturi predomină indivizii din grupele de vârstă mai superioare, ceea ce nu corespunde modelului general de dezvoltare a populației pentru speciile invazive de pești. Grupele superioare de vârstă a bibanului–soare au apărut în 2017-2018, când numărul de crabi de mâl din ecosistem era încă minimal și nu afecta mortalitatea icrelor depuse de biban ca rezultat al rapacității înalte. *În viitor,* putem presupune o depresie și mai mare a efectivelor populaționale a acestei specii în lacul de acumulare Cuciurgan.

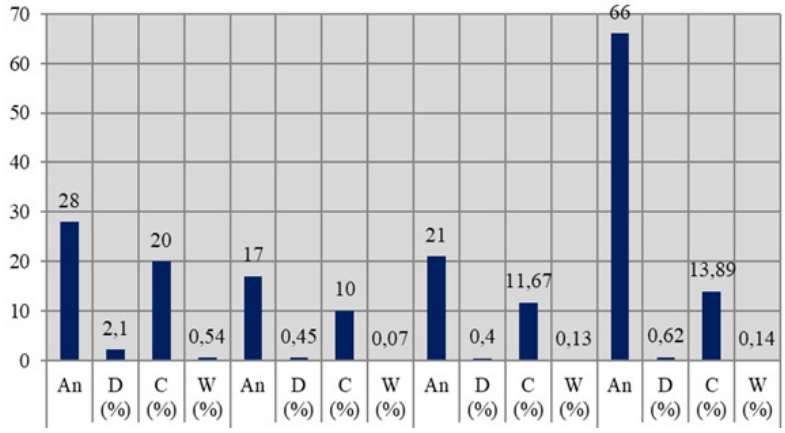
Fig. 3. Structura de vârstă a bibanului–soare în capturile de control a lacului refrigerent Cuciurgan.



În perioada anilor 2019-2022 au fost capturate cu ajutorul năvodului pentru puiet 66 exemplare de biban–soare, inclusiv 28 de exemplare în sectorul superior al lacului, 17 exp. - în sectorul mijlociu și 21 exp. în sectorul inferior.

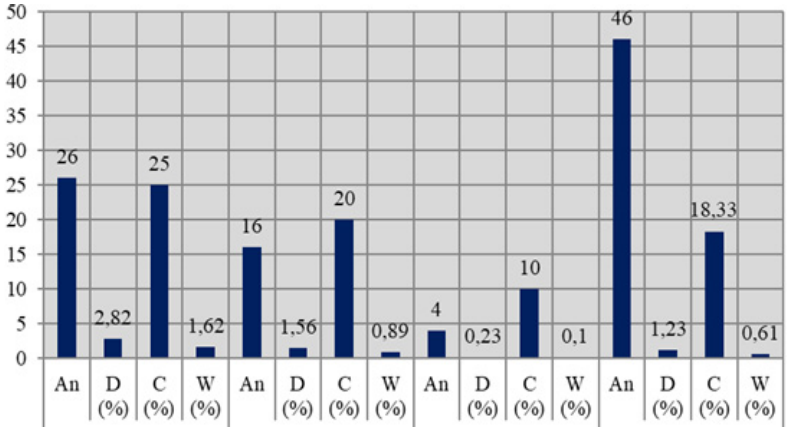
Conform valorii dominanței bibanul–soare, care anterior făcea parte din categoria speciilor eudominante (D5) [20], în prezent a trecut la categoria speciilor subrecedente (D1) = 0,62%, $D_{superior}$ = 2,1%, $D_{mijlociu}$ = 0,45%; $D_{inferior}$ = 0,4%. Conform indicelui constanței, specia se încadrează în categoria celor accidentale (C1) – 13,89%, respectiv pe sectoare: $C_{superior}$ = 20%, $C_{mijlociu}$ = 10%, $C_{inferior}$ = 11,67%. Conform indicelui de semnificație ecologică (W), taxonul aparține categoriei speciilor accesorii (însoțitoare) (W2) – 0,14%, respectiv pe sectoare: $W_{superior}$ = 0,54%, $W_{mijlociu}$ = 0,07%, $W_{inferior}$ = 0,13% (Fig. 4).

Fig. 4. Indici ecologici analitici: dominanța (D), constanța (C) și indicele de semnificație ecologică (W) a bibanului–soare din lacul refrigerent Cuciurgan în capturile cu năvodul pentru puiet.



În pescuituri s-a utilizat pe lângă năvodul pentru puiet și plasele staționare cu dimensiunile laturii ochiului 25x25mm – 40x40 mm. Astfel, în perioada 2019-2022 au fost capturate 46 exemplare de biban–soare, inclusiv 26 exemplare în sectorul superior, 16 în sectorul mijlociu și 4 în sectorul inferior. Calculul indicilor ecologici la bibanul-soare în capturile cu plasele staționare din ecosistemul lacului refrigerent Cuciurgan este prezentat în fig. 5.

Fig. 5. Indici ecologici analitici: dominanța (D), constanța (C) și indicele de semnificație ecologică (W) la bibanul–soare din lacul refrigerent Cuciurgan capturați cu plasele fixe cu latura ochiului 25x25 mm - 40x40 mm.



Conform distribuției spațiale, acesta este repartizat mai mult sau mai puțin uniform pe toată suprafața lacului refrigerent Cuciurgan. În zonele climatice cu un regim termic mai ridicat, bibanul–soare dovedește oportunități excepționale de reproducere. Deci, ajungând în apele Braziliei, se poate reproduce pe tot parcursul anului, iar în Grecia și Spania poate depune până la patru porții de icre [20].

Concluzii

1. Pentru prima dată, bibanul–soare a fost identificat la gura de vărsare a fluviului Nistru în anul 1952, în limanul Cuciurgan – în anul 1965. Dispărut după construcția centralei termice Moldovenești specia a reapărut din nou în capturi în anul 2004.

2. Ponderea bibanului–soare în capturile din lacul refrigerent Cuciurgan a crescut de la 0,5% în anul 2008 până la 15,7% în 2017. Creșterea rapidă a numărului bibanului–soare în rezervorul Cuciurgan este asociată cu un tip de reproducere porționat, prolificitatea înaltă (de la 500 la 5000 de icre), vârsta precoce de atingere a maturității sexuale (1-2 ani) și, de asemenea, grija față de progenituri.

3. Apogeul dezvoltării populaționale la specia invazivă biban–soare din lacul refrigerent Cuciurgan s-a constatat în perioada anilor 2008-2013, după care a urmat timp de 4 ani o perioadă de stabilizare, iar ulterior o scădere bruscă a valorilor cantitative ca rezultat al apariției unei specii străine în rezervor – crabului de mâl, servind ca un devorator activ de icre de biban–soare.

Referinţe:

1. МУСТЯ, М. Солнечный окунь (Lepomis gibbosus) Кучурганского водохранилища и его первая находка в Дубоссарском водохранилище. В: Международной конференции «Евроинтеграция и управление бассейном Днестра». Кишинёв, Молдова, 8-9 октября 2020, с. 212-215. ISBN 978-9975-89-182-0.
2. BULAT, DM., BULAT, DN., TODERAŞ, I., USATÎI, M., FULGA, N., DUMBRAVEANU, D., RUSU, V., SILITRARI, A. Potenţialul invaziv al speciilor de peşti şi factorii determinanţi ai ihtiocenozelor ecosistemelor acvatice din Republica Moldova. In: Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii. Nr. 2(320) 2013, p. 35-48. ISSN 1857-064X.
3. ДИРИПАСКО, О., ДЕМЧЕНКО, Н., КУЛИК, П., ЗАБРОДА, Т. Расширение ареала солнечного окуня, Lepomis gibbosus (Centrarchidae, Perciformes), на восток Украины. В: Вестник зоологии. Киев, 2008, Т. 42, № 3, с. 269-273. ISSN: 0084-5604.
4. BĂNĂRESCU, P. Pisces, Osteichthyes. (Fauna Republicii Populare Romîne, V.13.). Bucureşti: Editura Academiei Republicii Populare Romîne, 1964, 935 p.
5. COPP, G., FOX, M. Growth and life history traits of introduced pumpkinseed (Lepomis gibbosus) in Europe, and the relevance to its potential invasiveness. In: Biol. Invad. in Inl. Wat.: Profiles, distrib. and threats. Invad. Nature – Springer Ser. In Invas. Ecol., 2007, V. 2, p. 289–306.
6. АФАНАСЬЕВ, С., ГУПАЛО, Е., МАНТУРОВА, О. Расселение и особенности биологии солнечного окуня Lepomis gibbosus (Perciformes: Centrarchidae) в водоемах Киева. В: Гидробиологический журнал. Киев, 2017, № 1. Т. 53, с. 16-27. ISSN 0375-8990.
7. ПРАВДИН И. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). Москва: Пищевая промышленность, 1966, 376 с.
8. BULAT, DM., BULAT, DN., TODERAŞ, I., USATÎI, M. Fauna piscicolă. Monitoringul calității apei și evaluarea stării ecologice a ecosistemelor acvatice. Îndrumar metodic. Chișinău: Elan Poligraf, 2015, p. 65-84. ISBN 978-9975-66-503-2.
9. BULAT, DN., BULAT, DM., USATÎI, M. Ihtiofauna în condițiile construcțiilor hidrotehnice din ecosistemele riverane. Ghid metodologic pentru monitorizarea impactului hidroenergetic asupra ecosistemelor fluviale transfrontaliere. Chișinău: Tipografia centrală, 2021, p. 42-56. ISBN 978-9975-157-80-3.
10. 10. МУСТЯ, М., ФИЛИПЕНКО, С. И. Ихтиофауна Кучурганского (лимана) водохранилища от Ф.Ф. Егермана (1922-1925) до наших дней: литературный обзор. В: Вестник Приднестровского университета. Сер.: Медико-биологические и химические науки: № 2 (71), 2022. Тирасполь: Изд-во Приднестр. ун-та, 2022, с. 132-143. E-ISSN 1857-4246.
11. СТРУГУЛЯ О., МУСТЯ М. Изменение ихтиоценоза Кучурганского водохранилища в историческом плане и современное состояние ихтиофауны водоема. В: Hydropower impact on river ecosystem functioning: Proceedings of the International Conference. Tiraspol: Eco-Tiras, 2019, с. 319–326. ISBN 978-9975-56-690-2.
12. ФИЛИПЕНКО, С., МУСТЯ, М., ФИЛИПЕНКО, Е. Чужеродные гидробионты Кучурганского водохранилища. В: Материалы XXIV Международной научной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России». Магас, Махачкала: Издательство АЛЕФ, 2022, с. 552-558. ISBN 978-5-00212-129-8.
13. ФИЛИПЕНКО, С., МИТРОХИН, И. Современное состояние ихтиофауны Кучурганского водохранилища. В: Чтения памяти кандидата биологических наук, доцента Л. Л. Попа. Тирасполь: Изд-во Приднестр. ун-та, 2010, с. 67-78.
14. ФИЛИПЕНКО, С., МУСТЯ, М. О первой находке голландского краба Rhithropanopeus harrisi tridentata (Maitland, 1874) в Приднестровье. В: Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды: Материалы V Междунар. науч. конф. Минск – Нарочь, БГУ, 2016, с. 397-398.
15. ФИЛИПЕНКО, С. О формировании популяции голландского краба Rhithropanopeus harrisi (Gould, 1841) в Кучурганском водохранилище В: EU Integration and Management of the Dniester River Basin” – Proceedings of the International Conference. Chisinau: Eco-TIRAS, p. 309-312. ISBN 978-9975-89-182-0.
16. ФИЛИПЕНКО, С. Зообентос Дубоссарского и Кучурганского водохранилищ. Кишинэу : Б. и., 2023 (ПГУ), 215 p. ISBN 978-9975-3610-1-9.

17. МУСТЯ, М. Чужеродные виды рыб Кучурганского водохранилища В: Conferinţa ştiinţifică naţională a doctoranzilor dedicată aniversării a 75-a a USM. Metodologii contemporane de cercetare şi evaluare. Chişinău: CEP USM, 2022, p. 60-64.
18. BULAT, DM. Ihtiofauna Republicii Moldova: geneza, starea actuală, tendințe și măsuri de ameliorare / Teză de doctor habilitat în științe biologice. Chișinău, 2019, 269 p.
19. ФУЛГА, Н., КРЕПИС, О., БУЛАТ, ДМ., БУЛАТ, ДН., СТРУГУЛЯ, О. Биологическая характеристика самок солнечного окуня (Lepomis gibbosus) и цитоморфологическое состояние его репродуктивной системы в водоёмах Молдовы. В: Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы IV научно–практической Международной конференции. Тирасполь, 2012, с. 324–326. ISBN 978-9975-4062-8-4.
20. BULAT, DM. Ihtiofauna Republicii Moldova: amenințări, tendințe și recomandări de reabilitare. Chișinău: Foxtrod, 2017. 343 p. ISBN 978-9975-89-070-0.
21. ФЕДОНЕНКО, Е., МАРЕНКОВ, О. Расселение, пространственное распространение и морфометрическая характеристика солнечного окуня Lepomis gibbosus (centrarchidae, Perciformes) Запорожского водохранилища. В: Российский Журнал Биологических Инвазий № 2, 2013, с. 51-60. INSS 1996-1499.

Date despre autori:
Mihail MUSTEA, Institutul de Zoologie, USM, Universitatea de Stat Nistreană „T. G. Şevcenco”.
E-mail: mustya91@mail.ru
ORCID: 0009-0004-7675-1174

Serghei FILIPENCO doctor în științe biologice, conferenţiar universitar, Universitatea de Stat Nistreană „T. G. Şevcenco”.
E-mail: zoologia_pgu@mail.ru
ORCID: 0000-0002-3210-6075

Dumitru BULAT doctor habilitat în științe biologice, conferenţiar cercetător, Institutul de Zoologie, USM.
E-mail: bulatdm@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-1134-7176

Notă: *Articolul a fost elaborat în cadrul proiectului №. 20.80009.7007.06 AQUABIO.*

Prezentat la 27.03.2023

CZU: 597.556.11:556.55(478)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АТЕРИНЫ ЮЖНОЕВРОПЕЙСКОЙ МАЛОЙ (ATHERINA BOYERI) КУЧУРГАНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Михаил МУСТЯ

Институт зоологии Молдовы, МГУ,
Приднестровский государственный университет им. Т. Г. Шевченко

CARACTERISTICA BIOLOGICĂ A ATERINEI MICI-PONTICE *(ATHERINEI BOYERI)* DIN LACUL DE ACUMULARE CUCIURGAN

Aterina-mică-pontică prima dată a fost înregistrată în lacul refrigerent Cuciurgan în anii 1980. Conform presupunerilor noastre, a pătruns împreună cu apa pompată din braţul Turunchuk. Fiind o specie invazivă cu ciclu vital scurt – aterina-mică-pontică, datorită valenţei ecologice largi şi potenţialului reproductiv înalt, a ocupat, în scurt timp, o poziţie superdominantă. **În prezent, este cea mai numeroasă specie de peşte din lac,** ponderea căreia pe parcursul anilor 2019-2022 atinge valoarea de 55,3%. Ritmul creşterii şi structura de vârstă a populaţiei locale s-a redus de două ori. Datorită mineralizării **înalte a apei** lacului **şi termoficării** accentuate, aterina-mică-pontică fiind specie de origine mediteraneană s-a integrat rapid în structura ihtiofaunei acestui ecosistem. După indicele de dominanţă, specia aparţine categoriei D5, după indicele de constanţă – C3, după indicele de semnificaţie pentru mediu – categoriei W5. Dimensiunile şi greutatea maximă a masculilor sunt de 9,4 cm şi 3,9 g, iar a femelelor de 9,8 cm şi respectiv 4,3 g, ceea ce denotă că sunt mai joase în comparaţie cu forma marină. În perioada anilor 2008-2022, se constată o creştere exponenţială a populaţiei aterinei-mici-pontice, care poate duce la excluderea speciilor indigene de peşti.

Cuvinte-cheie: *aterina-mică-pontică, lacul refrigerent Cuciurgan, ihtiofauna, dominant, parametri biologici.*

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *ATHERINA BOYERI* OF THE KUCCHURGAN RESERVOIR LAKE

Aterina boyeri for the first time was recorded the cooling lake Cuciurgan in the 1980s. According to our assumptions, nimerind, together with the water pumped from the Turunchuk arm. Being an invasive species with a short life cycle – aterina boyeri, due to its wide ecological valence and high reproductive potential, it occupied, in a short time, a superdominant position. Currently, it is the most numerous fish species in the lake, whose share during the years 2019-2022 reaches the value of 55,3%. The growth rate and age structure of the local population has halved. Due to the high mineralization and increased thermalization of the reservoir, the aterina boyeri, being a mediterranean, thermophilic species, found a favorable ecological niche here. According to the dominance index, it belongs to the D5 category, according to the constancy index – C3, according to the environmental significance index – to the W5 category. The maximum size and weight of males is 9.4 cm and 3.9 g, and females are 9.8 cm and 4.3 g, which is smaller compared to the marine form. In the period of 2008-2022, there is an exponential increase in the population of the aterina boyeri, which can lead to the exclusion of indigenous fish species.

Keywords: *aterina boyeri, Kuchurgan cooling lake, ichtyofauna, dominant, biological parameters.*

Введение

Атерина является нативным видом Черного моря [1]. Она массово распространена в Черном и Азовском морях. Относится к стайным пелагическим рыбам, обитающим в водах с соленостью от 7 до 36 ‰. Часто заходит в распресненные участки устьев рек и осолоненные заливы и лиманы, совершая миграции к местам нагула, нереста и зимовки [2]. В последнее время отмечается увеличение численности южноевропейской малой атерины на участке Нижнего Днестра [3;4].

Цель работы состоит в изучении биологической характеристики атерины южноевропейской малой – Aterina boyeri (Linnaeus, 1758) Кучурганского водохранилища, у которой из всего списка рыб, наиболее ярко проявляется тенденции роста численности и расширения ареала.

Материал и методы

Материал исследований был получен в результате контрольных ловов на Кучурганском водохранилище в период с 2019 по 2022 гг. Уловы проводили бреднем длиной 7 м с шагом ячеи 5 мм. Ловы проводили в разное время суток. Всего были отобраны 180 ихтиологических проб. Было выловлено 6550 экземпляров атерины (в том числе на верхнем участке – 330, на среднем участке – 1372, на нижнем участке – 4848), 524 из которых были морфометрически исследованы, взвешены, определен их пол и возраст. Обработка и анализ собранного материала проводились по общепринятым в ихтиологии стандартным методикам [5;6;7]. Статистическая обработка материала осуществлена с помощью программ Excel-2019. Рассматривались следующие экологические аналитические и синтетические индексы, выражающие следующие значения: D − индекс доминирования; C − индекс постоянства; W − индекс экологической значимости. По значениям индексов установлены категории, которые представлены в таблице 1.

Таблица 1. Значения экологических индексов.

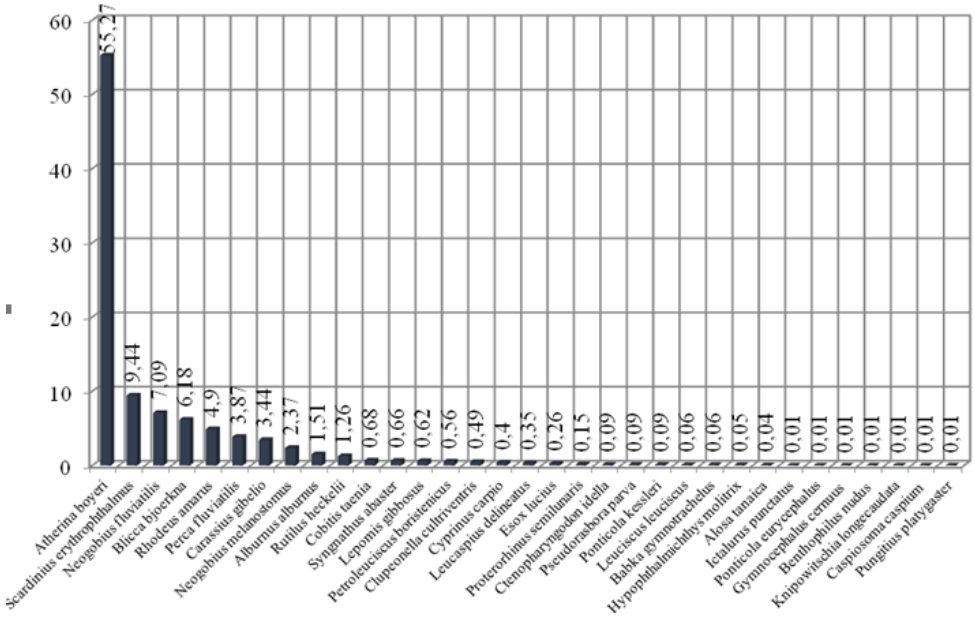
D1 Малозначимые:<1,1% D2 Второстепенные: 1,1%-2% D3 Субдоминанты: 2,1%-5% D4 Доминанты: 5,1%-10% D5 Абсолютные доминанты: >10%	C1 Случайные: <25% C2 Добавочные: 25,1%-50% C3 Постоянные: 50,1%-75% C4 Абсолютно постоянные 75,1%-100%	W1 Случайные: <0,1% W2-W3 Добавочные: 0,1%-5% W4-W5 Характерные: 5,1%-100%

Для аппроксимации данных мониторинга численности атерины использовалась экспоненциальная функция.

Результаты и их обсуждение

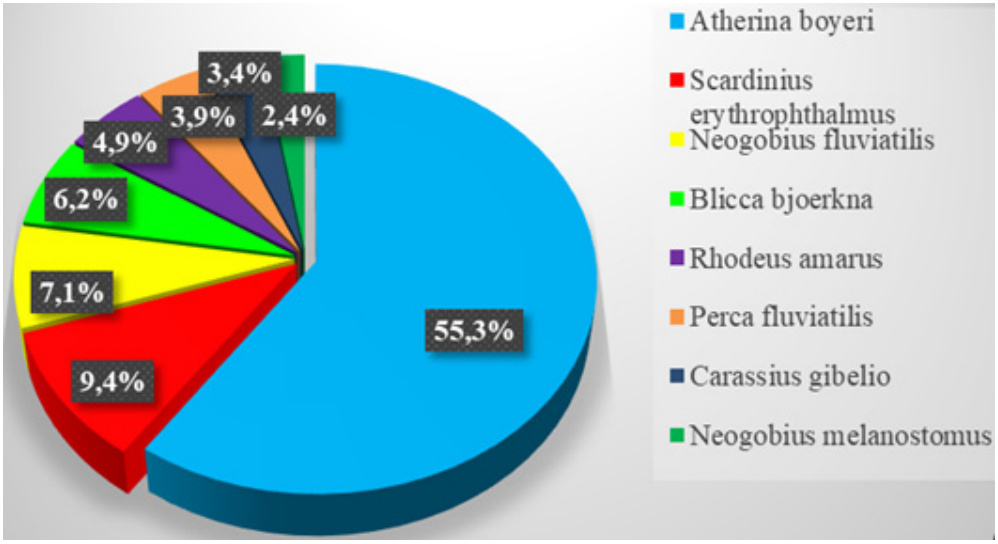
Атерина *южноевропейская малая* в Кучурганском водохранилище-охладителе начала регистрироваться в начале 80-х годов XX века. По нашим предположениям она попала в водохранилище во время водообмена вместе с закачиваемой водой из р. Турунчук [8]. По происхождению атерина является эстуарным средиземноморским иммигрантом [9]. В связи с быстрым половым созреванием (на первом году жизни), а также эврибионтностью, атерина в короткие сроки заняла доминирующее место по численности в ихтиоценозе Кучурганского водохранилища [10]. В 2019-2022 гг. *Aterina boyeri* является абсолютным доминантом по численности в ихтиоценозе водохранилища (Рис. 1.).

Рис. 1. Долевой состав (в %) по численности видов рыб Кучурганского водохранилища по результатам контрольных ловов 2019-2022 гг., с использованием бредня.



В среднем за 4 года проведения контрольных ловов с использованием бредня, к субдоминантам видам рыб Кучурганского водохранилища относятся: бычок-кругляк – *Neogobius melanostomus* 2,4 %, серебряный карась – *Carassius gibelio* 3,4%, обыкновенный окунь – *Perca fluviatilis* 3,9% и горчак европейский – *Rhodeus amarus* 4,9%. В группу доминантных видов входят обыкновенная густера – *Blicca bjoerkna* 6,2%, бычок-песочник – *Neogobius fluviatilis* 7,1% и обыкновенная красноперка – *Scardinius erythrophthalmus* 9,4%. К супердоминантам относятся атерина южноевропейская малая – *Atherina boyeri*, средний процент которой по численности составляет чуть более 55% (Рис. 2.).

Рис. 2. Долевое соотношение (в %) самых массовых видов рыб Кучурганского водохранилища по результатам контрольных ловов 2019-2022 гг., с использованием бредня.



Атерина обладает высоким инвазивным потенциалом, который составляет 27 баллов [11]. Морфометрические исследования атерины южноевропейской малой Кучурганского водохранилища выявили следующие биологические характеристики (табл. 2).

Таблица 2. Биологические характеристики атерины южноевропейской малой – Atherina boyeri Кучурганского водохранилища.

Биологические параметры	Юв.	♀	♂
An	46	246	232
Длина L, ср. (см.)	3,2±0,091	7,04±0,048	6,55±0,041
Длина L, min – мах (см.)	2,1 – 4,5	5,6 – 9,8	5 – 9,4
Длина l, ср. (см.)	2,78±0,074	6,09±0,041	5,67±0,038
Длина l, min – мах (см.)	1,9 – 3,9	4,8 – 8,2	4,2 – 8,1
Масса тела P, ср. (г.)	0,19±0,02	2,09±0,049	1,58±0,035
Масса тела P, min – мах (г.)	0,05 – 0,6	0,8 – 4,3	0,7 – 3,9
Масса тушки p, ср. (г.)	–	1,8±0,042	1,39±0,031
Масса тушки p, min – мах (г.)	–	0,7 – 4	0,5 – 3,6
Correl. между (l и P)	0,89	0,901	0,892
Correl. между (l и P) общий	0,887		
Ку по Фультону	0,773±0,032	0,897±0,009	0,844±0,007
Ку по Фультону min – мах	0,233 – 1,221	0,537 – 1,297	0,537 – 1,179
Ку по Кларку	–	0,77±0,006	0,742±0,006
Ку по Кларку min – мах	–	0,47 – 1,24	0,47 – 0,992

В половой структуре популяции атерины Кучурганского водохранилища выявлено незначительное преобладание самок – 51,5%, тогда как у морской формы по данным Ю.В. Самотой [12] присутствует незначительное преобладание самцов от 52 до 56%, а по данным Д.Н. Куцына и Ю.В. Самотой [13] отмечается преобладание самок.

Атерина является мелкой рыбой с коротким жизненным циклом: ее максимальная длина, по имеющимся сведениям, не превышает 14,5-15,0 см, а продолжительность жизни 4-5 лет [2]. Длина атерина Среднего Каспия составляет до 12 см [14]. В Кучурганском водохранилище средняя длина самок составляет 7,04±0,048 см, при массе 2,09±0,049 г с максимальными значениями 9,8 см и 4,3 г. Средняя длина самцов – 6,55±0,041 см, при массе 1,58±0,035 г, максимально – 9,4 см и 3,9 г. Стандартная длина самок – 6,09±0,041, самцов – 5,67±0,038. Возраст атерины в Кучурганском водохранилище не превышает 2 лет.

Основу питания атерины в Кучурганском водохранилище, наряду с зоопланктоном (коловратки, копеподы, кладоцеры), составляют организмы бентоса, личинки моллюсков, икра и личинки различных видов рыбы. Также ее пищевой рацион пополняют мошки и комары, падающие в воду. В Кучурганском водохранилище, в местах нереста тарани, леща и карася неоднократно наблюдалось массовое скопление атерины. Атерина стразу после нереста туводных видов рыб выедала выметанную ими на растительность икру. Причем наблюдалось, что к моменту выклева личинок карповых около 70-80% их икры было уничтожено атериной [9].

Вследствие того, что минерализация воды в Кучурганском водохранилище ниже морской, а также конкурентных трофических отношений с аборигенными видами, популяция атерины южноевропейской малой (Рис. 3) характеризуется замедленным, почти в 2 раза по сравнению с морем, ростом, более ранним половым созреванием и укороченным, почти в два раза, жизненным циклом [15].

Рис. 3. Атерина южноевропейская малая – Atherina boyeri Кучурганского водохранилища (фото автора).

Половое созревание атерины южноевропейской малой Кучурганского водохранилища наступает на первом году жизни. В этот период гонады созревших двухлеток самок находятся в IV-V стадиях зрелости. В начале марта она массово подходит к мелководью. Нерест происходит на глубине 1 – 1,5 м, при температуре 12 °С. Морская форма атерины Среднего Каспия начинает нереститься в апреле, в возрасте трех – четырех лет, на глубине 1,5 – 2 м [14].

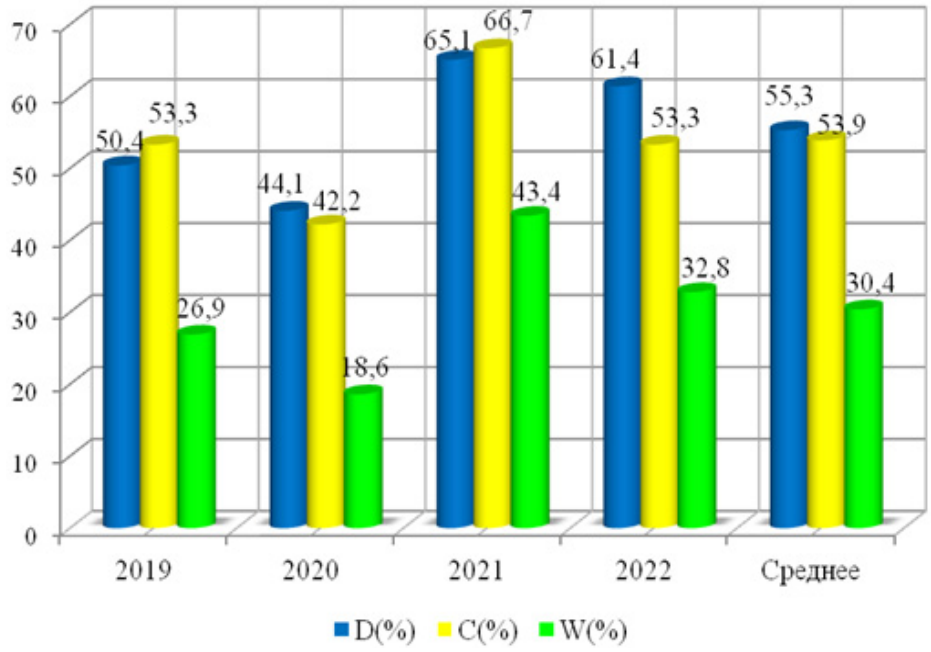
Атерина южноевропейская малая в Кучурганском водохранилище нерестится в прибрежной зоне, где нерестовый субстрат состоит из обильной растительности, к которой прикрепляются икринки. Атерины обладают растянутым порционным нерестом, который в водоеме-охладителе начинается в марте и заканчивается в августе. Абсолютная плодовитость рыб колеблется в пределах 330-620 икринок. Икринки крупные, 1,5-2,0 мм в диаметре. Выклюнувшиеся личинки (5,0-6,0 мм) держатся в поверхностных слоях воды.

В среднем по водохранилищу атерина **южноевропейская малая** по индексу доминирования относится к категории абсолютных доминантов с индексом доминантности D5 = 55,27%, в том числе по участкам водохранилища $D_{верхний}$ = 17,65%, $D_{средний}$ = 34,44%; $D_{нижний}$ = 74,39%.

По индексу постоянства атерина относится к категории постоянных С3 = 53,89%. По участкам водоема: $C_{верхний}$ = 26,67%, $C_{средний}$ = 53,34%, $C_{нижний}$ = 81,67%.

По индексу экологической значимости атерина входит в категорию характерных W5 = 30,42%, в том числе по акватории водохранилища $W_{верхний}$ = 5,63%, $W_{средний}$ = 22,44%, $W_{нижний}$ = 61,56%. Динамика изменения индексов представлена на Рис. 4.

Рис. 4. Индексы доминирования (D), постоянства (С) и экологической значимости (W) атерины южноевропейская малая – Atherina boyeri Кучурганского водохранилища.



Полученные данные по экологическим индексам подтверждают факт того, что атерина южноевропейская малая является теплолюбивым видом и благодаря этому массово встречается в теплых сбросных каналах Молдавской ГРЭС, особенно в холодное время года. На верхнем участке водоема, практически не подверженном тепловой нагрузке, атерина южноевропейская встречается в меньших количествах. В водохранилище скопления атерины южноевропейской малой чаще всего держатся близко к поверхности воды, в заводях и только зимой уходит на глубину или в теплые каналы, где температура в сравнении с открытой акваторией водохранилища выше на 5 и более градусов. По мере понижения температуры до - 5-10 °С градусов и расходование атериной жировых запасов наблюдается массовая ее гибель в сбросных каналах. В некоторые годы на поверхности каналов наблюдался слой мертвой рыбы до 2-3 см. Более крупные особи, накопившие достаточное количество жира, зимуют на ямах водоема [9]. В летний период, атерина рассредоточивается по всей акватории среднего и нижнего участков водоема, в меньшей степени на верхнем участке. В Кучурганском водохранилище атерина южноевропейская малая дважды массово мигрирует в прибрежную часть водоема – весной с начала марта до начала апреля и осенью с начала октября до начала ноября.

Благодаря высокой концентрации атерины в теплых каналах в осенне-зимний период здесь возрастает численность хищников, в частности жереха, который активно питается южноевропейской малой атериной. Помимо хищников, атериной питается карась, лещ, тарань, а в 2022 году атерина была отмечена в кишечнике густеры. Ранней весной рыболовы используют атерину южноевропейскую малую в качестве наживки для ловли мирного карпа и вылавливают экземпляры внушительных размеров (около 10 кг). По некоторым оценкам запасы атерины в водохранилище оценивают примерно в 100 тонн [9].

На рисунке 5 представлена динамика доли атерины в ихтиоценозе Кучурганского водохранилища с 2008 по 2022 гг., демонстрирующая поступательный рост. Для аппроксимации данных мониторинга доли атерины южноевропейской малой использовалась экспоненциальная функция, коэффициент достоверности аппроксимации составил R^2=0.9245, что говорит о высокой степени соответствия данных мониторинга и рассчитанной математической модели (Рис. 5.).

Рис. 5. Доля (в%) атерины южноевропейской малой – Atherina boyeri в ихтиоценозе Кучурганского водохранилища, 2008-2022 гг., 2023-2025 (прогноз).

В настоящее время популяция атерины южноевропейской малой Кучурганского водохранилища находится на 1 стадии логистического развития. На рассматриваемом этапе (2008-2022 гг.) наблюдается экспоненциальный рост популяции атерины, что вероятно усилит межвидовую конкуренцию в ихтиоценозе и приведет в ближайшее время к сокращению популяций аборигенных видов рыб.

Выводы

1. Атерина **южноевропейская малая** является абсолютным доминантом по численности в ихтиофауне Кучурганского водохранилища, средняя доля атерины в 2019-2022 гг. составил чуть больше 55%. По индексу постоянства она относится к постоянным (53,9%), а по индексу экологической значимости – к характерным видам (30,3%).

2. Атерина южноевропейская малая Кучурганского водохранилища характеризуется следующими линейно-весовыми характеристиками: самцы L ср. = 6,71±0,21 см, L мах = 9,4 см, l ср.= 5,76±0,184 см, l мах = 8,1см и P ср. = 1,66±0,181 г, P мах = 3,9 г. Самки L ср. = 7,54±0,178 см, L мах = 9,8 см, l ср.= 6,45±0,153 см, l мах = 8,2 см и P ср. = 2,62±0,16 г, P мах = 4,3 г. Возраст атерины не превышает 2 лет.

3. Являясь термофилом, атерина в большей части встречается на среднем и нижнем участках водохранилища и в зонах влияния теплых сбросных каналов.

4. Атерина входит в спектр питания, как хищных, так и мирных видов рыб водохранилища.

5. В настоящее время наблюдается экспоненциальный рост численности популяции атерины.

Литература:

1. ВАСИЛЬЕВА, Е. *Диагностические признаки и таксономия средиземноморских атерин из группы Atherina boyeri (Atherinidae)*. *Вопросы ихтиологии*. Москва, 2017. Издательство «Наука», *том 57, №6*, с. 627-639. ISSN: 0042-8752.

2. СУХОВАЯ, Е. *Черноморская атерина – перспективный объект промысла.* В: *Рибне господарство України. Керчь, 2012. №3, с. 18-20.*

3. *БУЛАТ, ДМ., БУЛАТ, ДН. Рыбы-интервенты в водных экосистемах республики Молдова.* Зоологические чтения: материалы Международной научно-практической конференции посвященной памяти проф. И. К. Лопатина. Гродно, 2013, с. 61-64. ISBN 978-985-515-623-0.

4. BULAT, DM. *Ihtiofauna Republicii Moldova: ameninţări, tendinţe şi recomandări de reabilitare*. Chişinău: Foxtrod, 2017, 343 p. ISBN 978-9975-89-070-0.

5. ПРАВДИН, И. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). Москва: Пищевая промышленность, 1966, 376 с.

6. BULAT, DM., BULAT, DN., TODERAŞ, I., USATÎI, M. Fauna piscicolă. *Monitoringul calităţii apei şi evaluarea stării ecologice a ecosistemelor acvatice. Îndrumar metodic*. Chişinău: Elan Poligraf, 2015, p. 65-84. ISBN 978-9975-66-503-2.

7. BULAT, DN., BULAT, DM., USATÎI, M. Ihtiofauna în condiţiile construcţiilor hidrotehnice din ecosistemele riverane. *Ghid metodologic pentru monitorizarea impactului hidroenergetic asupra ecosistemelor fluviale transfrontaliere*. Chişinău: Tipografia centrală, 2021, p. 42-56. ISBN 978-9975-157-80-3.

8. СТРУГУЛЯ, О., МУСТЯ, М. Изменение ихтиоценоза Кучурганского водохранилища в историческом плане и современное состояние ихтиофауны водоема. В: *Hydropower impact on river ecosystem functioning: Proceedings of the International Conference*. Tiraspol: Eco-Tiras, 2019, с. 319–326. ISBN 978-9975-56-690-2.

9. СТРУГУЛЯ, О. *Наблюдения над атериной (Atherina boyeri Risso, 1810) Кучурганского водохранилища. Управление бассейном трансграничного Днестра в условиях нового бассейнового договора*. *Материалы Международной конференции*. Кишинев: Eco-TIRAS, 2013, с. 396-398. ISBN 978-9975-66-353-3.

10. MUSTYA, M. Atherina (Atherina boyeri Risso, 1810) of Kuchurgan reservoir. *Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community*. Chisinau, 2022, p. 99. ISBN 978-9975-159-80-7.

11. BULAT, DM., BULAT, DN., TODERAŞ, I., USATÎI, M., FULGA, N., DUMBRAVEANU, D., RUSU, V., SILITRARI, A. Potenţialul invaziv al speciilor de peşti şi factorii determinanţi ai ihtiocenozelor ecosistemelor acvatice Din Republica Moldova*. Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii*. Nr. 2(320). Chisinau, 2013, p. 35-48. ISSN 1857-064X.

12. САМОТОЙ, Ю. *Сравнительный анализ состояния атерины Atherina mochon pontica из разных районов Черного моря в зимний период. Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России: материалы Международной научной конференции*. Ростов н/Д: ЮНЦ РАН, 2014, с. 19-22. ISBN 978–5-4358–0094-4.

13. КУЦЫН, Д., САМОТОЙ, Ю. *Возраст и рост атерины Atherina boyeri (Atherinidae) из акватории юго-западного Крыма (Чёрное море)*. *Вопросы ихтиологии*. Москва: Издательство «Наука», 2020, том 60, № 3, с. 309–316. ISSN: 0042-8752.

14. ДЖАБРАИЛОВ., Ю. *Морфоэкологическая изменчивость атерины Atherina boyeri caspia (E1cnwald, 1838) в современных условиях Каспийского моря / Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук*, *Москва, 2014. 25 с.*

15. MUSTYA, M. Peştii cu ciclul vital scurt din lacul refrigerent Cuciurgan. *Tendinţe contemporane ale dezvoltării ştiinţei: viziuni ale tinerilor cercetători*. Chişinău, 2020, p. 219-224. ISBN 978-9975-3389-6-7.

Данные об авторе:
Михаил МУСТЯ, младший научный сотрудник Института зоологии, МГУ
E-mail: mustya91@mail.ru
ORCID: 0009-0004-7675-1174

Примечание: *Исследования проводились в рамках проекта №. 20.80009.7007.06 AQUABIO.*

Prezentat la 27.03.2023

CZU: 615.322:616.379-008.64

IMPACTUL SPIRULINEI CRESCUTE PE APE REZIDUALE ASUPRA STĂRII FUNCŢIONALE A GLANDEI TIROIDE PE FONDALUL DIABETULUI EXPERIMENTAL

Iurie BACALOV, Adriana DRUŢA, Elena CHIRIŢA, Aurelia CRIVOI
LCŞ ,,Ecofiziologie umană şi animală”

Sergiu DOBROJA
LCŞ Algologie ,,V. Şalaru”

Biopreparatul cercetat acționează benefic asupra proceselor de sinteză a hormonilor în cadrul organismului şi prezintă efecte biostimulatoare asupra celulelor – β ale insulelor Langerhans din pancreasul endocrin, paralel sporind secreția insulinică, tiroxinică şi triiodotironinică, menținând astfel homeostazia metabolică în organism. Investigațiile realizate au evidențiat aspectele pozitive ale biopreparatului asupra glandelor endocrine cercetate pe fondalul diabetului experimental.

Cuvinte-cheie: *diabet experimental, glandă tiroidă, tiroxină, triiodtironină, glucoză, insulin, spirulina platensis.*

THE IMPACT OF SPIRULINA GROWN ON WASTEWATER ON THE FUNCTIONAL STATUS OF THE THYROID GLAND ON THE BACKGROUND EXPERIMENTAL DIABETES

The researched biopreparation has a beneficial effect on the processes of hormone synthesis in the body and presents biostimulatory effects on the β-cells of the islets of Langerhans in the endocrine pancreas, simultaneously increasing insulin, thyroxine and triiodothyronine secretion, thus maintaining metabolic homeostasis in the body. The investigations carried out highlighted the positive aspects of the biopreparation on the endocrine glands investigated against the background of experimental diabetes.

Keywords: *experimental diabetes, thyroid, thyroxine, triiodothyronine, glucose, insulin, spirulina platensis.*

Introducere

Investigațiile științifice evidențiază modificări profunde în metabolismele glucidic, lipidic şi proteic, ce stau la baza apariției unui spectru larg de complicații cronice, care afectează mai mult sau mai puțin toate organele. Dereglarea lor în organism determină modificări funcționale la nivelul unor glande endocrine care pot favoriza evoluția diferitor forme de diabet zaharat.

Evoluția clinică a diabetului zaharat depinde de modificările secreției de insulină. În cazul în care se înregistrează secreția echilibrată a insulinei se asigură o decurgere relativ stabilă a diabetului zaharat, iar secreția scăzută a insulinei evidențiază o evoluție labilă a diabetului cu predispunere la hiperglicemii.

În rezultatul insuficienței insulinice are loc producerea de hormoni antagonişti - factori contrainsulari, printre care unii hipofizari: adrenocorticotropina, somatotropina, triiodotironina, tiroxina, glucocorticoizii şi gonadotropi, care în rezultatul regresării diabetului zaharat determină dereglări funcționale la nivelul organelor şi sistemelor de organe [1].

În arsenalul profilaxiei şi terapiei contemporane, fitoterapia evidențiază o tendință de ameliorare sau combatere a simptomelor diabetului zaharat. Administrarea lor sub formă de variate preparate medicinale determină stimularea funcțiilor vitale şi o pătrundere mai complexă a substanțelor biologic active în organism.

Investigațiile realizate demonstrează că plantele medicinale manifestă acțiuni efective în profilaxia şi tratamentul diabetului zaharat, deoarece manifestă efect stimulator asupra celulelor - β ale insulelor Langerhans; exercită acțiune hipoglicemică; elimină surplusul de glucoză şi săruri cu urină; de asemenea prezintă efect diuretic, tonifiant, colagog, sedativ, protector, antimicrobian, precum şi asigură aprovizionarea

organismului cu vitamine şi microelemente, ceea ce servește ca statut important în metabolismul glucidic, lipidic şi proteic [2].

Hormonii tiroidieni au o acțiune calorigenă care crește consumul de oxigen şi eliberarea de căldură. Această acțiune diferă în dependență de țesuturi (gonade, creier, timus, ganglionii limfatici, splină, plămân) şi chiar la aceleași țesuturi. Efectul calorigen produce modificări metabolice caracteristice care accelerează procesele metabolice atât catabolice, cât şi anabolice. În exces predomină procesele de degradare față de cele de sinteză. Se produce astfel creșterea catabolismului proteic care contribuie la degradarea acizilor grași şi a colesterolului, precum şi a metabolismului glucidic, prin hiperglicemie, în exces [3].

Aproximativ 60% din compoziția hormonilor tiroidieni le reprezintă iodul, fiind cel mai important mineral implicat în fiziologia glandei tiroidei. Fără un aport suficient de iod, tiroida nu poate produce hormonii respectivi.

Așadar, producția şi secreția hormonilor tiroidieni variază în funcție de cantitatea de iod absorbită în organism. În zonele geografice cu deficit de iod, unde conținutul lui în produsele alimentare şi în apă este insuficient, glanda tiroidă va produce o cantitate insuficientă de hormoni, consecințele fiind dereglări în funcționarea atât a glandei tiroide, cât și în întregul organism.

O ingestie adecvată de iod este indispensabilă pentru sinteza normală a hormonilor tiroidieni. În timp ce dieta poate aduce o cantitate de iod, variabilă în limite largi, secreția tiroidiană este relativ stabilă. Sursele majore de iod sunt: apa, alimentele iodate, medicamentele.

O alimentație cu aport bun de iod conține aproximativ 500 μg/zi de iod. Acesta este absorbit complet în tractul gastrointestinal şi intră în rezervorul de iod anorganic al fluidului extracelular.

În afara dietei, mai există două mici surse ce alimentează acest rezervor: iodul eliberat prin deiodarea hormonilor tiroidieni în țesuturile periferice (aproximativ 60 μg/zi) şi pierderea sau "scurgerea" de iod anorganic din tiroidă, aproximativ 10-50 μg/zi.

Singurele două căi principale de clearence sunt rinichii şi tiroida. Tiroida folosește 75μg/zi de iod pentru sinteza hormonilor, restul iodului este eliminat urinar. Dacă iodul din dietă este în exces, tiroida se protejează şi captarea de iod este scăzută, crescând în consecință iodul urinar, şi invers, când iodul este deficitar, captarea tiroidiană crește şi iodul urinar este scăzut [4].

În prezent, fitoterapia este o ramură a terapeuticii care utilizează plantele respectiv preparatele din plante ca mijloace de prevenire şi tratare a bolilor. Efectele plantelor medicinale se datorează, ca de altfel şi al medicamentelor, principiilor active prezente în ele. Aceste principii active sunt substanțe chimice mai mult sau mai puțin complexe. Introduse în organism sau aplicate pe suprafața corpului, aceste principii acționează asupra celulelor, țesuturilor, organelor şi sistemelor de organe inducând efecte în conformitate cu proprietățile lor [5].

În acest șir de plante un loc deosebit îl are Spirulina platensis care este o cianobacterie ce conține peste 50 de principii bioactive, care intervin în reglarea tuturor funcțiilor organismului. Compoziția spirulinei cuprinde 286 de substanțe active, toți aminoacizii esențiali, sisteme enzimatice specifice atât pentru regnul animal, cât şi pentru cel vegetal. În afară de aceasta Spirulina platensis [6] conține o puternică combinație de substanțe esențiale, precum și o sursă importantă de iod, necesară pentru organismul uman, având efect benefic asupra funcționării glandei tiroide. Administrarea Spirulinei stimulează clar producerea şi acumularea tiroxinei care se transformă în triiodtironină, participând activ la stimularea metabolismului energetic, în particular la mobilizarea lipidelor.

Întrebuințarea acestor extracte din plante îmbunătățește starea generală a organismului, scade glicemia, ceea ce permite de a reduce doza preparatelor antidiabetice și participă activ la sinteza hormonilor.

Scopul investigațiilor constă în evaluarea şi cercetarea statutului funcțional al glandei tiroide şi al pancreasului pe fondul administrării spirulinei crescute pe ape reziduale.

Materiale şi metode

Cercetările au fost realizate în cadrul LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală" al Universității de Stat din Moldova. Studiul s-a efectuat pe 60 de șobolani albi de laborator întreținuți în condiții de laborator. Veridicitatea rezultatelor obținute a fost demonstrată prin analize precum: testarea glucozei în sânge la glucometrul „On Call Plus"; testarea hormonilor - prin metoda imunofermentativă, la analizatorul Stat Fax 4700.

Pentru obținerea biomasei de spirulină a fost utilizată apa reziduală, biomasa a fost separată de lichidul cultural prin extragere în vid, fiind dublu clătită cu apă distilată. Biopreparatul administrat conține: tulpină de Spirulina platensis menținută în cultură pură - Laboratorul Algologie „V. Șalaru” al Universității de Stat din Moldova.

La prepararea mediilor nutritive pentru Spirulină au fost utilizate apele reziduale de la complexele animaliere de bovine, porcine şi cele avicole. Mediile nutritive utilizate în experimente au fost obținute prin diluția 1kg de deșeu cu 5 l de apă de la robinet, după ce au stat o perioadă de 5 zile la temperatura camerei. Partea solidă s-a separat de cea lichidă prin filtrare. S-a utilizat concentrația de 15 % obținută prin diluția cu apă distilată.

Analizele biochimice precum: conținutul de proteine, peptide, lipide, glucide, ficobiliproteine, aloficocianina şi ficocianina au fost efectuate la a 20–a zi de cultivare. Biopreparatul a fost selectat conform principiilor bioactive pe care le conține, presupunând un efect benefic asupra glandelor endocrine.

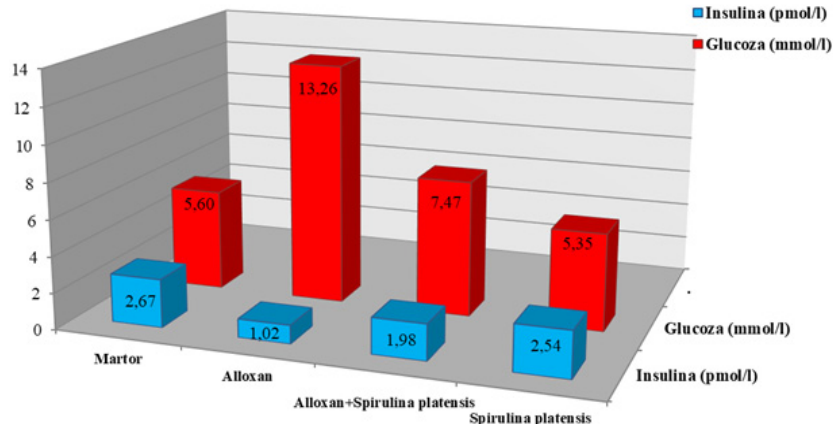
Rezultate şi discuții

Diabetul (experimental) la animale se caracterizează printr-o insuficiență absolută primară de insulină, fiind observate schimbări specifice corespunzătoare în metabolism. După apariția simptomelor se observă o scădere a nivelului de insulină în plasmă, care se află în dependență de expresivitatea schimbărilor degenerativ- necrotice în celulele b a pancreasului endocrin. Simptomele diabetului zaharat după introducerea alloxanului sunt diferite: hiperglicemie, glucozurie, polifagie, polidipsie, poliurie etc. Nivelul insulinei în pancreasul câinilor şi șobolanilor cu diabet alloxanic a arătat o micșorare semnificativă a acestui indice până la ¼ din cantitatea normală [7].

Insuficiența insulinică în diabet mărește descompunerea proteinelor din țesuturi, intensifică pătrunderea în sânge a aminoacizilor, precum și mărește cantitatea azotului general şi a amoniacului în urină. Activitatea de includere a aminoacizilor ce conțin sulf în proteine este redusă. Aceste schimbări se află în dependență de gradul insuficienței insulinice. Se observă intensificarea sintezei fermenților cheie a gluconeogenezei, ceea ce duce la creșterea producerii de glucoză. În rezultatul micșorării utilizării glucozei şi sporirii producției ei se dezvoltă hiperglicemia [8].

În urma studiilor efectuate s-au evidențiat următoarele: în lotul cu diabet alloxanic concentrația insulinei este de 1,02 pmol/l, în comparație cu martorul - 2,67 pmol/l. Iar în lotul mixt se observă o tendință de normalizare - 1,98 pmol/l, ceea ce pune în evidență efectul insulinotrop al biopreparatului cercetat, efect ce s-a obținut prin acțiunea directă asupra celulelor β ale pancreasului endocrin.

Figura. 1. Nivelul de glucoză (mmol/l) şi insulină (pmol/l) în plasma șobolanilor albi de laborator la administrarea extrasului de spirulină crescut pe ape reziduale pe fundalul diabetului experimental.



În stadii mai avansate al diabetului zaharat, hipoinsulemia este însoțită de creșterea marcantă a nivelului de glucoză în sânge. Astfel, în cercetările date s-a evidențiat o creștere a nivelului de glicemie în lotul cu diabet alloxanic până la 13,26 mmol/l, în comparație cu martorul - 5,60 mmol/l. Interes deosebit prezintă rezultatele lotului mixt, al cărui nivel glicemic remarcă cifra de - 7,47 mmol/l, în acest sens menționăm că în diabetul experimental nivelul glucozei sanguine crește pe măsură ce conținutul de insulină se micșorează, deoarece în organism are loc reducerea capacității țesuturilor de a asimila glucoza [9], aceasta fiind consecința diminuării insulinei în plasma sangvină.

Un interes deosebit îl prezintă multiplele modificări cantitative ale nivelului de tiroxină şi triiodtironină în plasmă pe fondul diabetului alloxanic și sub influența spirulinei. S-a demonstrat că glandele cu secreție internă precum: pancreasul, tiroida, hipofiza etc., participă activ în procesele metabolice, iar în rezultatul unor dereglări funcționale ale acestora se dezvoltă variate forme clinice ale diabetului zaharat.

Legătura dintre diabetul zaharat insulin-dependent şi patologia glandei tiroide este însoțită atât de hipotireoză, cât și de hipertireoză. Diminuarea funcției tiroidei cu manifestările clinice al hipotireozei se observă mai des în formele ușoare și medii ale diabetului zaharat noninsulinodependent la bolnavii de vârstă înaintată.

Analiza modificărilor metabolismului general în această boală şi a activităţii funcționale a tiroidei permit punerea în evidență a două forme ale diabetului zaharat: cu funcția mărită şi redusă a tiroidei. Funcția majorată a tiroidei cu toate simptomele generale ale tireotoxicozei se constată mai des în cazul diabetului insulino-dependent grav la bolnavii de vârstă tânără şi mijlocie, de obicei la un nivel scăzut de colesterină în sânge. Diminuarea funcției tiroide cu manifestările clinice ale hipotireozei se observă mai des în formele ușoare şi medii ale diabetului zaharat noninsulinodependent la bolnavii de vârstă înaintată, de obicei cu simptome clinico-biochimice de arterioscleroză şi hipercolesterolemie [10].

La majoritatea bolnavilor cu diabet zaharat fără complicații, dereglarea funcției tiroidei nu se observă. Cu toate acestea, în unele cazuri se observă nivelul ridicat de tiroxină în sânge, care scade sub acțiunea insulinei; fiind observată și scăderea nivelului de T_3, fenomen care a primit denumirea de „sindromul nivelului scăzut al triiodtironinei”. Astfel este perturbată corelația între triiodtironina obișnuită şi reversivă.

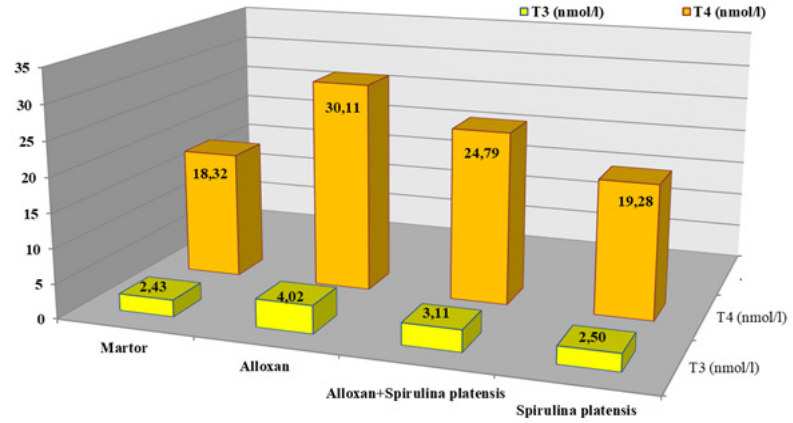
La bolnavii cu diabet insulino-dependent schimbările tranzitorii ale funcției tiroidei apar în rezultatul metabolismului anomalie periferic şi dereglarea funcției hipotalamo-hipofizare. A fost determinată specificitatea de vârstă a acțiunii insuficienței hormonilor tiroidieni asupra activității funcționale a sistemei insulinice. La animale de o lună hipotireoza nu duce la modificări mari în secreția insulinei, cu toate că răspunsul aparatului insular la acțiunea glucozei este puțin scăzută. La șobolanii de 12 luni, dereglarea toleranței la glucoză este în legătură cu insuficiența secretorică a celulelor β cu prezența în pancreas a hormonului depozitat.

Tiroida șobolanilor cu diabet absoarbe glucoza cu mult mai slab, este demonstrat că insulina in vitro exercită asupra tiroidei o acțiune directă, iar lipsa ei sau scăderea nivelului influențează procesele metabolice în tiroidă, contribuind la dereglarea funcției tiroidiene în diabetul zaharat. De asemenea, a fost evidențiată existența unei corelații între gradul diabetului zaharat şi starea morfofuncțională a tiroidei. La bolnavii de diabet zaharat se observă mărirea în volum a tiroidei în mediu cu 46%.

Diabetul zaharat decompensat este însoțit de modificări ale reglării tiroidiene, în parte de nivelul scăzut în plasmă al triiodtironinei, de asemenea a fost arătat că metabolismul glucozei are un rol important în acțiunea TSH-ului asupra tiroidei. Combinarea acestor două maladii deseori duce la agravarea ambelor boli [11].

Un rol important îl prezintă influența anumitor preparate în menținerea stării funcționale nu numai a pancreasului endocrine, ci şi a altor glande endocrine dereglate în această patologie. Cercetările experimentale evidențiază faptul că spirulina administrată în diabetul alloxanic echilibrează hormonii tiroidieni, fapt ce poate fi remarcat în figura 2.

Figura 2. Nivelul tiroxinei (nmol/l) și triiodtironinei (nmol/l) în plasma șobolanilor albi de laborator la administrarea extrasului de spirulină crescut pe ape reziduale pe fundalul diabetului experimental.



Actualmente, cercetarea statutului funcţional al pancreasului endocrin şi al glandei tiroide în diabetul zaharat prezintă interes deosebit, deoarece efectele hormonilor săi stimulează absorbţia intestinală a glucozei, generează glicoliza, gluconeogeneza. Rezultatele studiului efectuat au confirmat apariţia şi existenţa dereglărilor glandei tiroide în diabetul alloxanic, ca efect al interacţiunii acestor glande endocrine.

Analizele nivelurilor plasmatice ale hormonilor T_3 şi T_4 în cercetările noastre evidenţiază faptul că în stadiile incipiente ale diabetului apar unele modificări în direcţia activizării funcţiei tiroidei, astfel nivelul T_4 creşte de la 18,32 nmol/l (lotul martor) până la 30,11 nmol/l, după administrarea alloxanului, iar conţinutul de T_3 în lotul alloxanic se măreşte până la 4,02 nmol/l, în comparaţie cu lotul martor – a cărui valoare constituie 2,43nmol/l.

Concentraţia nivelului de T_3 şi T_4 în lotul mixt înregistrează o normalizare a indicilor daţi: T_3 – 3,11 nmol/l şi T_4 – 24,79 nmol/l. Deci, putem presupune că glanda tiroidă se activează ca răspuns la stresul metabolic endogen ceea ce poate duce la apariţia, în sistemul hipotalamo-hipofizar-tiroidă, a refracţiei datorită căreia are loc mărirea pragului de sensibilitate a stresorului. Aceasta şi determină reacţia de răspuns slabă la acelaşi excitant, care în normă generează un răspuns precis. Nu trebuie de exclus nici faptul că în rezultatul unei activităţi insulinice insuficiente se pot secreta şi alţi factori tireotropi ce stimulează secreţia de T_4. Bazându-ne pe datele experimentale, putem conchide că Spirulina platensis are o acţiune esenţială asupra stării funcţionale a glandei tiroide ce se exprimă printr-o tendinţă de normalizare a statutului hormonal tiroidian.

Concluzie

Rezultatele obţinute ne permit de a menţiona că la etapele iniţiale ale diabetului zaharat are loc modificarea activităţii funcţionale a glandei tiroide. Deci, administrarea extrasului de Spirulina platensis crescută pe ape reziduale posedă proprietăţi biostimulatoare asupra activităţii funcţionale a pancreasului endocrin şi a glandei tiroide ce se evidenţiază prin creşterea tendinţei de normalizare a hormonilor în sânge, astfel am putea evidenţia încă o dată efectul poliglandular al acestuia.

Referinţe:

1. CRIVOI A., SUVEICĂ L., BACALOV Iu., COJOCARI L., AHMED ABU ZAITUN, LUPU E., COROTCOV A., ENACHI T., OFTICI V. Activitatea insulinică a plasmei şi nivelul glicemiei în fitoterapia diabetului zaharat experimental. Analele Ştiinţifice ale Univesităţii de Stat din Moldova: Seria „Ştiinţe chimico-biologice”, Chişinău, CEP USM, 2005, p. 11-16.
2. BACALOV Iu., CRIVOI A. Fitoterapia în dereglările metabolismului glucidic, Chisinău, CEP USM, 2009, p. 87 -107.
3. CRIVOI A., BACALOV Iu., AHMED ABU ZAITUN, LUPU E.,COROTCOV A., ENACHI T., OFTICI V. Starea funcţională a tiroidei şi gonadelor în diabetul alloxanic pe fondul administrării extraselor din Arctium IV. Analele Ştiinţifice ale Univesităţii de Stat din Moldova: Seria „Ştiinţe chimico-biologice”, Chişinău, CEP USM, 2004, p. 226-229.
4. Н. М. Платонова, Н. В. Молашенко, Ф. М. Абдулхабирова, Е. А. Трошина. Йодиндуцированные заболевания щитовидной железы. ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава РФ, Москва. Consilium Medicum, 2013, ТОМ 15, № 4, с.67-69.
5. МАТКОВСКАЯ Т.,ТРУМПЕ Т., Фитотерапия в комплексном лечении сахарного диабета, Пробл. Эндокрин. ДчГ 37, Москва, 1991 ,с. 35-37.
6. ŞALARI V. Spirulina. Editura Universitas. Chişinău, 2004, p.25.
7. BACALOV Iu., DOBROJAN S.Manifestările clinice ale diabetului experimental la şobolanii albi de laborator pe fondul administrării spirulinei crescute pe ape reziduale. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. Nr. 3(312). Chișinău, 2010, p. 51-56.
8. ZBRANCA E. Endocrinologie. Ghid de diagnostic şi tratament în bolile endocrine. Editura Polirom. București, 2008, p. 105-115.
9. CHIRA V., HAŢIEGANU I. Insulina şi diabetul zaharat, Cluj-Napoca, Editura Medicală Universitară, 2000, p. 9-25.
10. GANGUR D., CHIRIAC E. Asocierea dintre diabetul zaharat şi bolile tiroidiene. Anale Ştiinţifice, ediţia a XII-a, vol. 3. Probleme actuale în medicina internă. Chişinău, USMF „N. Testemiţanu“ 2011, p. 290- 295.
11. И. В. Терещенко, Е. С. Трефилова. Тиреоидна я патологи я у больны х сахарны м диабетом. Проблемы генетики и патогенеза. Пермская государственная медицинская академия, (ректор — проф. В. А. Черкасов) МЗ РФ, № 4/2001, с. 21-24.

Date despre autori:
Iurie BACALOV, doctor în ştiinţe biologice, conferenţiar universitar, LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: iurabacalov@mail.ru
ORCID: 0000-0002-1651-9056

Adriana DRUŢA, master în ştiinţe biologice, cercetător ştiinţific LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: druta.adriana@mail.ru
ORCID: 0000-0002-5961-6518

Elena CHIRIŢA, doctor în ştiinţe biologice, conferenţiar cercetător LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: chiritaelena30@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9717-8133

Aurelia CRIVOI, doctor habilitat, profesor universitar, LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: crivoi.aurelia@mail.ru
ORCID: 0000-0002-1917-1278

Sergiu DOBROJAN, doctor în ştiinţe biologice, conferenţiar universitar, LCŞ Algologie „V. Şalaru", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: sergiudobrojan84@yahoo.com
ORCID:0000-0003-0040-5836

Notă: *Articolul a fost realizat în cadrul proiectelor*

- Determination of Bioactivity and Antimyeloma Properties of Various Cyanobacteria, cifrul 22.80013.5107.2TR, conducător de proiect TROFIM Alina, dr.

- Identificarea, evaluarea şi perfecţionarea unor noi procedee de sporire a ratei de creştere a peştilor, de diminuare a impactului maladiilor şi de îmbunătăţire a valorificării furajelor în cadrul instalaţiilor piscicole de tip închis alimentate cu apă circulantă, cifrul 20.80009.7007.23, conducător de proiect: Vadim RUSU, dr.

Prezentat la 25.03.2023

CZU: 632.11:[632.4:633.15](478)

DYNAMICS OF MAIZE PATHOGENS FROM FUSARIUM, ASPERGILLUS AND PENICILLIUM GENERA IN SOIL UNDER WEATHER CONDITIONS OF REPUBLIC OF MOLDOVA

Cristina GRAJDIERU, Elena BILICI

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova

The results of molecular expertise of phytosanitary state of upper layer of soil from experimental cornfields are presented. Several fungal pathogens from *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium* genera were identified using PCR assay. These pathogens were identified in soil samples during the three-year monitoring period and their respective quantities depended on weather conditions. Abiotic factors like air temperature and relative humidity have a significant impact on fungi's propagation. Weather conditions of the year affected significantly accumulation of *F. equiseti, F. graminearum, A. clavatus, P. expansum* and *P. chrysogenum* in soil. A positive correlation between pathogens' quantities and values of relative air humidity was found.

Keywords*: soil, maize, fungi, pathogens, Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium, PCR.*

DINAMICA PATOGENILOR AI PORUMBULUI DIN GENURILE FUSARIUM, ASPERGILLUS ŞI PENICILLIUM ÎN SOL SUB ACŢIUNEA FACTORILOR CLIMATICI AI REPUBLUCII MOLDOVA

În lucrare sunt prezentate rezultatele analizei stării fitosanitare a stratului superior de sol de pe câmpurile experimentale de porumb. Unii patogenii din genurile *Fusarium*, *Aspergillus* şi *Penicillium* au fost identificaţi prin metoda PCR. Speciile respective au fost identificate în sol pe parcursul perioadei de monitorizare timp de trei ani şi cantităţile lor respective au fost afectate de condiţiile climatice. Factorii abiotici precum temperatura aerului şi umiditatea relativă au un impact semnificativ asupra propagării ciupercilor. Condiţiile anului au afectat semnificativ propagarea în sol a *F. equiseti, F. graminearum, A. clavatus, P. expansum* şi *P. chrysogenum*. A fost identificată corelaţia pozitivă dintre cantitatea patogenilor în sol şi valorile umidităţii relative a aerului.

Cuvinte-cheie*: sol, porumb, ciuperci, patogeni, Fusarium, Aspergillus, Penicillium, PCR.*

Introduction

Significant losses of maize yield worldwide are associated with fungal pathogens [1–3]. Maize pathogens from *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium* genera propagate on decaying plant residues, and conidia can infect plants both through roots or injuries caused by insects and abiotic factors during the whole period of vegetation [4–6]. These fungi present an exceptional threat for they comprise main pathogenic species that cause maize rots, as well as major producers of mycotoxins [7–9]. Two distinct diseases in maize are associated with *Fusarium*: Giberrella ear rot, or GER, caused by *F. graminearum* and *F. culmorum*; and Fusarium ear rot, or FER, caused mainly by *F. verticillioides* and *F. proliferatum* [10]. *Aspergillus* fungi can infect maize plants during vegetation; however they are more widely associated with contamination of kernels with mycotoxins rather than considered causal agents of major fungal diseases [11]. *Penicillium* fungi mostly cause kernel rot during storage [12]. Most of the fungal pathogens associated with corn diseases and yield spoilage are soil-borne, and soil itself represents a natural reservoir of plant infection with a wide specter of fungi. Therefore, a special attention should be focused on the phytosanitary state of the soil for assessing potential risks and diminishing adverse impact of fungal infection on maize cultivation.

The aim of this work was to evaluate the dynamics of several most important fungal maize pathogens from *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium* genera in soil under weather conditions of Republic of Moldova.

Material and methods

Samples of upper soil layer (≤10 cm) were collected on experimental cornfields of Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection at the end of maize vegetation. Values of air temperature, relative air humi-

dity and quantity of precipitations were obtained from State hydrometeorology service, Chisinau [13]. A 1 g of dried soil was used for total DNA extraction using a validated protocol [14]. Pathogens' identification was performed via nested-PCR assay using a set of home-design primers to specific regions of fungal genome (Tab. 1) presented in GenBank database [15].

Table 1. Primers used for identification of some fungal pathogens.

Primer	Sequence 5'→3'	Species	Target gene
feqin1	CTGGGCTTCGGCAGGTCAA	*F. equiseti*	*tub2*
feqin4	GCGCGTGAGCTTGTTGTGTT		
fqeqin2	TCCCCAGAATCAATACGCTAACC		
fqeqin3	TCACTGGGTAACAAGGTCGAAGA		
fqin1	ACGTGGCGGGGTAATTTCAT	*F. incarnatum*	*tef1*
fqin2	GGAAACCAACCTTCTCGAACTTCT		
fspte1	CAGACTTGGCGGGGTAGTTTC	*F. sporotrichioides*	*tef1*
fspte4	GAGCGTCTGGTAGGCATGTT		
fqspte2	CTCTCATACGACGACTCGACAAG		
fqspte3	TGTGTGGGAAGGGCAAAAGC		
fcute1	CATCCCAACCCCGCCGATA	*F.culmorum*	*tef1*
fcute4	CGCGCCTAGGGAATGGTTTG		
fcute2	CGATACATGGCGGGGTAGTTT		
fcute3	ATGAGCCCCACCAGAAAAATTACG		
ftri8gr1	CTTCCGGTAATGTTTCTCGTCACT	*F. graminearum*	*TRI8*
ftri8gr4	CGCTGCTGAGGGTTTTACCAT		
fqtri8gr2	CTCGTCACTTCCTTGATGACACA		
fqtri8gr3	GGGGGCCGACATTCACTTC		
fufum6ve1	GCCTTTGTTTGGGGCCATGA	*F. verticillioides*	*FUM6*
fufum6ve4	CTGAGACCCTCGCCAGTTTTG		
fqfum6ve2	TCGCCCTTTGCACCATTGAC		
fqfum6ve3	AGCCTGCCGCTTGAACTTTG		
fprfum61	TCGGATTGTCACGCCTTTGT	*F. proliferatum*	*FUM6*
fprfum64	GTCCTTGGCGTTCAGCATTG		
fqprfum62	ATCGCCCTCTGCACGATAGA		
fqprfum63	TGGGAGGTTGCTCTGAGTGA		
afap1	CTTTGTTCGGTAGTGCCATCTTGA	*A. flavus*	*aflP*
afap4	GCCATAGCACATATTCTCCAACCT		
aqfap2	GTGTCGGGTGTGCCTATTTAACC		
aqfap3	AAGGCTTTCGGTCGGTTGATG		
apap1	TTGCTCGGTAGTGCCATGTT	*A. parasiticus*	*aflP*
apap4	GGCTTCCATAACACATATTCTCCAA		
aqpap2	CCGCGAAAGAACAAACAGAGA		
aqpap3	AACACATATTCTCCAACTTTCTTGCT		
acl1	TGATGGAAGATTCAGAGCCATACA	*A. clavatus*	*tub2*
acl4	CGTGAAGGTTTTGTCGAAGCA		
aqcl2	CGTGGATATGGGCTGACAGATTTA		
aqcl3	ATTTCCATCAGATCCATGCTCAGT		

aoch1	CAGGATCATCTTCGATACCTTAGGA	*A. ochraceus*	*tub2*
aoch4	GCCACCGGAAGCCTAGAAG		
aqoch2	ACCCATCGAAATCAGAGTCGAAAA		
aqoch3	CGTTTCGAATAGGCGAAAGGAGATA		
pcit1	CCTTGATGGCGATGGACAGT	*P.citrinum*	*tub2*
pcit4	CAGCACCGGATTGACCGAAA		
pcit2	CTACAACGGAACCTCCGATCTC		
pcit3	AGCACCGGATTGACCGAAAA		
pex1	AACGCCACTCTCTCCGTTCA	*P. expansum*	*tub2*
pex4	GGGTCAACTCGGGGACGTT		
pex2	CTCTCTCCGTTCACCAGCTT		
pex3	TCAACTCGGGGACGTTGAC		
pgr1	TGGATTACAGGCAAACCATTTCC	*P. griseofulvum*	*tub2*
pgr4	ACCGCTAGCCTAGATGATCAAA		
pqgr2	CCAGTGGATGGCATGTCTGAT		
pqgr3	TTCGGTTCCCAGTCGGCTAT		
pver1	ATTGACGGGTTCCTAACTTGGATT	*P. verrucosum*	*tub2*
pver4	ATGCACGTTTATTCCGGTTCCA		
pqver2	TCGATGGTGACGGACAGTAAGT		
pqver3	GGTTCCAGTCGTTGAACTCACAT		
pbrbt1	CCGCTATGGCTGGGTATCAAT	*P. brevicompactum*	*tub2*
pbrbt4	TAGCCTGGGCGGTCAAGAATA		
pbrbt2	TGCTAACTGGCTCAAAGGCAAA		
pbrbt3	TGCACAACCAGAGTTCTTCACA		
pchbt1	GTTGCTAACTGGATTACAGGCAAAC	*P. chrysogenum*	*tub2*
pchbt4	CACCGCTGGCCTAGATTGTC		
pqchbt2	TGATGGGGATTCTGGTGGATCA		
pchbt3	CCGCTGGCCTAGATTGTCAAA		

Analysis of soil microflora included qualitative analysis using nested-PCR and quantitative conventional PCR with Poisson distribution.

Nested-PCR included two subsequent amplification for 30 cycles each in a 25µl PCR-mix containing 66 mM Tris-HCl (pH 8.4), 16 mM $(NH_4)_2SO_4$, 2,5 mM MgCl*2*, 0,1 % Tween 20, 7 % glycerol, 100µl^{-1} BSA, 0,2 mM of each dNTPs, 1,25 U Taq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific), 5 pM of each primer and 10 ng of DNA. The first round included 3 minutes of preliminary denaturation at 95°C, followed by 30 cycles which included 30 seconds of denaturation at 95°C, 30 seconds of annealing at 60°C and 30 seconds of elongation at 72°C. The second round included 30 cycles which comprised 30 seconds of denaturation at 95°C, 30 seconds of annealing at 60°C and 30 seconds of elongation at 72°C. Both rounds ended with 7 minutes of terminal elongation at 72°C. All samples that showed positive amplification with certain primer pairs were used for further quantitative analysis.

Pathogen quantification was performed using conventional PCR with Poisson distribution assay: a total of 10 ng of extracted DNA was divided in *n* reaction samples containing PCR-mix, each was amplified as described for round I nested-PCR. Copy number was calculated using the following formula:

$m=-n* \ln(E)$

where m – copy number of target-sequence per sample, n – number of particles, E – probability of null particle (no amplification).

The products of amplification were separated in 1,5% agarose gel electrophoresis (6V/cm) in a 1xTBE migration buffer (pH 8.0) with ethidium bromide, viewed in the UV (302 nm) and photographed.

Means' comparison was performed using one-way ANOVA test ($p<.05$). Correlation between fungi quantities in soil and mean values of abiotic factors (air temperature, relative humidity and quantity of precipitations) was evaluated using Pearson's correlation coefficient.

Results and discussions

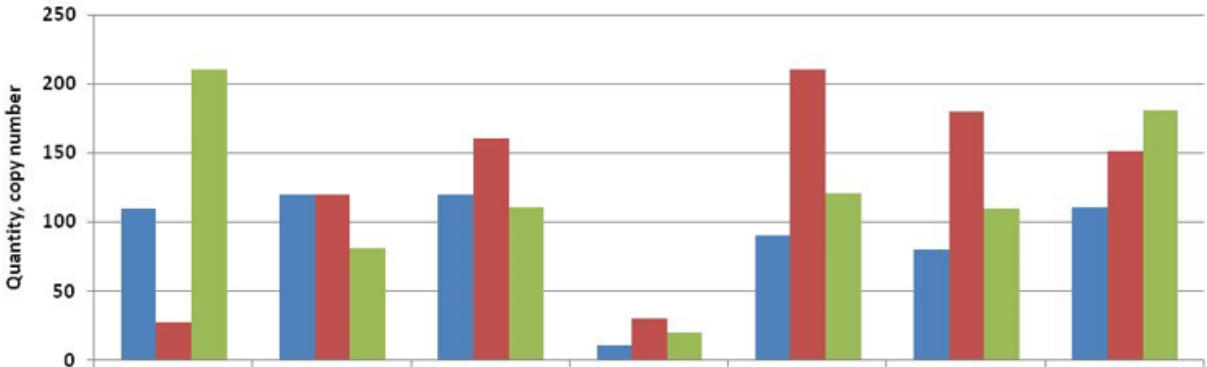
The development and propagation of fungal pathogens depend on abiotic environmental factors, among which temperature and air humidity are limiting. The values of average daily temperatures differed significantly ($p<.0001$) only in March and April before corn sowing, during other months the difference in the values of this parameter between years was insignificant (Tab. 2). The values of relative air humidity in the spring-summer period varied more strongly between years, and May-July 2022 and July-August 2020 can be considered the most unfavorable for the development of fungal pathogens, when the values of this parameter did not reach 55%. The least amount of precipitation was recorded in April and August of 2020 and May-June of 2022.

Table 2. Values of abiotic factors, critical for fungi's propagation in spring-summer season during 2020-2022 period of monitoring.

	Average air temperature (°C)					
	March	**April**	**May**	**June**	**July**	**August**
2020	7.8	11.3	13.9	21.3	23.2	23.5
2021	3.4	8	14.8	19.7	23.5	21.3
2022	3.2	10.2	16.5	21.9	23.3	23.4
	Average relative air humidity (%)					
	March	**April**	**May**	**June**	**July**	**August**
2020	57	35	63	64	53	47
2021	67	64	68	71	64	66
2022	55	60	49	53	48	62
	Sum of precipitations (mm)					
	March	**April**	**May**	**June**	**July**	**August**
2020	20	4.4	66	86	85	4.5
2021	36	38	104	87	116	112
2022	11	70	21	6.7	82	82

Soil fungal microbiota was represented by *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium* genera. Seven *Fusarium* species were identified, *F. graminearum*, *F. verticillioides* and *F. proliferatum* being main causal agents of major maize diseases Gibberella ear rot and Fusarium ear rot (Fig.1). All three species are mycotoxigenic and are able to produce DON (F. graminearum) and fumonisins (F. verticillioides, F. proliferatum) [9]. Quantitative analysis using conventional PCR with application of the Poisson distribution demonstrated that among *Fusarium* pathogenic species the most abundant in the soil was *F. graminearum*, and the lowest amounts were calculated for *F. culmorum*. Although other three species, *F. equiseti*, *F. incarnatum* and *F. sporotrichioides*, are able to infect maize, they are considered minor pathogens that maize induce stalk and kernel rots usually with other major pathogens [10]. For most of the species the lowest quantity was calculated in 2020, when climate conditions were least favorable for fungal life cycle. It was observed a significant influence of environmental conditions at $p<.05$ on the quantity of *F. graminearum* [$F(2,15)=4.61$, $p=.027$], *F. equiseti* [$F(2,15)=5.26$, $p=.019$], *F. incarnatum* [$F(2,15)=8.18$, $p=.003$]. For all three species there was a statistically significant difference in pathogen's quantity in soil between years 2020 and 2021.

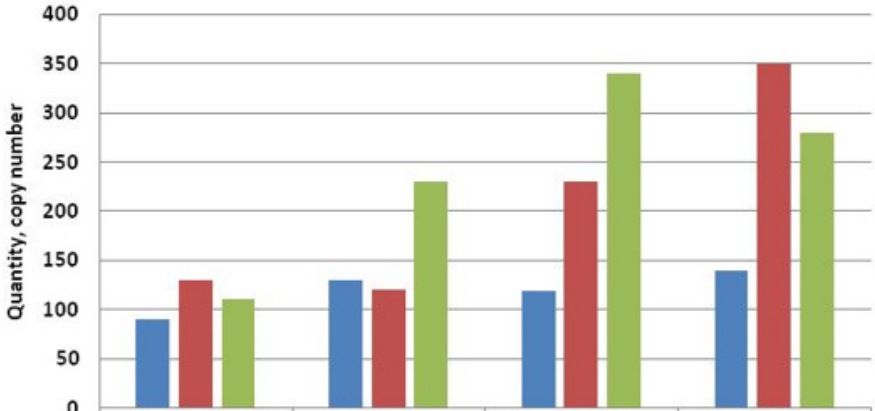
Fig. 1. Mean Fusarium spp. quantities in soil samples gathered from experimental cornfields.



	F. graminearum	F. verticillioides	F. proliferatum	F. culmorum	F. equiseti	F. incarnatum	F. sporotrichioides
2020	110.07	120.15	120.14	10.61	90.86	80.48	110.32
2021	27.57	120.15	160.82	30.69	210.27	180.1	150.84
2022	210.74	80.98	110.48	20.16	120.4	110.2	180.82

Results of PCR analysis showed that *Aspegillus* was the most abundant fungal genus in soil. The highest quantities were calculated for *A. clavatus* and *A. ochraceus*, main aflatoxigenic [11] fungi *A. flavus* and *A. parasiticus* were present in smaller quantities (Fig.2). Conditions of the year didn't affect significantly accumulation of *A. flavus*, *A. parasiticus* and *A. ochraceus* in soil. Only quantities of *A. clavatus* differed significantly under weather conditions of the year [F(2,15)=5.75, p=.014]. Significant difference in fungus's quantity was observed between years 2021-2022. During the first year of monitoring this difference was not significant.

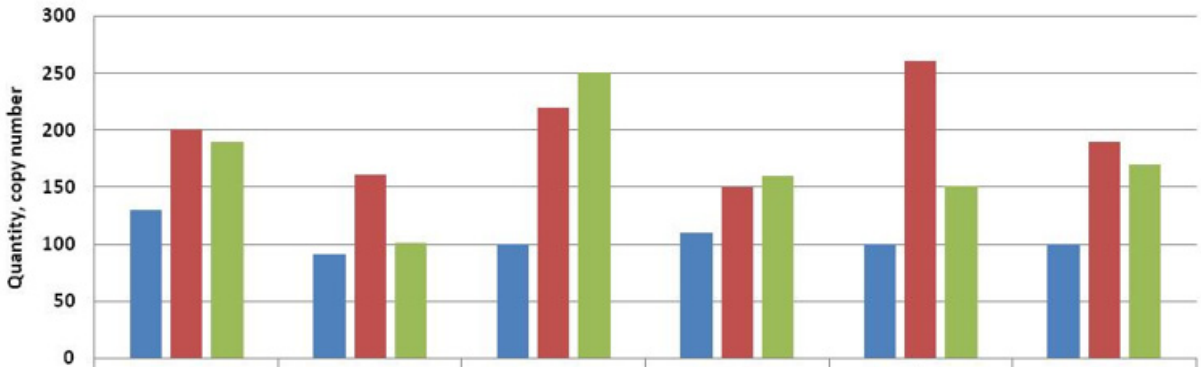
Fig. 2. Mean Aspergillus spp. quantities in soil samples gathered from experimental cornfields.



	A. parasiticus	A. flavus	A. clavatus	A. ochraceus
2020	90.48	130.58	120.09	140.54
2021	130.84	120.32	230.29	351
2022	110.74	230.29	341	280.25

Overall *Penicillium spp*. quantity in soil was higher compared to *Fusarium* fungi, the lowest quantities of *Penicillium* fungi in soil were observed in 2021 (Fig.3). PCR analysis revealed that the most prevalent was *P. griseofulvum* and *P. brevicompactum*. However, *P. citrinum* and *P. verrucosum* were less abundant. Overall impact of weather conditions of the year on the fungi's accumulation in soil was not very prominent. Year of vegetation affected significantly the quantities of *P. chrysogenum* [F(2,15)=3.85, p=.045], statistically differed the values between years 2020 and 2021. Also, quantities of *P. expansum* was affected by conditions of the year of vegetation [F(2,15)=8.98, p=.003] and significant difference in fungus' quantities was observed between years 2020-2021 and 2020-2022. Weather conditions did not affect significantly the accumulation of other *Penicillium* species in soil.

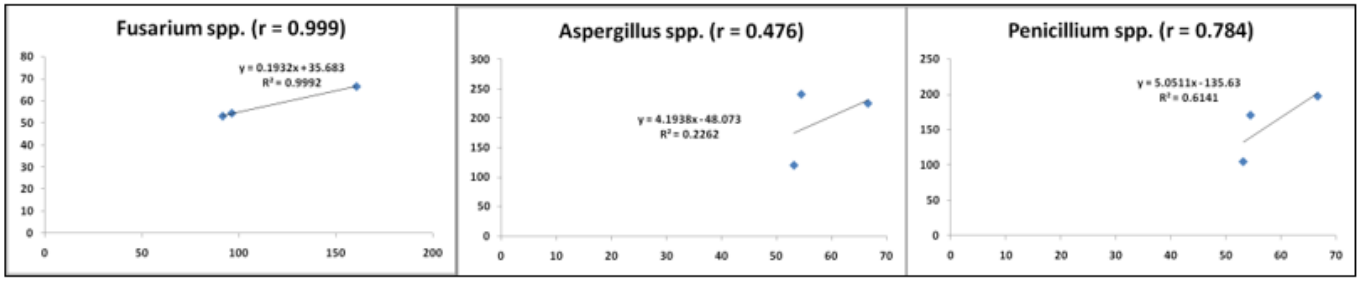
Fig. 3. Mean Penicillium spp. quantities in soil samples gathered from experimental cornfields.



	P. chrysogenum	P. citrinum	P. griseofulvum	P. verrucosum	P. brevicompactum	P. expansum
2020	130.32	90.71	100.48	110.13	100.05	100.09
2021	200.72	160.76	220.46	150.43	260.82	190.49
2022	190.1	100.89	250.89	160.49	151	170.3

A positive correlation between mean values of *Fusarium spp*., *Aspergillus spp*. and *Penicillium spp*. quantities in soil and mean values of relative humidity was observed (Fig.4). For *Fusarium spp*. correlation between fungi's quantity and values of the factor was very strong positive, while for *Penicillium spp*. correlation was strong positive and for *Aspergillus spp*. it was already moderate positive. Although air humidity is a restrictive factor for fungi's propagation, its impact can be diminished by the accessibility of moisture, and therefore uneven distribution of rainfall during the season of vegetation might affect the impact of air humidity on fungi's accumulation in soil. Difference in Pearson correlation coefficient for *Fusarium spp*., *Aspergillus spp*. and *Penicillium spp*. also might be explained by the additional sources of soil infestation with different fungi – *Aspergillus spp*. and *Penicillium spp*. are considerate „depositary fungi", therefore, maize seed material itself can serve as source of soil contamination with respective pathogens.

Fig. 4. Correlation between mean values of relative air humidity during spring-summer season (2020-2022) and quantities of Fusarium spp., Aspergillus spp. and Penicillium spp. in soil.



On the contrary, correlation between fungi's quantity in soil and air temperatures was negative (Fig. 5). A very strong negative correlation between the studied parameters was observed for *Fusarium spp*. and *Penicillium spp*., while for *Aspergillus spp*. there was a moderate negative correlation. *Aspergillus spp*. are more specific for southern regions and are able to propagate under higher mean temperatures compared to *Fusarium* genus [1]. The later comprises species that need different intervals of optimum air temperatures for propagation, for some of them lower temperatures are essential and they are more specific for temperate areas, like *F. graminearum* [9]. Summer heat affects negatively some maize genotype, susceptible to high air temperatures, and withered plants become substrate for propagation of saprotrophic fungi, weakening the negative correlation between quantities of *Aspergillus spp*. and *Penicillium spp*. in soil and values of relative air humidity during maize vegetation.

Generally, correlation between quantities of precipitations during the period of maize vegetation and quantities of precipitation showed a positive trend (Fig.6). For *Fusarium spp*. this parameter was strong positive, while for *Aspergillus spp*. it was weak. Therefore, quantity of *Aspergillus* fungi in soil was less influenced by quantities of precipitations compared to *Penicillium* and *Fusarium* fungi.

Fig. 5. Correlation between mean values of air temperature during spring-summer season (2020-2022) and quantities of Fusarium spp., Aspergillus spp. and Penicillium spp. in soil.

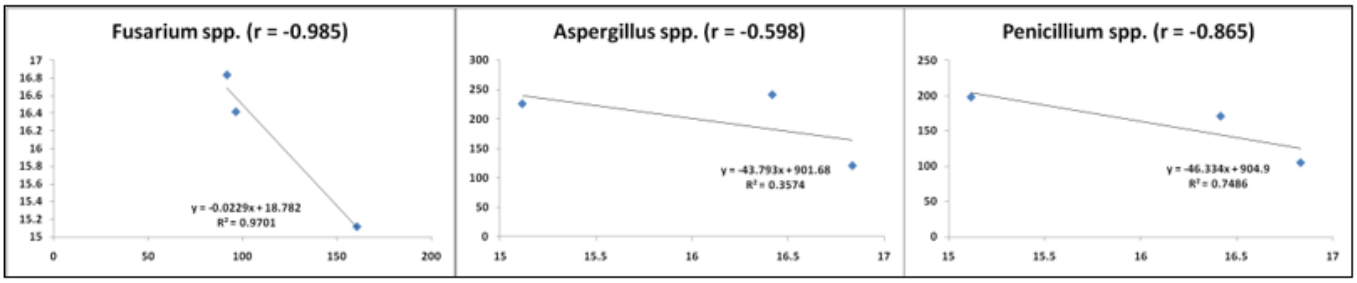
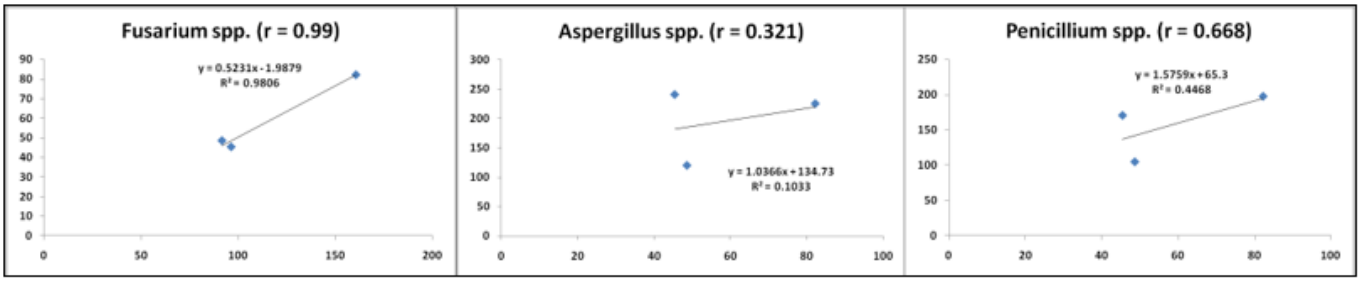


Fig. 6. Correlation between quantities of precipitations during spring-summer season (2020-2022) and quantities of Fusarium spp., Aspergillus spp. and Penicillium spp. in soil.



Thus, major and minor causal agents of FER and GER as well as opportunistic pathogens like *Aspergillus spp*. and *Penicillium spp*. that provoke grain spoilage during storage were identified in soil during 3-year period of monitoring. Many of these species are able to produce fumonisins, aflatoxins, trichotecenes, ochratoxin A, patulin and several other mycotoxins, which have a serious adverse impact on human health, livestock's productivity and quality of maize grain during storage in Gene bank.

Conclusions

Soil from experimental cornfields was contaminated with several pathogenic species of fungi that cause major diseases in maize (FER and GER) and a wide specter of fungi that induce kernel spoilage during storage. These fungi were identified in soil samples during the whole period of monitoring, and weather conditions of the year of vegetation had an uneven impact on their accumulation in soil resulting from different optimum values of abiotic factor for different fungi's propagation and action of additional external factors. Positive correlation was observed between quantities of fungi and values of relative air humidity. It was revealed that propagation of *Fusarium spp.* was the most affected by abiotic factors compared to the species from two other fungal genera.

References:

1. EKWOMADU, T., GOPANE, R., MWANZA, M. Occurrence of filamentous fungi in maize destined for human consumption in South Africa. In: *Food science & nutrition*, 2018, vol. 6, nr. 4, p. 884–890. ISSN: 2048-7177.
2. PENAGOS-TABARES, F. et al. Fungal species and mycotoxins in mouldy spots of grass and maize silages in Austria. In: *Mycotoxin research*, 2022, vol. 38, nr. 2, p. 117–136. ISSN: 1867-1632.
3. VANDICKE, J. et al. Multi-mycotoxin contamination of maize silages in Flanders, Belgium: monitoring mycotoxin levels from seed to feed. In: *Toxins*, 2021, vol. 13, nr. 3, p. 1–22. ISSN: 2072-6651.
4. GARCIA-CELA, E. et al. Interacting environmental stress factors affect metabolomics profiles in stored naturally contaminated maize. In: *Microorganisms*, 2022, vol. 10, nr. 5, p. 1–17. ISSN: 2076-2607.
5. WEN, Y. et al. Effect of stored humidity and initial moisture content on the qualities and mycotoxin levels of maize germ and its processing products. In: *Toxins*, 2020, vol. 12, nr. 9, p. 1–13. ISSN: 2072-6651.
6. XING, H. et al. Mycobiota of maize seeds revealed by rDNA-ITS sequence analysis of samples with varying storage times. In: *Microbiology open*, 2018, vol. 7, nr. 6, p. 1-10. ISSN: 2045-8827.
7. SSERUMAGA, J. et al. Aflatoxin-producing fungi associated with pre-harvest maize contamination in Uganda. In: *International journal of food microbiology*, 2020, vol. 313, p. 1–8. ISSN: 1879-3460.

8. UL-HASSAN, Z. et al. Investigation and application of *Bacillus licheniformis* volatile compounds for the biological control of toxigenic *Aspergillus* and *Penicillium spp*. In: *ACS omega*, 2019, vol. 4, nr. 17, p. 17186–17193. ISSN: 2470-1343.
9. MUNKVOLD, G. *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: *Mycotoxigenic fungi: methods and protocols, methods in molecular biology*, 2017, vol. 1542, p. 51–106. ISSN: 1064-3745.
10. THOMPSON, M., RAIZADA, M. Fungal pathogens of maize gaining free passage along the silk road. In: *Pathogens*, 2018, vol. 7, nr. 4, p. 1–16. ISSN: 2076-0817.
11. PFLIEGLER, W. et al. The *Aspergilli* and their mycotoxins: metabolic interactions with plants and the soil biota. In: *Frontiers of microbiology*, 2020, vol. 10, p. 1–21. ISSN: 1664-302X.
12. YUE, J. et al. PCPPI: a comprehensive database for the prediction of *Penicillium*-crop protein-protein interactions. In: *Database: the journal of biological databases and curation*, 2017, vol. 2017, nr. 1, p. 1–9. ISSN: 1758-0463.
13. *State hydrometeorology service*. Chisinau, Republic of Moldova, 2004. http://www.meteo.md
14. MILLER, D. et al. Evaluation and optimization of DNA extraction and purification procedures for soil and sediment samples. In: *Applied and environmental microbiology*, 1999, vol. 65, p. 4715–4724. ISSN: 0099-2240
15. *National center for biotechnology information*. National library of medicine, © 1988. https://www.ncbi.nlm.nih.gov

Date about author:
Cristina GRAJDIERU, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova, junior research officer.
E-mail: kgrejdieru@mail.ru
Tel.: 060241122
ORCID: 0000-0003-1560-792

Elena BILICI, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova, coordinating research officer.
E-mail: bylici.alena@mail.ru
ORCID: 0000-0002-2360-5518

Acknowledgements: *Current research was supported by the National Agency for Research and Development, Republic of Moldova, under grant ,,Long-term ex situ conservation of plant genetic resources in Gene bank, using molecular methods for testing of plant germplasm healthfulness" (grant number 20.80009.5107.11).*

Presented on 25.03.2023

CZU:633.854.78(478)

UNELE ASPECTE ALE STUDIULUI POTENŢIALULUI GENETIC LA HIBRIZI DE FLOAREA SOARELUI ÎN CONDIŢIILE REPUBLICII MOLDOVA

Ina BIVOL, Ion BURCOVSCHII, Maria DUCA
Universitatea de Stat din Moldova

Mihail MACHIDON
Comisia de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante

În condiţiile zonei de nord și sud a Republicii Moldova pe parcursul anilor 2020-2021 s-a efectuat evaluarea unor hibrizi comerciali de floarea-soarelui cu diferită proveniență în scopul selectării hibrizilor cu caractere valoroase ca surse suplimentare pentru intensificarea producției de floarea-soarelui în țară. S-a stabilit că hibrizii testaţi au prezentat după trăsăturile morfologice o variabilitate bogată, care în mare măsură este dependentă de genotip, proveniența acestuia și totodată condițiile climatice zonale și anuale. Lucrarea de față include date privind evaluarea potenţialului genetic la 6 hibrizi de floarea-soarelui după unele caractere cantitative (indicele suprafeței foliare, suprafața foliară, cantitatea de clorofila a și b, cantitatea de carotenoizi, înălţimea plantei, numărul de frunze, recolta medie, conținutul de ulei) şi markeri moleculari (RAPD).

Cuvinte-cheie: *Helianthus annuus, floarea-soarelui, hibrizi, potențialul genetic, caractere cantitative, analiza RAPD, marker.*

SOME ASPECTS OF THE GENETIC POTENTIAL STUDY OF SUNFLOWER HYBRIDS UNDER REPUBLIC OF MOLDOVA CONDITIONS

The evaluation of some commercial sunflower hybrids with different origins in the conditions of the northern and southern areas of the Republic of Moldova was conducted during the years 2020-2021 in order to select the hybrids having valuable traits as additional sources for intensification of sunflower production in the country. It was established that the tested hybrids have a rich variability based on the morphological traits, which is largely dependent on the genotype, its origin and also the zonal and annual climatic conditions. The present article includes the data on the genetic potential evaluation of 6 sunflower hybrids obtained by means of some quantitative traits (leaf area index, leaf surface, amount of chlorophyll a and b, amount of carotenoids, plant height, number of leaves, average yield, oil content) and molecular markers (RAPD).

Keywords*: Helianthus annuus, sunflower*, *hybrids, genetic potential, quantitative traits, RAPD analysis, marker.*

Introducere

Floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.) este una din principalele culturi profitabile din Republica Moldova. Din aceste considerente pe piața internă se impun cerinţe sporite față de hibrizii noi creați, care au un anumit potențial de producție și toleranță la factorii biotici și abiotici și care furnizează recolte stabile în diferite condiții de mediu.

Este cunoscut, că un punct important al oricărui program de ameliorare este disponibilitatea resurselor genetice cu un grad ridicat de diversitate genetică. Pentru aceste scopuri, cel mai frecvent se utilizează metodele tradiționale, care se bazează pe o analiză comparativă a parametrilor morfologici. Cu toate acestea, caracterele morfologice sunt supuse influenței mediului ambiant, ceea ce provoacă dificultăți semnificative în utilizarea doar a metodelor clasice de evaluare. Astfel, pe lângă metodele clasice de testare a resurselor genetice este necesară și aplicarea unor tehnologii moleculare, care permit nivelarea influenței factorilor de mediu asupra rezultatelor, identificarea exactă a genotipurilor în orice stadiu al ontogenezei și obținerea unei soluții a problemei mai precisă și mai rapidă.

Una dintre cele mai populare metode moleculare în detectarea diferențelor genetice la plante este analiza polimorfismului fragmentelor amplificate aleatoriu (RAPD), care nu necesită costuri mari, este rapidă și sim-

plă în efectuarea procedurilor tehnice a procesului. Tehnica RAPD se caracterizează prin faptul că dezvăluie moștenire dominantă, poate detecta mai mulţi loci simultan, nu necesită secvențierea preliminară a obiectului de studiu, dar reproductibilitatea și informativitatea utilizării sale sunt destul de scăzute [1]. Din aceste considerente, reesă că utilizarea markerilor moleculari în combinație cu cei morfologici extinde semnificativ posibilitățile de gestionare eficientă a resurselor genetice și de optimizare a procesului de ameliorare.

În acest context, scopul cercetărilor expuse în lucrarea de față a constituit în caracterizarea hibrizilor de floarea-soarelui cu proveniență diferită, elucidarea potențialului de producție a acestora și evaluărea diversității genetice cu ajutorul markerilor morfologici și moleculari.

Materiale şi metode

În cercetările privind evaluarea diversității fenotipice și genetice au fost incluși 6 hibrizi comerciali de floarea-soarelui creaţi în cadrul diferitor companii agricole europene și locale (Tab. 1) și un set de 3 martori care s-au caracterizat prin 3 grupe de maturitate (timpurie, semitimpurie, semitardivă).

Experienţele de câmp s-au desfăşurat la 4 Staţiuni Experimentale de Testare a Soiurilor de Plante din Republica Moldova (Visoca, Pelinia, Grigorievca și Svetlîi) în 5 repetiţii pe parcursul anilor 2020-2021. În pepiniera culturilor comparative hibrizii au fost testați față de martori sub aspectul multiplelor caractere morfobiologice și agronomice. Materialul biologic, inclus în studiu a fost caracterizat după unii indicatori fenologici, fiziologici (indicele suprafeței foliare, suprafața foliară, cantitatea de clorofila a și b, cantitatea de carotenoizi), fiind efectuate măsurări biometrice, numărări şi aprecieri vizuale privind determinarea diversității fenotipice (înălţimea plantei, numărul de frunze) și de productivitate (recolta medie, conținutul de ulei).

Tabelul 1. Hibrizii de floarea-soarelui utilizați în analiză.

Nr.	Codul hibridului	Proveniența	Sursa elaborării	Țara
1.	7	Resurse locale	AMG Agroselect	Moldova
2.	11	Resurse europene	Saaten Union Romania	Germany
3.	30	Resurse europene	Syngenta	France
4.	34	Resurse europene	Limagrain	France
5.	60	Resurse europene	MAS SEEDS	France
6.	64	Resurse europene	Euralis Semences	France

ADN-ul genomic total pentru analiza RAPD a fost extras din frunze în azot lichid folosind Thermo Scientific GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit #K0791 conform protocolului producătorului (Thermo Fisher Scientific, SUA). Probele de ADN au fost totodată purificate suplimentar de ARN ribozomal și polizaharide, ce blochează modul normal al reacției de amplificare, prin intermediul soluţiei de clorură de litiu 12 M, aducând concentrația sa finală în soluție la 4 M. Calitatea și cantitatea ADN-lui a fost determinată prin metoda spectrofotometrică (model T60 UV-VIS, PG Instruments Limited, England) și electroforetică în gel de agaroză de 1%. În vederea evaluării genetice a materialului biologic luat în studiu, au fost utilizaţi 11 primeri arbitrari (Tab. 2). Temperatura de aliniere (Tm) a primerilor a fost aproximată rapid cu ajutorul formulei Tm=4x(G+C)+2x(A+T) conform recomandărilor producătorului şi determinată empiric (Thermo Fisher Scientific, SUA).

Tabelul 2. RAPD primeri incluşi în cercetare.

Nr.	Codul primerului	Secvența nucleotidică (5′→ 3′)	NBA	GC, %	Tm, °C
1.	OPB12	cc tt ga cg ca	10	60	36
2	OPC05	ga tg ac cg cc	10	70	38
3.	OPC07	gt cc cg ac ga	10	70	38
4.	OPF08	gg ga ta tc gg	10	60	36

5.	OPD07	tt gg ca cg gg	10	70	38
6.	OPA11	ca at cg cc gt	10	60	36
7.	OPG6	gt gc ct aa cc	10	60	36
8.	OPG10	ag gg cc gt ct	10	70	38
9.	OPE17	ct ac tg cc gt	10	60	36
10.	OPI16	tc tc cg cc ct	10	70	38
11.	OPH15	aa tg gc gc ag	10	60	36

NBA-numărul de baze azotate; GC, %-componenţa G şi C în secvenţa fiecărui primer în procente; Tm-temperatura de aliniere.

Amplificarea s-a efectuat cu ajutorul amplificatorului Genset 9700 (Applied Biosystems, USA) după următorul program: 1) denaturarea initială 5 min la 95°C – 1 ciclu; 2) denaturarea 1 min la 95°C, alinierea 1 min la 36/38°C, elongarea 1 min la 72°C – 45 cicluri; 3) elongarea finală 5 min la 72°C –1 ciclu [2, p. 8.4-8.13]. Produsele amplificării au fost analizate prin electroforeză în gel de agaroză 1.6% în soluţie tampon de migrare 1xTAE (40 mM Tris-acetat, pH 8.0; 0.2 mM EDTA) la intensitatea câmpului electric de 2.5 V/oră/cm [2, p.5.4-5.13]. Pentru determinarea dimensiunilor fragmentelor amplificate din gel au fost utilizate fragmente-marker ai lungimii GeneRuler 1kb DNA Ladder SM0311 (Thermo Fisher Scientific, USA). Vizualizarea probelor în gel de agaroză s-a realizat la transiluminator în raze ultraviolete cu lungimea de undă 305 nm, după ce acesta a fost colorat cu bromură de etidiu. Documentarea rezultatelor s-a efectuat prin utilizarea sistemului de fotodocumentare DOC-PRINT-VX2, model SXT-F20.M (Vilber Lourmat, France).

Prelucrarea statistică a datelor experimentale s-a realizat după Доспехов [3, p. 160-164], utilizând programul computerizat Microsoft Excel 2010. Pentru rezultatele obţinute în urma investigaţiilor au fost determinate valoarea maxima (Vmax) şi minima (Vmin), valoarea mediei aritmetice ($\bar{x}$), devierea standartă ($S_{\bar{x}}$), coeficientul de variaţie (V, %) după următorele formule:

$$\bar{x} = \frac{\sum X}{n};\quad S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}};\quad V = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%$$

unde Σ este simbolul de însumare; X - valorile individuale ale caracterului; n este numărul de măsurări.

Imaginile rezultate în urma reacţiilor PCR au fost analizate prin intermediul programului specializat Photo-Capt (versiunea 15.02), care a permis stabilirea mărimii fiecărui fragment amplificat. Datele generate de program au fost preluate de componenţa Excel a pachetului Microsoft Office 2010 transformându-le într-o matrice binară.

Nivelul de polimorfism genetic al fragmentelor amplificate (RAPD) a fost calculat după Сиволап [4]:

$$P(\%) = \frac{numarul\ de\ ampliconi\ polimorfi}{numarul\ total\ de\ ampliconi} \times 100\%$$

Conţinutul informaţiei polimorfe (PIC) sau gradul de polimorfism generat de fiecare marker RAPD în funcţie de numărul de alele detectate şi de distribuţia frecvenţelor acestora s-a calculat conform următoarei formule [5]:

$PIC_i = 2f_i(1 - f_i)$, unde f_i – este frecvenţa alelei amplificate (banda prezentă), iar $(1 - f_i)$ este frecvenţa alelei nule.

Puterea de descriere a primerului/lor sau abilitatea celui mai informativ primer/i de a diferenţia genotipurile într-un grup s-a calculat în baza informativităţii relative a benzii (Ibi) şi proporţiei genotipurilor (pi) care conţin banda (i) [6]:

$Rp = \Sigma\ Ibi$, unde $Ibi = 1 - [2\times|0{,}5 - pi|]$

Coeficientul Simpson sau potenţialul de discriminare al fiecărui primer a fost calculat conform următoarei formule [7]:

$$h_j = \sum\left(\frac{1 - \sum p_i^2}{n}\right)$$

unde p_i – este frecvenţa alelei *i* şi *n*- numărului de loci detectaţi de fiecare primer.

Indicele markerului (MI) este utilizat pentru a evalua eficiența unui sistem de markeri calculat conform următoarei formule [8]:

MI = PIC × EMR, unde raportul multiplex efectiv (EMR) este apreciat prin numărul total de loci (n) și numărul locilor polimorfi (n_p) per primer calculat în baza raportului:

$$EMR = n_p\left(\frac{n_p}{n}\right)$$

Determinarea distanţei genetice a fost efectuată cu ajutorul programului XLSTAT 2014 version 2014.5.03. La final, pe baza coeficientului Euclidian și metodei de clusterizare Ward, s-au construit dendograme filogenetice cu scopul depistării posibilelor asocieri genetice și morfologice a hibrizilor cercetați.

Variabilitatea genetică și relațiile genotipurilor au fost determinate prin trimiterea matricei binare la o analiză a componentelor principale (ACP) cu ajutorul programului XLSTAT versiunea 2014.5.03.

Numărul alelelor observate (Na), numărul efectiv de alele (Ne), indicele de diversitate genică Nei (H), indicele informațional Shannon (I), diversitatea genică totală (Ht), procentul de loci polimorfi (PPL) s-au determinat utilizând programul de analiză statistică POPGENE versiunea 1.32.

Rezultate și discuții

Baza genetică a germoplasmei de floarea-soarelui are o rezervă ascunsă de gene noi sau combinații ale acestora, inclusiv caractere importante pentru selecție. Studiul potențialului fondului genetic a florii-soarelui în funcție de caracterele biologice, genetice și economice principale face posibilă extinderea bazei genetice pentru implementarea cu succes a programelor de ameliorare în diferite zone.

Crearea hibrizilor cu un anumit grad de omogenitate după un șir de caractere agronomice valoroase, îmbinată cu utilizarea unor practici agronomice adecvate reduce impactul factorilor limitativi şi contribuie la creşterea randamentului de floarea-soarelui. Hibrizii autohtoni sunt mai bine aclimatizați față de condiţiile agroecologice din Moldova, comparativ cu formele străine, astfel, fiind mai atractivi pentru amelioratori și fermieri.

În studiul dat s-a constatat că hibrizii cu origine genetică diferită se repartizează în 3 grupe de maturitate și se manifestă prin diferită rezistență la parazitare cu *O. cumana* în condițiile Republicii Moldova (Tab. 3). Hibrizii din Republica Moldova (7) și Germania (11) se disting prin grupa de maturitate timpurie și rezistență slabă la lupoaie în comparație cu hibrizii francezi (30, 34, 60, 64), care s-au caracterizat prin rezistență înaltă la lupoaie și grupa de maturitate semitempurie/semitardivă.

Tabelul 3. Caracteristica hibrizilor de floarea-soarelui cu origine genetică diferită.

Nr.	Codul hibridului	Grupa de maturitate	Rezistenta la lupoaie
1.	7	timpurie	sensibil
2.	11	timpurie	sensibil
3.	30	semitimpurie	rezistent
4.	34	semitimpurie	rezistent
5.	60	semitardivă	rezistent
6.	64	semitardivă	rezistent

Hibrizii testaţi au prezentat o variabilitate bogată după trăsăturile morfologice, care în mare măsură sunt dependente de genotip, proveniența acestora și condițiile climatice zonale și anuale. Astfel, pe parcursul anilor 2020-2021, înălţimea plantelor a demonstrat că hibrizii studiați au avut diferite valori în dependență de potențialul genetic și condițiile climatice ale anului. Înălţimea plantelor este o trăsătură importantă în procesul de recoltare mecanizată a florii-soarelui, din aceste considerente amelioratorii preferând formele cu talie joasă de 1.20-1.50 m, caracterizate prin recoltă înaltă şi rezistenţă sporită la cădere [9]. S-a constatat că înălţimea plantei în dependență de hibrid și an variază în limitele 0.97-2.70 m, media cărora pe 2 ani este cuprinsă între 1.54-2.11 m (Tab. 4).

Tabelul 4. Variabilitatea unor caractere morfologice la hibrizi de floarea-soarelui.

Caractere	Anul	Indicii statistici	Hibrizii					
			7	**11**	**30**	**34**	**60**	**64**
Înălţimea plantei, m	2020	V.max	1.73	1.58	1.79	1.91	1.92	2.10
		V.min	1.18	0.97	1.62	1.62	1.80	1.79
		$X\pm S_x$	1.47±0.29	1.34±0.27	1.73±0.08	1.76±0.15	1.86±0.05	1.91±0.15
		V, %	19.80	19.98	4.41	8.22	2.62	7.74
	2021	V.max	2.03	1.91	2.20	2.09	2.25	2.70
		V.min	1.66	1.40	1.60	1.78	1.98	2.01
		$X\pm S_x$	1.84±0.16	1.74±0.24	1.84±0.28	1.99±0.14	2.11±0.12	2.31±0.29
		V, %	8.42	13.54	14.96	7.19	5.76	12.44
	$X\pm S_x$ 2020-2021		**1.66±0.29**	**1.54±0.31**	**1.79±0.20**	**1.87±0.18**	**1.99±0.16**	**2.11±0.30**
Numărul de frunze	2020	V.max	25.00	22.40	27.00	25.00	27.60	31
		V.min	18.00	18.60	24.00	19.00	23.00	25
		$X\pm S_x$	22.25±2.99	20.75±1.78	25.30±1.54	23.15±2.80	25.55±1.91	29.05±2.74
		V, %	13.44	8.56	6.07	12.08	7.46	9.45
	2021	V.max	25.20	23.00	27.00	26.00	25.60	30.8
		V.min	23.00	20.60	23.20	23.00	24.00	27
		$X\pm S_x$	23.85±1.00	22.20±1.08	25.65±1.75	24.80±1.28	24.65±0.79	29.00±1.56
		V, %	4.19	4.88	6.81	5.14	3.20	5.37
	$X\pm S_x$ 2020-2021		**23.05±2.23**	**21.48±1.57**	**25.48±1.53**	**23.98±2.20**	**25.10±1.43**	**29.03±2.07**

Vmax – valoarea maxima; Vmin – valoarea minima; $X\pm S_x$ – valoarea mediei aritmetice şi devierea standartă; V, % – coeficientul de variaţie.

Dintre hibrizii evaluați, în limitele menţionate se înscrie preponderent hibridul german cu media de 1.54 m. Totodată, coeficientul de variație a atins valori medii de la 2.62 până la 19.98%, fapt ce indică variabilitatea medie a caracterului în cadrul hibrizilor studiați timp de doi ani. S-a constatat că hibrizii francezi 60 și 34 sunt cei mai stabili după caracterul studiat (V=4.19% și V=7.71%%, respectiv), iar hibridul german (11) și local (7) au o variabilitate mult mai mare (V=16.76% și V=14.11%, respectiv).

Numărul de frunze variază în limitele de 18 și 31 bucăţi. Hibrizii francezi (30, 34, 60, 64) au fost evidențiați cu cel mai mare număr de frunze (în mediu 24 – 29) în comparație cu restul hibrizilor, fapt care influențează pozitiv randamentul şi conţinutul de ulei în seminţe de floarea-soarelui, ceea ce a fost observat în studiul present și în lucrările similare efectuate de Hladni et al. [10] şi Khan et al. [11]. Hibrizi 30 și 60 au fost cei mai stabili, cu coeficientul de variaţie mediu de 6.44 și 5.33 pentru 2 ani respectiv.

Caracterele asociate cu potențialul fotosintetic la hibrizii testați, inclusiv indicele suprafeței foliare variază în limitele – 1.36 și 5.54 m^2/m^2, suprafața foliară – 0.24 și 0.85 m^2, cantitatea de clorofila a – 2.56 și 3.89 mg/g, cantitatea de clorofila b – 0.78 și 1.58 mg/g, cantitatea de carotenoizi – 0.56 și 1.91 mg/g, raportul pigmenților clorofilieni Ca/Cb – 2.20 și 3.40, suma pigmenților clorofilieni Ca+Cb – 3.36 și 5.35 mg/g (Tab. 5).

Analiza valorilor privind potențialul fotosintetic la hibrizi pune în evidenţă 4 hibrizi (64, 60, 34 și 11) de origine franceză și germană care prezintă valori maximale. S-a observat că hibridul local 7 prezintă o variabilitate mai mare, în special, după caracterele indicele suprafeței foliare şi suprafața foliara, coeficientul de variaţie mediu pentru 2 ani constituind cca 31.41 și 28.19%, respectiv. Cantitatea de clorofilă a și b, raportul pigmenților clorofilieni Ca/Cb, suma pigmenților clorofilieni Ca+Cb s-a manifestat cu o variabilitate mărită pentru 2 ani la hibridul german 11 (V=12.56%, V=21.52%, V=13.04%, V=14.21%, respectiv). Cel mai instabil după cantitatea de carotenoizi a fost hibridul 64 (V=26.83%).

Doi hibrizi (hibridul german 11 - V=16.49% ; francez 30 - V=17.49%) au pus în evidență cel mai înalt

nivel de stabilitate după suprafața foliara și indicele suprafeței foliare, hibridul francez 64 (V=4.50%) - după cantitatea de clorofila a, hibrizii francez 60 (V=2.97%) și local 7 (V=3.36%) –după cantitatea de clorofila b, hibridul local 7 (V=3.36%) - după cantitatea de carotenoizi, hibridul francez 30 (V=4.28%) - după raportul pigmenților clorofilieni Ca/Cb, hibrizii francezi 64 și 60 (V=6.02%, V=6.30%, respectiv) - după suma pigmenților clorofilieni Ca+Cb (Tab. 5).

Tabelul 5. Potențialul fotosintetic la hibrizi de floarea-soarelui.

Caractere	Anul	Indicii statistici	Hibrizii					
			7	**11**	**30**	**34**	**60**	**64**
Indicele suprafeței foliare, m^2/m^2	2020	V. max - min	2.95 - 1.36	2.86 - 1.84	4.10- 3.10	3.22 -1.49	3.85 -3.29	4.42 - 2.29
		$X\pm S_x$	2.05±0.73	2.28±0.44	3.39±0.48	2.48±0.79	3.63±0.26	3.41±0.87
		V, %	35.45	19.39	14.11	31.95	7.26	25.61
	2021	V. max - min	3.73 - 2.02	2.81 - 2.08	4.03 - 2.55	3.11 - 2.18	5.54 - 2.52	3.95 -2.58
		$X\pm S_x$	2.89±0.79	2.61±0.35	3.12±0.65	2.78±0.44	3.87±1.40	3.44±0.60
		V, %	27.36	13.59	20.87	15.76	36.12	17.37
	$X\pm S_x$	2020-2021	**2.47±0.83**	**2.44±0.41**	**3.25±0.55**	**2.63±0.61**	**3.75±0.94**	**3.43±0.70**
Suprafața foliară, m^2	2020	V. max - min	0.41 - 0.24	0.41 - 0.32	0.57 - 0.44	0.53 - 0.26	0.77 - 0.58	0.62 - 0.40
		$X\pm S_x$	0.32±0.10	0.37±0.04	0.53±0.06	0.39±0.11	0.66±0.09	0.56±0.11
		V, %	29.93	10.88	11.83	27.85	12.81	18.94
	2021	V. max - min	0.67 - 0.40	0.49 - 0.41	0.62 - 0.39	0.54 - 0.38	0.85 - 0.52	0.72 - 0.56
		$X\pm S_x$	0.54±0.14	0.47±0.04	0.52±0.12	0.50±0.08	0.68±0.16	0.64±0.08
		V, %	26.44	7.81	22.84	16.09	23.61	11.63
	$X\pm S_x$	2020-2021	**0.43±0.16**	**0.42±0.06**	**0.52±0.09**	**0.45±0.11**	**0.67±0.12**	**0.60±0.10**
Cantitatea de clorofilă a, mg/g	2020	V. max - min	3.27 - 2.76	3.54 - 2.58	3.36 - 2.56	3.89 - 3.14	3.82 - 3.08	3.77 - 3.40
		$X\pm S_x$	3.01±0.23	2.92±0.422	3.02±0.34	3.42±0.33	3.53±0.32	3.60±0.19
		V, %	7.49	14.46	11.29	9.62	9.01	5.28
	2021	V. max - min	3.38 - 3.02	3.32 - 2.61	3.41 - 3.00	3.78 - 3.20	3.85 - 3.28	3.74 - 3.45
		$X\pm S_x$	3.17±0.15	2.92±0.31	3.15±0.19	3.55±0.27	3.58±0.24	3.55±0.13
		V, %	4.82	10.66	6.02	7.63	6.77	3.71
	$X\pm S_x$	2020-2021	**3.09±0.20**	**2.92±0.34**	**3.09±0.27**	**3.48±0.29**	**3.56±0.26**	**3.57±0.15**
Cantitatea de clorofila b, mg/g	2020	V. max - min	1.13 - 0.89	1.24 - 0.78	1.19 - 0.99	1.40 - 1.04	1.23 - 1.14	1.58 - 1.09
		$X\pm S_x$	1.02±0.13	0.98±0.21	1.09±0.08	1.24±0.17	1.19±0.05	1.29±0.22
		V, %	12.83	21.55	7.58	13.77	4.07	16.69
	2021	V. max - min	1.42 - 0.98	1.26 - 0.81	1.26 - 1.08	1.34 - 1.02	1.21 - 1.16	1.28 - 1.15
		$X\pm S_x$	1.22±0.21	1.02±0.22	1.13±0.09	1.21±0.15	1.19±0.02	1.22±0.07
		V, %	17.58	21.49	7.61	12.03	1.87	5.31
	$X\pm S_x$	2020-2021	**1.12±0.19**	**1.00±0.20**	**1.11±0.08**	**1.23±0.15**	**1.19±0.04**	**1.25±0.15**

Cantitatea de carotenoizi, mg/g	2020	V. max - min	0.79 - 0.74	0.78 - 0.56	0.77 - 0.59	0.94 - 0.79	0.92 - 0.67	0.91 - 0.85
		$X\pm S_x$	0.77±0.025	0.68±0.098	0.71±0.08	0.85±0.06	0.84±0.12	0.88±0.03
		V, %	3.20	14.34	11.13	7.58	14.28	3.51
	2021	V. max - min	0.88 - 0.81	0.88 - 0.68	0.90 - 0.76	0.94 - 0.76	0.94 - 0.75	1.91 - 0.74
		$X\pm S_x$	0.84±0.029	0.78±0.088	0.83±0.06	0.88±0.08	0.87±0.08	1.09±0.55
		V, %	3.51	11.27	6.96	9.36	9.62	50.15
	$X\pm S_x$	2020-2021	**0.81±0.05**	**0.73±0.10**	**0.77±0.09**	**0.87±0.07**	**0.86±0.10**	**0.99±0.38**
Ca/Cb	2020	V. max - min	3.26 - 2.73	3.32 - 2.61	2.88 - 2.59	3.03 - 2.50	3.20 - 2.67	3.11 - 2.39
		$X\pm S_x$	2.96±0.23	3.02±0.35	2.77±0.13	2.78±0.22	2.98±0.23	2.82±0.31
		V, %	7.61	11.57	4.50	7.74	7.79	11.09
	2021	V. max - min	3.08 - 2.20	3.40 - 2.37	2.94 - 2.70	3.17 - 2.58	3.18 - 2.78	3.03 - 2.79
		$X\pm S_x$	2.66±0.40	2.92±0.42	2.79±0.11	2.94±0.27	3.02±0.20	2.92±0.10
		V, %	15.02	14.51	4.06	9.25	6.48	3.31
	$X\pm S_x$	2020-2021	**2.81±0.34**	**2.97±0.36**	**2.78±0.11**	**2.86±0.24**	**3.00±0.20**	**2.87±0.22**
Ca+Cb	2020	V. max - min	4.40 - 3.68	4.77 - 3.36	4.54 - 3.55	5.29 - 4.18	5.06 - 4.23	5.35 - 4.49
		$X\pm S_x$	4.03±0.35	3.90±0.62	4.11±0.42	4.65±0.48	4.72±0.35	4.89±0.40
		V, %	8.56	15.79	10.27	10.35	7.35	8.12
	2021	V. max - min	4.75 -4.00	4.47 - 3.47	4.67 - 4.10	5.09 - 4.22	5.06 - 4.46	5.02 - 4.62
		$X\pm S_x$	4.38±0.33	3.94±0.50	4.29±0.27	4.76±0.38	4.77±0.25	4.76±0.19
		V, %	7.57	12.63	6.23	7.94	5.24	3.92
	$X\pm S_x$	2020-2021	**4.20±0.37**	**3.92±0.52**	**4.20±0.34**	**4.71±0.41**	**4.74±0.28**	**4.83±0.30**

Vmax – valoarea maxima; Vmin – valoarea minima; $X\pm S_x$ – valoarea mediei aritmetice şi deviere standardă; V, % – coeficientul de variaţie; Ca/Cb- raportul pigmenţilor clorofilieni; Ca+Cb- suma pigmenţilor clorofilieni.

Analiza însuşirilor de productivitate a relevat că limitele de variaţie ale recoltei medii au fost cuprinse între 0.84 şi 4.62 t/ha, iar ale conţinutului de ulei – 41.80 şi 46.30 % (Tab. 6). Cele mai mici valori după recolta medie au prezentat hibridul german 11 (cu 2.23 t/ha) și local 7 (2.65 t/ha), iar cele mai mici valori de ulei au fost puse în evidență la hibridul francez 30 (44.15%). Deci, hibrizii francezi 64, 60, 34 și 30 s-au remarcat ca hibrizi perspectivi cu recolta medie de 3.08, 3.54, 3.68 și 3.92 t/ha, respectiv. Prin valorile înalte a conținutului de ulei au fost evidențiate hibrizii 11, 64, 7, 60 și 34 (45.05, 44.78, 44.68, 44.65 și 44.60%, respectiv).

De menționat că hibrizii francezi, privind caracterul de recolta medie, sunt mai stabili în condițiile Republicii Moldova, având coeficientul de variaţie de la 8.52 până la 24.99%, în comparație cu hibridul german și local (V=47.12 și V=40.14%, respectiv). După conținutul de ulei toți hibrizii reflectă o variabilitate similară și destul de mică cuprinzând valori de la 1.93 până la 2.55%.

Totodată, evaluarea productivității hibrizilor testați în comparație cu martorul a pus în evidență 3 hibrizi francezi (34, 60, 30) ce prezintă valori maximale ale recoltei medii, depășind martorul cu 3-9.70%. Hibrizii obţinuţi din sursele locale (7) și europene (34, 11) depăşesc martorul după conținutul de ulei cu cca 0.20-1.00% (Tab. 6).

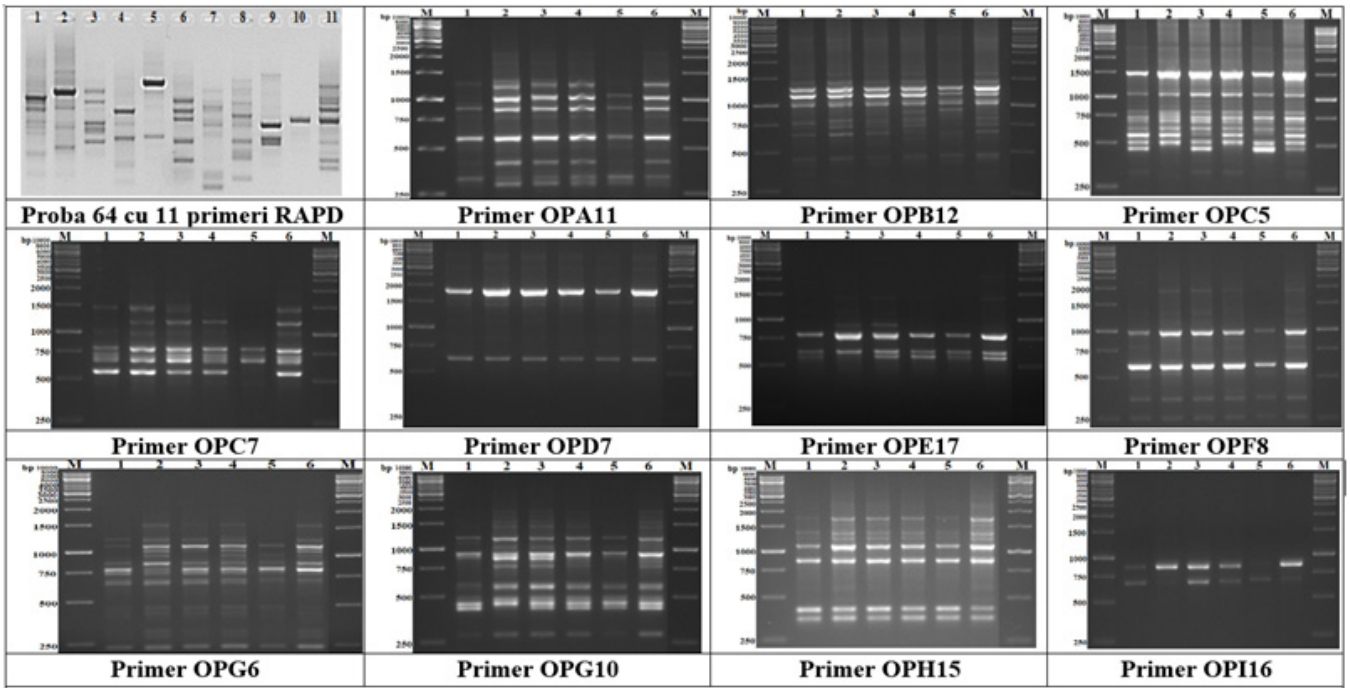
Tabelul 6. Variabilitatea productivității la hibrizii de floarea-soarelui comparativ cu martorul.

Anul	Indicii statis-tici	Hibrid, martor								
		Martor 1	**7**	**11**	**Martor 2**	**30**	**34**	**Martor 3**	**60**	**64**
Recolta medie, t/ha										
2020	V.max	3.87	3.35	3.17	3.70	4.13	4.19	4.02	4.32	3.59
	V.min	2.3	1.14	0.84	2.57	3.13	2.37	2.42	2.52	2.16
	$X \pm S_x$	3.20±0.66	2.34±1.14	2.02±0.99	3.34±0.52	3.50±0.44	3.53±0.81	3.26±0.66	3.58±0.76	3.07±0.64
	V, %	20.59	48.55	49.01	15.55	12.51	22.85	20.36	21.33	20.86
2021	V.max	4.42	3.87	3.81	4.10	4.62	4.02	3.86	4.13	4.15
	V.min	3.12	1.74	1.45	3.62	4.22	3.61	2.97	3.19	1.95
	$X \pm S_x$	3.63±0.58	2.96±0.94	2.45±1.11	3.81±0.22	4.33±0.20	3.83±0.17	3.38±0.39	3.50±0.43	3.09±0.90
	V, %	16.06	31.73	45.22	5.71	4.52	4.40	11.64	12.17	29.12
$X \pm S_x$, 2020-2021		**3.42±0.62**	**2.65±1.02**	**2.23±1.00**	**3.58±0.45**	**3.92±0.54**	**3.68±0.56**	**3.32±0.51**	**3.54±0.57**	**3.08±0.72**
% faţă de martor		**100**	**75.75**	**63.40**	**100**	**109.70**	**103.00**	**100**	**106.65**	**92.50**
Conținutul de ulei, %										
2020	V.max	45.9	46.00	46.30	45.80	45.50	45.70	46.30	46.00	46.10
	V.min	45.8	45.30	45.70	45.60	45.10	45.20	46.10	45.70	45.70
	$X \pm S_x$	45.85±0.07	45.65±0.49	46.00±0.42	45.70±0.14	45.30±0.28	45.45±0.35	46.20±0.14	45.85±0.21	45.90±0.28
	V, %	0.15	1.08	0.92	0.31	0.62	0.78	0.31	0.46	0.62
2021	V.max	44.7	44.90	45.40	44.60	44.20	44.70	45.30	44.70	45.00
	V.min	42.2	42.50	42.80	42.20	41.80	42.80	42.50	42.20	42.30
	$X \pm S_x$	43.45±1.77	43.70±1.70	44.10±1.84	43.40±1.70	43.00±1.70	43.75±1.34	43.90±1.98	43.45±1.77	43.65±1.91
	V, %	4.07	3.88	4.17	3.91	3.95	3.07	4.51	4.07	4.37
$X \pm S_x$, 2020-2021		**44.65±1.72**	**44.68±1.52**	**45.05±1.55**	**44.55±1.65**	**44.15±1.66**	**44.60±1.27**	**45.05±1.75**	**44.65±1.73**	**44.78±1.71**
% faţă de martor		**100**	**100.2**	**101**	**100**	**99.1**	**100.2**	**100**	**99.1**	**99.4**

V.max – valoarea maximă; V.min – valoarea minimă; $X \pm S_x$ – valoarea mediei aritmetice și devierea standardă; V, % –coeficientul de variaţie.

Determinarea polimorfismului genetic prin metoda RAPD cu 11 primeri, pentru a spori reproductibilitatea separării produşilor de amplificare, s-a efectuat în cel puţin 2 repetiţii ale reacţiilor PCR şi s-au comparat rezultatele obţinute pentru fiecare hibrid în parte, fiind marcate şi luate în studiu doar benzile clare de ADN amplificate (Fig. 1).

Fig. 1. Electroforegrama produşilor de amplificare a hibrizilor de floarea-soarelui cu 11 primeri în gel de agaroza 2%. M – marker GeneRuler 1kb DNA Ladder SM0311(Thermo Fisher Scientific, USA), 1 – hybrid 7, 2 –hybrid 11, 3 – hybrid 30, 4 –hybrid 34, 5 – hybrid 60, 6 – hybrid 64.



Genotiparea moleculară cu ajutorul primerilor arbitrari a permis identificarea unor fragmente de ADN comune, polimorfe şi specifice, în total generând 100 loci amplificate de mărimi diferite (Fig. 1, Tab. 7). Fragmentele rezultate prin amplificare au avut lungimea cuprinsă între 237 şi 2540 pb. În urma testării s-au depistat de la 2 (primer OPI16) până la 15 (primer OPC05) loci amplificate, variind în funcţie de hibrid şi primer.

Prezenţa a 43 fragmente comune de ADN pentru 10 primeri, excepţie constituind doar primerul OPI16, identifică regiunile conservătoare a genomului, care demonstrează similaritatea de origine a hibrizilor cercetaţi (Fig. 1, Tab. 7). E necesar de remarcat faptul că prezenţa 53.70% de cazuri a fragmentelor de ADN polimorfe (valoarea medie p/u 11 primeri) în profilul hibrizilor studiate a demonstrat un polimorfism relativ înalt, care se datorează prezenţei în genomul speciei *H. annuus* spectrelor înalt repetetive (Fig. 1, Tab. 7). Gradul maximal de 100% polimorfism a fost determinat în cazul utilizării primerului OPI16.

Analiza profilelor RAPD la un şir de hibrizi de floarea-soarelui a pus în evidenţă fragmentele specifice detectate cu primerii OPB12 (1588pb, pentru hibridul francez 64), OPC07 (1470pb, pentru hibridul francez 30), OPC05 (756pb, pentru hibridul german 11), OPA11 (1121pb, p/u 11) şi OPG6 (434pb, pentru 11).

Tabelul 7. Caracteristicile markerilor RAPD analizate la diferiţi hibrizi de *Helianthus annuus* L.

Primer	Intervalul de lungime ampliconi (pb)	Numărul ampliconilor				NP,%	PIC	hj	Rp	MI	EMR
		total	comune	poli-morfe	specifice						
OPB12	459-1600	12	4	7	1	58.33	0.25	0.47	16.33	1.04	4.08

OPC05	307-2540	15	9	5	1	33.33	0.13	0.73	26	0.22	1.67
OPC07	533-1470	8	2	5	1	62.50	0.29	0.44	11.33	0.91	3.13
OPF08	247-1859	7	4	3	0	42.86	0.20	0.54	11	0.26	1.29
OPD07	603-1756	3	2	1	0	33.33	0.17	0.42	5	0.06	0.33
OPA11	305-2147	12	3	8	1	66.67	0.30	0.45	16.33	1.60	5.33
OPG6	237-1512	14	5	8	1	57.14	0.27	0.52	20.33	1.22	4.57
OPG10	292-1875	14	5	9	0	64.29	0.27	0.55	21	1.54	5.79
OPE17	531-902	4	2	2	0	50.0	0.18	0.45	6.33	0.18	1
OPI16	695-903	2	0	2	0	100	0.28	0.19	3.33	0.56	2
OPH15	365-2315	9	7	2	0	22.22	0.10	0.71	15.67	0.05	0.44
Total		**100**	**43**	**52**	**5**	-	-	-	-	-	-
Media± SD	**237-2540**	**9.09**	**3.91**	**4.73**	**0.45**	**53.70**	**0.22±0.02**	**0.50±0.04**	**13.88±2.17**	**0.69±0.18**	**2.69±0.60**

*NP- nivel de polimorfism; PIC – conținutul informației polimorfe; ±SD – devierea standard*ă; Rp – *puterea de rezolvare a primerului; h_j– coeficientul Simpson.*

Analiza diversității genetice pentru cei 6 hibrizi de floarea-soarelui a constatat valori înalte de alele observate (Na=1.57), alele effective (Ne=1.39), indicele de diversitate genică Nei (H=0.23), indicele informațional Shannon (I=0.33), diversitatea genică totală (Ht=0.23), procentul de loci polimorfi (PPL=57%), relevând o variabilitate înaltă a secvențelor RAPD la hibrizii studiați (Tab. 8).

Tabelul 8. Valorile parametrilor diversităţii genetice obținuți în baza markerilor RAPD la hibrizii de floarea-soarelui.

Hibrid	Na	Ne	H	I	Ht	PPL, %
Gr1 (7+11)	1.40±0.49	1.40±0.49	0.20±0.25	0.28±0.34	0.20 ±0.06	40.00
Gr2 (30+34)	1.22±0.42	1.22±0.42	0.11±0.21	0.15±0.29	0.11±0.04	22.00
Gr3 (60+64)	1.36±0.48	1.36±0.48	0.18±0.24	0.25±0.33	0.18±0.06	36.00
6 hibrizi în total	1.57±0.50	1.39±0.38	0.23±0.21	0.33±0.30	0.23±0.04	57.00

*Na – numărul de alele observate; Ne – numărul efectiv de alele; H – indicele de diversitate genică Nei I – indicele informațional Shannon; Ht – diversitatea genică totală; PPL – procentul de loci polimorfi; ± devierea standard***ă.**

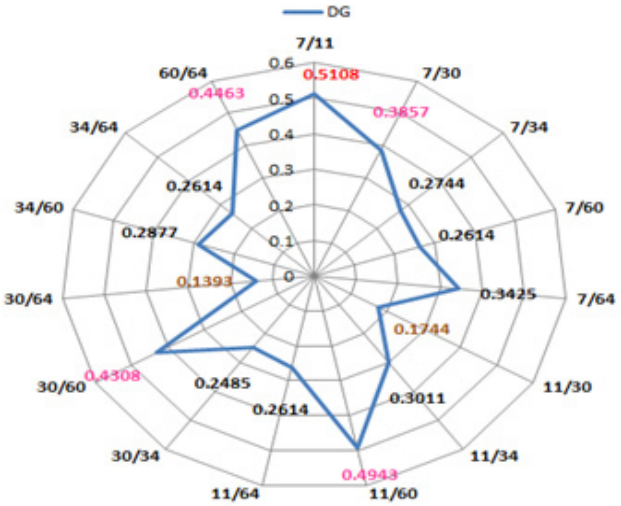
În cazul analizei comparative a hibrizilor de interes comasate în 3 grupe după maturitate a pus în evidență că cel mai mic număr de alele observate (Na=1.22), allele effective (Ne=1.22), indicele de diversitate genică Nei (H=0.11), indicele informațional Shannon (I=0.15), diversitatea genică totală (Ht=0.11), procentul de loci polimorfi (PPL=22.00%) s-a identificat la grupa 2 formată din hibrizii francezi 30 și 34, care sunt semitimpurii și rezistenți la lupoaie.

În cazul grupei 1 compusă din hibridul 7 local și 11 german (timpurii, sensibili la lupoaie) s-au depistat valori de alele observate (Na=1.40), allele effective (Ne=1.40), indicele de diversitate genică Nei (H=0.20), indicele informațional Shannon (I=0.28), diversitatea genică totală (Ht=0.20), procentul de loci polimorfi (PPL=40%) mai mărite în comparație cu grupa 2 și 3. În plus, trebue remarcat faptul că grupa 3, constituită din hibrizii francezi 60 și 64 (semitardivi, rezistenți la lupoaie), s-a caracterizat prin valori medii de diversitate genică.

Adițional, s-a determinat distanţa genetică și s-a relevat că cele mai mici valori a distanţei genetice sunt 0.1393 și 0.1744, care se observă între hibrizii francezi 30/64 și hibridul german cu francez 11/30, respectiv (Fig. 2). Această apropiere este confirmată și prin dendograma pentru markerii RAPD din figura 3, în cadrul căruia se evidențiază clusterul 2 format din hibrizii sus numiți. Cea mai mare distanţă genetică se află

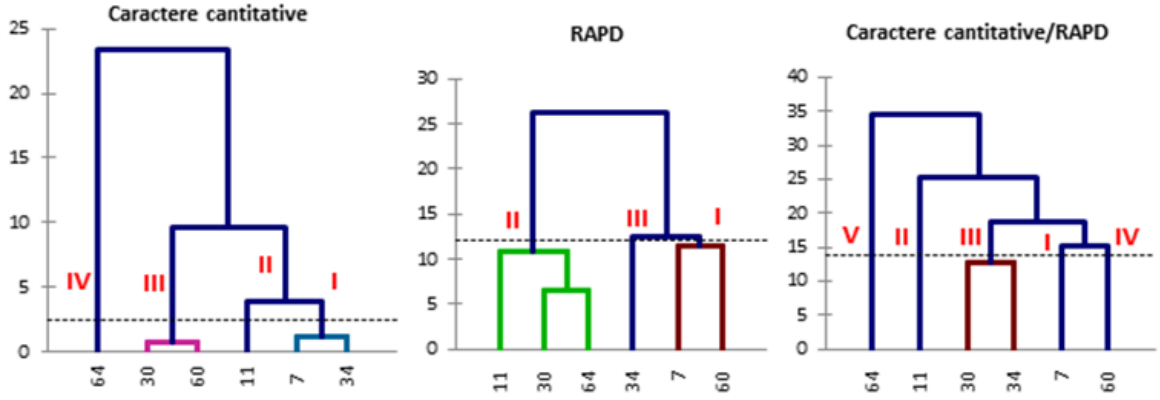
între hibrizii 7 local şi 11 german (0.5108). Diferenţe semnificative au fost constatate şi între hibrizii 11/60 (0.4943), 60/64 (0.4463), 60/30 (0.4308) şi 7/30 (0.3857), iar cele medii au fost observate între hibrizii 7/64 (0.3425), 11/34 (0.3011), 34/60 (0.2877), 7/34 (0.2744), 7/60 (0.2614), 34/64 (0.2614), 11/64 (0.2614), 30/34 (0.2485) (Fig. 2).

Fig. 2. Perechi comparative între hibrizi de floarea-soarelui pe baza valorilor matricei de distanţă genetică (metoda Nei's unbiased measures) obţinuţi cu primerii RAPD.



Ulterior, pentru a evalua mai complet diversitatea genetică şi depistarea asocierilor caracterelor de interes cu markerii moleculari pentru materialul hibrid luat în studiu s-au construit dendrograme în baza markerilor morfologici, moleculari şi totodată a markerilor morfologici/moleculari în complex (Fig. 3). Rezultatele obţinute relevă un grad înalt de asociere a hibrizilor după caracterele cantitative, ceea ce nu se reflectă în cazul dendrogramelor realizate în baza fragmentelor RAPD şi, totodată, caracterelor cantitative/RAPD. ***Î***n cadrul prezentului studiu de clusterizare un anumit grad de înrudire a hibrizilor în funcţie de proveniența geografică nu a fost semnalat.

Fig. 3. Dendrogramele generate prin intermediul markerilor morfologici şi moleculari pe baza matricei de distanţa genetică Euclidian dintre hibrizii de H. annuus folosind metoda Ward: 7, 11, 30, 34, 60, 64 – hibrizi; I, II, III, IV, V – grupe de clusterizare.



Concluzii

Totalizând rezultatele analizei caracterelor cantitative la 6 hibrizi de floarea soarelui cu origine diferită în perioada de 2 ani, putem menţiona, că în condiţiile agroclimaterice ale Republicii Moldova doi hibrizi cu origine franceză (60 şi 34) după majoritatea caracterilor şi alţi 3 hibrizi (64, 30 francezi şi 11 german) după unele caractere s-au dovedit a fi cei mai promiţători în contextul asigurării managementului durabil al ecosistemelor agricole.

Variaţia polimorfismului genetic în limitele de la 22.22 până la 100% pentru diferiţi primeri şi hibrizi dă dovadă că hibrizii cercetaţi sunt destul de eterogeni. Fragmentele specifice detectate cu primerii RAPD la

hibrizii speciei *H. annuus* prezintă un interes deosebit în calitate de markeri specifici a hibridului/speciei, ce indică prezenţa de variabilitate mai largă la populaţiile hibride și pot fi folosite ca un instrument molecular în genotipare sau paşaportizarea hibrizilor.

În urma analizei statistice legate de eficiența și informativitatea markerilor RAPD, utilizați în evaluarea diversității genetice a hibrizilor de interes prin prizma coeficienților de diferențiere (PIC, hj , Rp, MI și EMR), s-au evidențiat 4 primeri cei mai efectivi: OPG10, OPG6, OPA11, OPB12.

Generalizând datele obținute prin analiza parametrilor diversităţii genetice, putem constata că hibrizii 7 local și 11 german sunt cei mai heterogeni și nestabili față de factori biotici din tot setul de studiu.

Prin urmare, în toate cazurile analizate pentru distanța genetică s-a relevat că hibrizii studiați reprezintă un material genetic relativ heterogen. Rezultatele obținute relevă un anumit grad de înrudire și îndepărtare genetică a hibrizilor fără legătură cu provinienţa geografică.

Clusterizarea, efectuată în baza caracterilor cantitative și profilelor moleculare RAPD, a format în toate 3 cazuri grupe diferite după număr și de lincaj, ce confirmă rezultatele similare obținute prin alte cercetări legate de aplicarea slab efectivă a markerilor RAPD în ameliorarea asistată de markeri moleculari.

Referinţe:

1. КАНУКОВА, К. Р., ГАЗАЕВ, И. Х., САБАНЧИЕВА, Л. К., БОГОТОВА, З. И., АППАЕВ, С. П. ДНК-маркеры в растениеводстве. В: *Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН*, 2019, вып. 92, № 6, с. 220-232. ISSN: 1991-6639.
2. SAMBROOK, J., RUSSELL, D. *Molecular cloning*. *A laboratory manual.* Vol. I-III. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001, 1885 p.
3. ДОСПЕХОВ, Б. А. *Методика полевого опыта.* Москва: Агропромиздат, 1985, 351 с.
4. СИВОЛАП, Ю. М., СОЛОДЕНКО, А. Е., БУРЛОВ, В. В. RAPD-анализ молекулярно-генетического полиморфизма подсолнечника (*Helianthus annuus*). В: *Генетика.* 1998, том 34, № 2, с. 266-271. ISSN: 0016-6758.
5. ROLDÁN-RUIZ, I., DENDAUW, J., VAN BOCKSTAELE, E., DEPICKER, A., DE LOOSE, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (Lolium spp.). In: *Molecular Breeding*, 2000, vol.6, no.2, p.125-134. ISSN:1380-3743.
6. PREVOST, A., WILKINSON, M.J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, vol. 98, no.1, p. 107-112. ISSN: 0040-5752.
7. LÜDTKE, R., AGOSTINI, G., MIOTTO, S.T.S., SOUZA-CHIES, T.T. Characterizing *Polygala L.* (Polygalaceae) *s*pecies in Southern Brazil using ISSR. In: *Plant Molecular Biology Reporter*, 2010, vol. 28, no. 2, p. 317-323. ISSN: 0735-9640.
8. POWELL, W., MORGANTE, M., ANDRE, C., HANAFEY, M., VOGEL, J., TINGEY, S., RAFALSKI, A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. In: *Molecular Breeding*, 1996, vol. 2, no. 3, p. 225-238. ISSN: 1380-3743.
9. ĆIRIĆ, M., JOCIĆ, S., CVEJIĆ, S., JOCKOVIĆ, M., ČANAK, P., MARINKOVIĆ, R., IVANOVIĆ, M. Combining abilities of new inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: *Genetika*, 2013, vol. 45, no. 2, p. 289-296. ISSN: 0534-0012.
10. HLADNI, N., JOCIC, S., MIKLIC, V., MIJIC, A., SAFTIĆ-PANKOVIĆ, D., ŠKORIĆ, D. Effect of morphological and physiological traits on seed yield and oil content in sunflower. In: *Helia*, 2010, vol. 33, no. 53, p.101-116. ISSN: 1018-1806.
11. KHAN, H., ALI, S., AHMAD, I., KHAN, I., HUSSAIN, S., KHAN, B.A., SUHAIB, M. Agronomic and qualitative evaluation of different local sunflower hybrids. In: *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 2018, vol. 31, no. 1, p. 69-78. ISSN: 0251-0480.

Date despre autori:
Ina BIVOL, doctor în științe biologice, cercetător științific superior, Centrul de Cercetări Științifice Genetică Funcțională, CCȘ „Biologie și Pedologie”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: bivolinga@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-6052-1540

***Ion BURCOVSCHI**,* doctorand, Școala doctorală Științe Biologice, Geonomice, Chimice și Tehnologice, cercetător științific stagiar, Centrul de Cercetări Științifice Genetică Funcțională, CCȘ „Biologie și Pedologie”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: burcowski@gmail.com
ORCID: 0000-0003-4417-3846

***Maria DUCA**,* academician, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, cercetător științific principal, șeful Centrului de Cercetări Științifice Genetică Funcțională, CCȘ „Biologie și Pedologie”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: mduca2000@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-5855-5194

Mihail MACHIDON, doctor în științe agricole, directorul Comisiei de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante.
E-mail: mihail.machidon@cstsp.md

***Notă:** Rezultatele expuse în lucrare au fost obținute în cadrul proiectului din Programul de Stat 20.80009.5107.01 - Studii genetico-moleculare şi biotehnologice ale florii-soarelui în contextul asigurării managementului durabil al ecosistemelor agricole.*

Prezentat la 31.03.2023

CZU:581.15:633.521

VARIABILITATEA CARACTERELOR CANTITATIVE ALE PLANTELOR DE IN OBȚINUTE PRIN MUTAGENEZA INDUSĂ

Doina CUȚITARU

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecţie a Plantelor al Universității de Stat din Moldova

Mutageneza indusă s-a dovedit a fi o metodă flexibilă, funcțională și gata de utilizat pentru orice cultură, în plus, este o tehnologie care necesită costuri reduse. Permite a obține și a cultiva soiuri noi mutante cu un potențial productiv foarte ridicat. Pentru a investiga efectul mutagen al iradierii gamma (γ) semințele de in ale celor trei soiuri selectate (*Kaufmann*, *Dichl 8* și *Belinka*) au fost tratate cu dozele de 400, 500, 600 și 700 Gy, folosind ca sursă de iradiere izotopul *Cobalt 60*. Pe parcurs s-au monitorizat fazele fenologice de dezvoltare și s-au evaluat parametrii morfologici. Din analiza a mai multor parametri s-a observat că doza de iradiere 400 Gy a fost cea mai eficientă și a manifestat cea mai amplă variabilitate fenotipică, iar cea de 700 Gy s-a dovedit a fi mai puțin eficientă.

Cuvinte-cheie: *Linum usitatissimum L., in de cultură, mutageneză, raze gamma, fibre tehnice, productivitate.*

THE VARIABILITY OF THE QUANTITATIVE TRAITS OF FLAX PLANTS OBTAINED BY INDUCED MUTAGENESIS

Induced mutagenesis has proven to be a flexible method, functional and ready to use for any culture, moreover, it is a low-cost technology. With the ability to grow new mutant varieties with very high productive potential. To investigate the mutagenic effect of gamma (γ) irradiation, flax seeds of the three selected varieties (*Kaufmann*, *Dichl 8*, *Belinka*) were treated with four doses 400, 500, 600 and 700 Gy, using the ^{60}Co-γ isotope as an irradiation source. Along the way, the phenological phases of development and evaluation of morphological parameters were miniaturized. From the analysis of multiple parameters, it was observed that the 400 Gy irradiation dose was the most effective and showed the widest phenotypic variability, and the 700 Gy less effective.

Keywords: *Linum usitatissimum L., flax, mutagenesis, gamma rays, technical fibre, productivity.*

Introducere

Familia *Linaceae* DC. ex Perleb cuprinde 22 de genuri, dintre care genul *Linum* L. este cel mai răspândit și mai cunoscut. Din cele peste 200 de specii din cadrul genului, cea mai întrebuințată în cultură este specia *Linum usitatissimum* L. (2n=30), fiind urmată de formele decorative *Linum grandiflorum* Desf. (2n=16) și *Linum perenne* L. (2n=18) [1, p. 9, 2, 27].

Inul de cultură (*L. usitatissimum* L.) este o specie anuală, autogamă, se face remarcată prin dubla sa întrebuințare atât ca plantă tehnică, cât și oleaginoasă, rareori fiind folosită în scopuri decorative. Produsele și subprodusele derivate din ea, în rezultatul procesării materiei prime vegetale, prezintă interes deosebit pentru sectorul agro-alimentar, în medicină, farmaceutică, industria ușoară etc. Datorită acestui fapt, s-a demonstrat în timp statornicia, valoarea sa economică, ecologică și socială majoră la nivel mondial [3, p. 3, 4, p.44].

În prezent în țară este omologat și inclus în *Catalogul soiurilor de plante al Republicii Moldova* (2023) doar un singur soi de in (s. *In albastru*, Institutul de Fitotehnie „Porumbeni”) [5, p. 41]. Dar pe lângă aceasta, Laboratorul Resurse Genetice Vegetale (*Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor USM*) deține o colecţie *ex situ* de germoplasmă vegetală de in de diferită origine eco-geografică. Analizând țările învecinate Republicii Moldova (România, Ucraina și Rusia), putem observa că cultura inului ocupă un loc important în cercetare, agricultură, economie atât la nivel de țară, cât și internațional. În aceste țări sunt conservate în colecții active și de bază mii de forme de in (între 1 000 și 6 243 probe, conservate în Bănci de Resurse Genetice Vegetale) [6, p. 196, 7, p. 78, 8, p. 58].

Prin cercetări ameliorative în diferite centre de cercetare au fost obţinute rezultate remarcabile în crearea de soiuri și forme noi înalt productive, cu adaptabilitate sporită la condițiile de mediu locale, iar una din metodele utilizate în obţinerea noilor descendenți de plante este *mutageneza artificială*. Factorii mutageni

folosiți la inducerea mutaţiilor artificiale se grupează în *agenți fizici* și *chimici*. Cercetările noastre sunt axate pe factorii mutageni fizici, cu aplicarea radiațiilor ionizante (*razele gamma*) [9, p.113, 10, p. 234; 11, p. 184].

Posibilitatea inducerii mutaţiilor artificiale a fost demonstrată oficial pentru prima dată în anul 1925 în cercetările științifice ale lui Nadson G. A. și Filippov G. S. (în fosta URSS), în urma expunerii drojdiilor la acțiunea razelor radio. Însă, în anii 1927-1929, Stadler L. J. obţine mutații artificiale prin iradiere cu raze X și raze gamma la orz, porumb și tutun [9, p. 112].

Cu ajutorul mutagenezei induse au fost create și introduse în cultură peste 2 250 soiuri mutante de diferite culturi: cerealiere, oleaginoase, leguminoase, legumicole, fructifere și decorative**,** inclusiv și 13 soiuri de in. Studiile privind utilizarea diferiților factori mutageni la in (*Linum* L.) au fost efectuate pentru prima dată la *Stațiunea experimentală Svalef* (Suedia) în anul 1887 [12, p. 427, 13, p.73].

Din cele expuse anterior, ne-am propus ca scop studierea efectului radiației gamma asupra materialului semincer de in și acțiunea ei asupra plantelor din prima generație, cât și din cele ulterioare, evaluarea descendenților, efectuarea selectărilor individuale în scopul obținerii unui material nou de ameliorare.

Material și metode

Cercetările experimentale de câmp și de laborator s-au realizat în cadrul Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, Laboratorul *Resurse Genetice Vegetale*.

În investigațiile noastre am selectat trei soiuri distinctive de in (in de cultură) din colecția *ex situ* a LRGV: *Belinka* – in pentru fibre, *Kaufmann* și *Dichl 8* – in pentru ulei. Materialul semincer a fost supus iradierii gamma la instalația radio-chimică RHM-γ-20, folosind ca sursă de iradiere izotopul ^{60}Co, cu aplicarea a patru doze: 400, 500, 600 și 700 Gy. Individual pentru fiecare formă iradiată (3) a existat proba martor (semințe de in netratate) [14, p. 10, 15, p. 834].

Materialul biologic inclus în lucrarea actuală este format din 15 forme de in obținute prin mutageneză indusă – 7 descendenți din generația M_5 (*Dichl 8* (3), *Kaufmann* (4)) și 8 din M_4 (*Dichl 8* (4), *Belinka* (4)).

Evaluarea întregului set de parametri fenologici, morfologici și agrotehnici s-a executat în corespundere cu Descriptorul Internațional pentru cultura inului (*Descriptors List for Flax (Linum usitatissimum L.), Nitra, 2016*) [16], normele tehnice şi îndrumările metodice aprobate în ameliorare [17, p. 136; 18, p. 28; 19, p. 85].

Experiențele de câmp au fost montate în teren deschis, pe soluri bine drenate și afânate. Schema de semănat s-a executat în conformitate cu tehnologia și normele ameliorative de cultivare a culturii inului. S-a ținut cont de respectarea asolamentului de rigoare și a densității optimal-admisibile a plantelor pe parcelă (800-1 600 plante la m^2, in pentru ulei și 2 500-3 000, in pentru fibre). Din grupul plantelor de cultură inul se remarcă prin cea mai mare densitate de semințe germinabile pe m^2.

Încorporarea semințelor în sol s-a efectuat manual, în ultima decadă a lunii martie, prima decadă a lunii aprilie, când temperatura solului atinge 3-5^o (in pentru fibre) și 5-6^o (in pentru ulei), timp de 4-5 zile consecutiv, cu tendințe de creștere. Din experiențele noastre am constatat că adâncimea optimă de semănare pentru zona de centru a Republicii Moldova constituie 7-10 cm, din considerentele texturii și umidității solului în momentul semănării, cu distanța între rânduri de 15-20 cm [3, p.12, 4, p.99].

Datele experimentale obținute au fost prelucrate statistic utilizând pachetul software *Statistica 64* și *Microsoft Excel.*

Rezultate și discuții

În primul an de cercetări (M_0) a fost evaluată componența numerică a plantulelor din momentul răsăririi lor până la finisarea perioadei de vegetație comparativ cu martorul. Monitorizarea plantelor iradiate s-a efectuat la un interval de 2-3 zile, s-a respectat acest interval până când plantele au ajuns la *faza de înflorire* și *formare a fructelor*, gradul de pieire a plantelor treptat a diminuat semnificativ. Acest fapt a fost influențat și de interacțiunea factorilor mutageni fizici cu factorii de mediu externi mai puțin favorabili pentru plantele de in din M_0, astfel au sensibilizat și mai mult rezistența plantulelor. Procesul de eliminare a plantulelor iradiate s-a produs masiv în faza cotiledonală și cea de a treia pereche de frunze adevărate, cu tendință descrescătoare începând cu faza de brădișor, faza de creștere rapidă și s-a finisat odată cu începutul fazei de înflorire și formare a fructelor, maturitate.

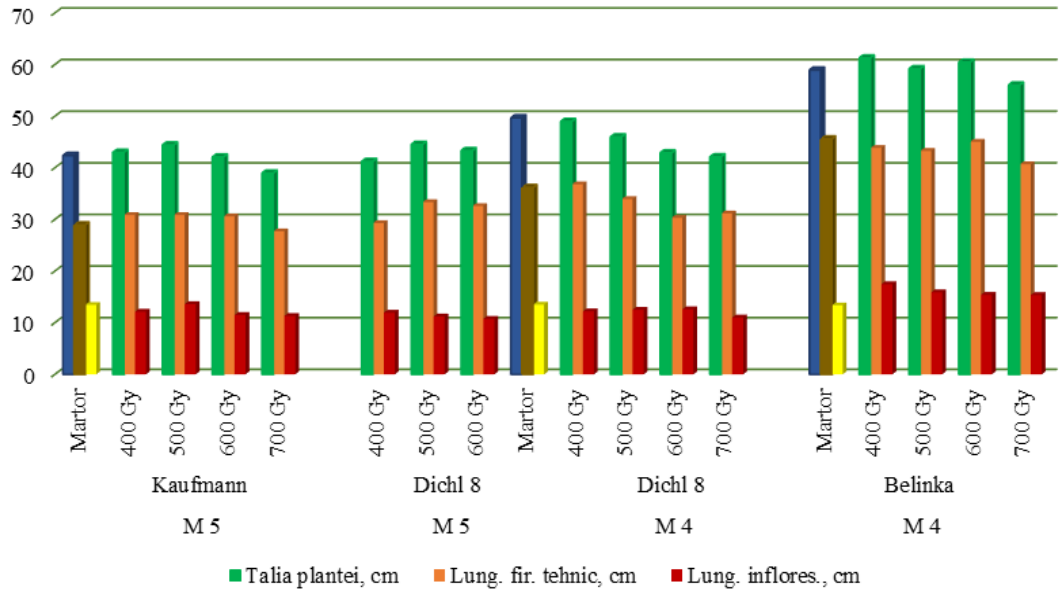
Concomitent s-au efectuat evaluări fenologice și morfologice. Pentru elucidarea parametrilor liniari și cantitativi au fost selectate direct din câmpul experimental câte 20 plante, pentru fiecare probă, iar pentru

obținerea unei precizii mai înalte a indicelui *numărul de semințe viabile per capsulă* s-a luat în studiu 50 capsule (fructe).

Formele din generația M_5, care au fost obținute prin iradiere cu razele gamma, au depășit soiul martor *Kaufmann* după următorii parametri: *talia plantei*, *lungimea firului tehnic*, *numărul de ramificații, flori și capsule per plantă*, *masa seminceră per plantă*, *lungimea inflorescenței* (doar pentru 500 Gy) – doza 400-500 Gy (I-II); lungimea firului tehnic, numărul de flori – 600 Gy (III); numărul de flori, masa seminceră per plantă, masa a 1000 semințe – 700 Gy (IV). Masa a 1000 de semințe la formele irradiate în doză de 400-500 Gy era la nivelul martorului.

La mostrele din M_5 pentru o serie de caractere s-au înregistrat valori mai înalte sau egale cu martorul *Dichl 8* (masa a 1000 de semințe). S-au poziționat pe același nivel cu martorul indicii – numărul de ramificații, flori, capsule și masa seminceră per plantă (I); numărul de ramificații (II); numărul de ramificații, masa a 1000 semințe (III). În generația M_4 de la iradierea soiului *Dichl 8*: lungimea firului tehnic, numărul de ramificații și capsule (I); numărul de ramificații, flori și capsule, masa a 1000 semințe (II); numărul de ramificații și capsule, masa a 1000 semințe (III); numărul de ramificații, flori și capsule (IV). Pentru descendenții din M_4 ai soiului *Belinka* s-au evidențiat următoarele caractere: *talia plantei*, *lungimea inflorescenței*, *numărul de flori și capsule*, *masa seminceră per plantă*, *masa a 1000 semințe* (I); *talia plantei*, *lungimea inflorescenței*, *numărul de capsule*, *masa a 1000 semințe* a atins aceleași valori precum martorul (II); *talia plantei, lungimea inflorescenței*, *numărul de ramificații și capsule* (III); *lungimea inflorescenței*, *numărul de flori* și *capsule*, *masa a 1000 semințe* (IV).

Figura 1. Elucidarea parametrilor liniari ai plantelor comparativ cu martorul corespunzător (cm).



În Figura 1 sunt prezentate rezultatele obținute în urma măsurărilor parametrilor liniari comparativ cu soiul martor. După parametrii *talia plantei*, *dimensiunea inflorescenței* și *lungimea firului tehnic* martorul *Dichl 8* a înregistrat valori de 49,7±0,84, 13,5±0,77 și 36,2±0,95 cm. Aceste rezultate ale caracterelor elucidate nu au putut fi depășite de descendenții din generațiile M_4 și M_5 care au cuprins valori maximale de 49,0±0,83 cm și minimale de 41,3±0,75 cm (max. M_4 – min. M_5, 400 Gy), respectiv 12,6-10,8 cm (M_4 – M_5, 600 Gy). Putem remarca că *lungimea firului tehnic* al plantelor obținute în urma iradierii gamma doar pentru doza de 400 Gy din M_4 era de 36,8±0,80 cm, adică la nivelul martorului. Celelalte forme nu au depășit martorul după acest criteriu, fapt ce se ilustrează bine în Figura 1. De menționat că soiul *Dichl 8* este pentru ulei și pentru el parametrul menționat nu este unul din cei mai principali din punct de vedere tehnic, însă din punct de vedere al utilității de cultură oleaginoasă rezultă că cu cât mai mici sunt dimensiunile firului tehnic, cu atât mai mare este probabilitatea de a forma un număr mai mare de ramificații, respectiv - mai multe fructe per plantă și, în final, de a avea o productivitate mai ridicată. Soiul *Dichl 8* precum și soiul *Kaufmann*

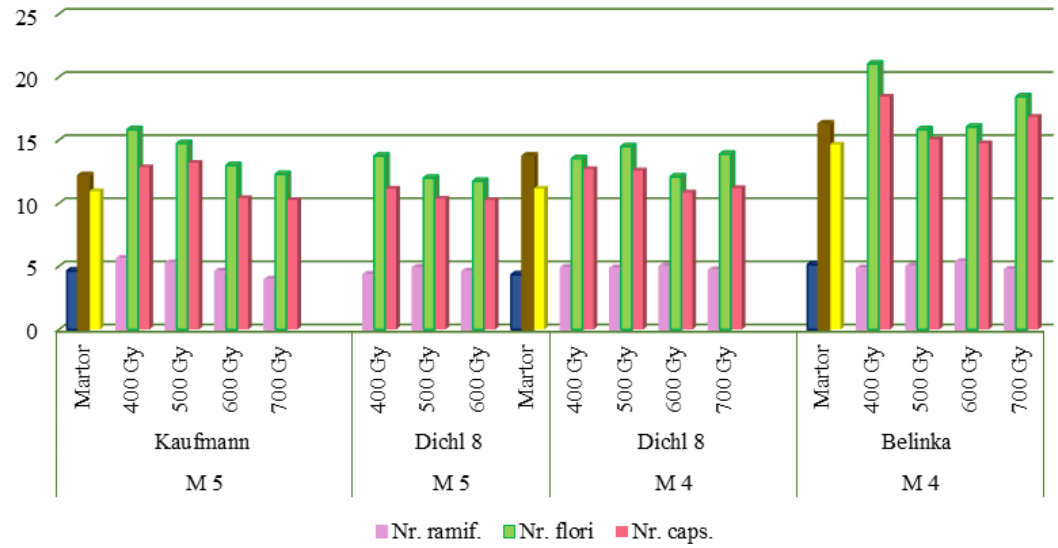
sunt soiuri de plante oleaginoase, cu înălţime mică, corolă de culoare albastră, fructul în formă de capsulă, cu cinci loje (caracteristic şi pentru s. *Belinka*), indehiscente, cu seminţe de culoare maro.

Martorul soiul *Kaufmann* a atins în înălţime 42,4±0,74 cm. El a fost depăşit de doua forme din M_5 (400-500 Gy) cu 43,0±0,74 – 44,5±0,70 cm, după lungimea firului tehnic (29,0±0,84 cm) - de trei: 30,9±0,94 cm (400-500Gy) şi 30,6±0,73 cm (600 Gy). La o formă iradiată (500 Gy) dimensiunile ramificaţiilor (13,6 cm) erau la nivelul martorului (13,45 cm).

Soiul *Belinka* se face remarcat prin faptul că este soi de plantă tehnică, de dimensiune medie, cu corola de culoare albă, capsulă semi-dehiscentă, culoarea seminţelor la fel este maro, indicii biometrici ai fructelor şi a seminţelor sunt mai mici comparativ cu ale soiurilor *Dichl 8* şi *Kaufmann*.

Pentru formele de utilizare tehnică aportul unor astfel de caractere, cum ar fi înălţimea plantei *şi lungimea fibrei tehnice* ş.a. în determinarea valorii genortipului respectiv, este destul de semnificativ. Analizând formele irradiate, putem observa că factorul mutagen a avut efect stimulativ asupra creşterii *taliei plantelor* iradiate (400, 500, 600 Gy) şi a *lungimii inflorescenţelor* (pentru toate cele patru doze aplicate) în raport cu martorul *Belinka* (Fig. 1). Înălţimea totală a formei martor era de 58,9±1,08 cm, ea fiind depăşită nesemnificativ: 59,2±0,74 – 61,3±0,80 cm. *Dimensiunile inflorescenţei* la formele iradiate au cuprins valori minimale de 15,4 şi maximale de 17,5 cm, devansând semnificativ martorul 13,4 cm. După parametrul *lungimea fibrei tehnice* nici o formă iradiată nu a depăşit standardul (45,6±0,89 cm), cea mai apropiată valoare a fost de 45,1±1,23 cm (600 Gy), iar minimală - de 40,7±1,13 cm (700 Gy).

Figura 2. Valoarea parametrilor cantitativi ai tulpinilor şi inflorescenţelor plantelor – numărul de ramificaţii, flori şi capsule dezvoltate în raport cu martorii selectaţi (unităţi).



Pentru soiurile tehnice de in nu este specific numărul excesiv de ramificaţii, flori şi capsule, însă din Figura 2 se observă că formele de in obţinute prin mutageneza indusă artificial, inclusiv şi martorul *Belinka*, depăşesc esenţial formele iradiate din M_{5-4}, cât şi soiurile martor *Kaufmann* şi *Dichl 8*. Este evident că factorul mutagenic a influenţat pozitiv asupra formării şi dezvoltării organelor generative. În primele generaţii la formele iradiate s-a semnalat un număr mare de flori per plantă în raport cu un număr mai redus de fructe dezvoltate şi o cantitate mai mică de seminţe viabile.

După indicii parametrului *numărul de ramificaţii per plantă* formele iradiate au înregistrat valori mai înalte comparativ cu martorul: s. *Kaufmann* (4,65±0,23) de 5,6±0,19-5,25±0,20 (400-500 Gy); *Belinka* (5,15±0,26) – 5,35±0,39 (600 Gy). Martorul *Dichl 8* (4,35±0,48) a fost depăşit substanţial de toate formele iradiate, cu valori cuprinse între 4,35±0,13 şi 5,0±0,19 (400-600 Gy).

Numărul de flori per plantă pentru toate formele iradiate din M_5 (*Kaufmann*) variază între 12,3±1,02 – 15,9±0,75, astfel depăşind în totalitate martorul – 12,2±0,85. Descendenţii *Dichl 8* din M_5 au fost mai puţin productivi după acest parametru, doar într-un caz plantele tratate cu doza de 400 Gy, au înregistrat

același număr precum martorul (13,8±0,58), celelalte două nu au acumulat cantitativ mai multe flori. În același timp, plantele iradiate cu dozele de 500, 700 Gy din M_4 au prezentat valori mai înalte (14,5±0,87, 13,9±1,15). Mostrele *Belinka* din M_4 au depășit forma martor (16,3±0,89), plantele au fost tratate cu dozele de 400, 700 Gy (21,5±1,83, 18,5±1,35).

Numărul de capsule per plantă. După acest parametru toți descendenții *Belinka* din generația M_4 au depășit proba martor (14,7±0,80) cu valori minime înregistrate de 14,8±0,68 și maxime de 18,5±1,83. A fost depășit în totalitate de plantele iradiate din M_4 și martorul *Dichl 8* (11,2±0,58), cu excepția celor tratate cu doza de 600 Gy (10,9±0,66) din M_4 și a probelor din M_5, unde doar în primul caz (400 Gy) valoarea plantelor iradiate era similară cu valoarea martorului.

Figura 3. Masa seminceră per plantă (g).

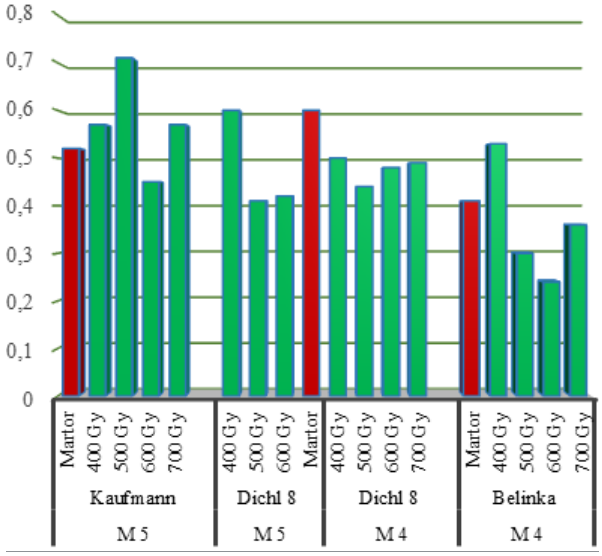
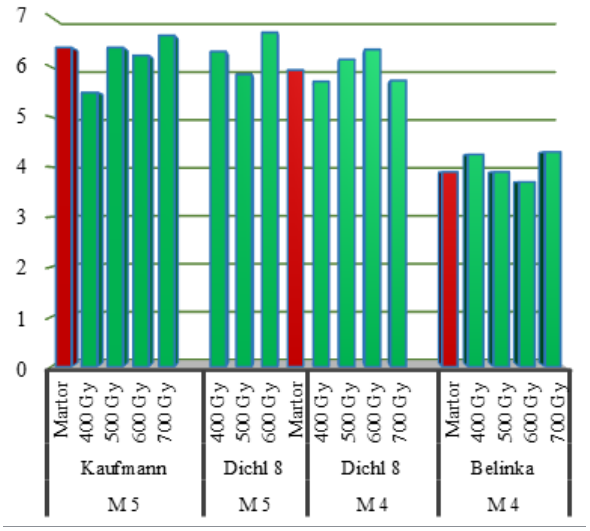


Figura 4. Masa a 1000 semințe (g).



Masa seminceră per plantă este criteriul cantitativ cel mai important pentru determinarea și aprecierea productivității unui genotip. În unele cazuri ne poate reda chiar și adaptabilitatea și dezvoltarea lui în anumite condiții pedoclimatice mai puțin specifice pentru cultura inului.

După acest parametru putem observa (Fig. 3) că *masa seminceră per plantă* la martori variază în limitele 0,41±0,03 g (*Belinka*), 0,52±0,04 g (*Kaufmann*) și 0,60±0,05 g (*Dichl 8*). Astfel, pentru primul martor, observăm că după acest caracter doar o singură probă (400 Gy) a acumulat o cantitate mai însemnată de semințe (0,53±0,11 g). Al doilea martor este depășit de trei forme iradiate, cu excepția plantelor iradiate cu 600 Gy (0,45±0,03 g), care s-au încadrat în intervalul de 0,57±0,05 g (400, 700 Gy) – 0,71±0,04 g (500 Gy). Pentru al treilea martor este caracteristică aceiași valoare cu o probă iradiată cu 400 Gy din M_5 – 0,6±0,05 g. Efectiv nici o altă probă iradiată din generația $M_{4\text{-}5}$ nu a depășit forma martor după cum se poate de observat în Figura 3.

Pentru orice cultură, cât și pentru cultura inului *masa a 1000 semințe* (MMS) este influențată de dimensiunile semințelor/boabelor și de conținutul de umiditate. După analiza dimensională semințele soiului *Kaufmann* sunt mai măscate, iar ale soiului *Belinka* sunt cele mai mărunte.

Martorii au prezentat valori ale MMS de 6,39 g (*Kaufmann*), 5,94 g (*Dichl 8*) și 3,9 g (*Belinka*). Valori similare cu martorul s-au semnalizat la probele iradiate cu 500 Gy: M_5 – *Kaufmann,* M_4 - *Belinka*. *Masa a 1000 semințe* înregistrată la plantele iradiate cu dozele de 400 Gy – 6,31 g (M_5, Dichl 8), 4,25 g (M_4, Belinka); 500 Gy – 6,15 g (M_4, Dichl 8); 600 Gy – 6,69-6,35 g (M_5, M_4 - Dichl 8); 700 Gy – 4,3 g (M_4, Belinka) și 6,63 g **(**M_5, *Kaufmann***)** în raport cu martorii s-a dovedit a fi mai mare.

Durata perioadei de vegetație a fost de 96 de zile (mediu precoce) pentru majoritatea formelor iradiate și a martorilor *Kaufmann* și *Dichl* 8, cu excepția formei iradiate din M_5 cu doza de 400 Gy, care a acumulat cel mai mic număr de zile pentru toate fazele de dezvoltare, până la atingerea maturității depline de 89 zile din momentul răsăririi. În cazul formelor ce aparțin soiului *Belinka* această perioadă a fost de 117 zile, ceea ce se califică ca având o perioada lungă de vegetație.

Concluzii

Prin cercetări s-a constatat că la forma *Dichl 8* din generația M_5 iradiată cu raze gamma (400 Gy), fazele fenologice de dezvoltare s-au derulat într-un ritm mai rapid în comparație cu martorul, celelalte forme din generația M_{4-5}, cât și față de toate genotipurile de colecție. Cele mai relevante au fost: *începutul* și *înflorirea în masă a plantelor, formarea în masă a fructelor, începutul fazei de îngălbenire*, *îngălbenirea în masă a tulpinilor la plante* și *durata perioadei de vegetație*.

Formele *Belinka* obținute prin mutageneza indusă se deosebesc semnificativ după *talia plantei, dimensiunile inflorescențelor*, *densitatea florilor* și a *fructelor per plantă*. Indicii sporiți ce au fost înregistrați la ultimii trei parametri sunt caracteristici soiurilor de in pentru ulei, mai puțin – inului pentru fibre.

Descendenții soiului *Kaufmann* au manifestat o amplă variabilitate fenotipică comparativ cu celelalte soiuri selectate și au depășit martorul după un număr mare de parametri cantitativi investigați.

Ca rezultat al analizei parametrilor evaluați în prezentul studiu, s-a observat că doza de iradiere 400 Gy a condiționat cele mai multe modificări morfo-biologice la plante, iar cea de 700 Gy a avut o influență mult mai redusă.

Referințe:

1. VROMANS JAAP. *Molecular genetic studies in flax (Linum usitatissimum L.)*. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands, 2006. Printed: PrintPartners Ipskamp, 144 p. ISBN 90-8504-374-3.
2. BOLSHEVA, N., MELNIKOVA, N., KIROV, I., SPERANSKAYA, A., KRINITSINA, A., et al. Evolution of blue-flowered species of genus *Linum* based on high-throughput sequencing of ribosomal RNA genes. In: *BMC Evolutionary Biology,* 2017, Vol. 17 (Suppl. 2):253, p. 23-36. DOI 10.1186/s12862-017-1105-x.
3. DOUCET, M., DOUCET, I. *Cultura inului de ulei*. Bucureşti: Editura Agro-Silvică, 1964, 50 p.
4. MUNTEAN, L. *Mic tratat de fitotehnie – plante oleaginoase, textile, tuberculifere şi rădăcinoase*. Vol. II. București: Editura Ceres, 1997, 290 p. ISBN 973-40-0338-0.
5. *Catalogul Soiurilor de Plante al Republicii Moldova pentru anul 2023*. Chişinău: ÎS Editura didactică de stat ,,Lumina”, 2023, 132 p.
6. DOUCET, I., DOUCET, M. Rezultatele cercetărilor de ameliorare la inul de ulei şi inul de fibre, în România. În: *Analele I.N.C.D.A. Fundulea*, Vol. LXXV, 2007, Volum Jubiliar, p. 195-202.
7. ПОРОХОВИНОВА, Е., КУТУЗОВА, С., ПАВЛОВ, А., СЛОБОДКИНА, А., ЯКУШЕВА, Т., БРАЧ, Н. Коллекция генетических ресурсов льна Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова. В: Письма в Вавиловский Журнал Генетики и Селекции, 2021, Том 7, № 2, с. 75-90. DOI 10.18699/LettersVJ2021-7-09.
8. MAGGIONI, L., PAVELEK, M., SOEST, L.J.M. van., LIPMAN, E. *Flax Genetic Resources in Europe:* Ad hoc meeting. Prague, 2001, 85 p. ISBN 92-9043-535-6.
9. PALII, A. *Ameliorarea plantelor*. Chișinău: S. n., 2014 (Tipografia ,,Foxtrot”), 216 p. ISBN 978-9975-120-46-3.
10. PALII, A. *Genetica*. Chișinău: Editura Museum, 1998, 352 p. ISBN 9975-905-19-6.
11. ГУЛЯЕВ, Г. *Генетика.* Москва: Издательство «Колос», 1971, 344 с.
12. ТИГОВА, А., СОРОКА, А. Направленность наследственных изменений льна (*Linum humile* Mill.) под действием новых производных диметилсульфата. В: Научный журнал «Физиология Растений и Генетика», 2018, Том. 50, № 5., с. 427-438. ISSN 2308-7099.
13. КОРОЛЕВ, К., БОГДАН, В., БОГДАН Т. Индуцированный мутагенез льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) как метод создания нового исходного материала для приоритетных направлений в селекции. В: Научно-методический журнал «Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии», 2016, № 4, с. 73-75.
14. SPENCER-LOPES, M., FORSTER, B., JANKULOSKI, L. *Manual on Mutation Breeding (Third Edition).* Vienna: FAO/IAEA, 2018, 301 p. ISBN 978-92-5-130526-3.
15. ZHAO, Li., WANG, Bin. Mutagenic effect on seed of oil flax (*Linum usitatissimum* L.) induced by ^{60}Co-γ irradiation. In: *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2021, No. 43(5), p. 834-842. DOI:10.19802/j.issn.1007-9084.2020312

16. NÔŽKOVÁ, JA., PAVELEK, M., BJELKOVÁ, M., BRUTCH, N., TEJKLOVÁ, E., POROKHOVINOVA, E., BRINDZA, J. *Descriptor list for flax (Linum usitatissimum L.).* Nitra: 2016, 102 p. DOI 10.15414/2016.9788055214849.
17. CEAPOIU, N. *Metode statistice aplicate în experienţele agricole şi biologice*, Bucureşti: Editura Agro-Silvică, 1968, 551 p.
18. ДОСПЕХОВ, Б. *Методика полевого опыта*. Москва: Агропромиздат, 1985, 351 с.
19. ФЕДИНА, М. *Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур*. Москва, 1983, 184 с.

Date despre autor:
Doina CUŢITARU, cercetător ştiinţific, Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Universităţii de Stat din Moldova, Laboratorul Resurse Genetice Vegetale.
E-mail: doina.cutitaru@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9956-8189

Notă: *Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului Programului de Stat 20.80009.5107.11 ,,Conservarea ex situ de lungă durată a resurselor genetice vegetale în Banca de gene cu utilizarea metodelor biologiei moleculare în testarea stării de sănătate a germoplasmei vegetale", finanţat de Agenţia Naţională pentru Cercetare şi Dezvoltare.*

Prezentat la 03.04.2023

CZU:632.4:633.15

EVALUAREA REZISTENȚEI A PLANTELOR DE PORUMB LA SPECIILE DE FUSARIUM PRIN METODA PCR

Lidia TUMANOVA, Cristina GRAJDIERU, Valentin MITIN, Irina MITINA
Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection

Contaminarea câmpurilor de porumb cu speciile fungice de Fusarium duce la scăderea volumului și calității de roadă. În lucrarea dată, trei genotipuri de porumb la fazele de mătăsare, lapte-ceară și maturitate fiziologică au fost analizate pentru prezența infecțiilor mixte de F. verticillioides, F. oxysporum, *F. avenaceum*. Infecțiile mixte asimptomatice de *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. avenaceum* au fost identificate în toate mostrele de Ku123 și în unele mostre ale genotipului RF7. Genotipul MK01 a fost infectat doar cu *F. oxysporum*. Estimarea numărului de copii prin metoda PCR cu aplicarea diluțiilor seriale a demonstrat că genotipul Ku123 a fost cel mai susceptibil la infecție.

Cuvinte-cheie*: speciile de Fusarium, plante de porumb, PCR, rezistență.*

EVALUATION OF MAIZE PLANT RESISTANCE TO FUSARIUM SPECIES BY PCR

Fungal contamination of maize fields with *Fusarium* species leads to yield loss and affects grain quality. In this investigation, maize of three genotypes Ku123, RF7, MK01 at the silking, dough and physiological maturity stage were analyzed for mixed contamination with *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F.avenaceum*. Asymptomatic mixed infection with *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. avenaceum* was detected in all samples of Ku123 and in some samples of the genotype RF7. The genotype MK01 was infected only with *F. oxysporum*. PCR estimation of the number of copies of *Fusarium spp* by serial dilutions demonstrated that genotype Ku123 is the most susceptible to the infection.

Keywords: *Fusarium species, maize plants, PCR, resistance.*

Introduction

Fungal contamination of maize fields with *Fusarium* species leads to yield loss and affects grain quality. Main factors that define grain infection rate are species composition of *Fusarium* fungi, and grade of host-genotype resistance. Infections with Fusarium spp. are serious risk to the quantity and quality of maize products, which in case of mycotoxin contamination may cause significant adverse effects on the health of humans and animals [1-4]. *Fusarium* infections may lead to the appearance of symptoms but can also cause symptomless infection. Plant disease monitoring and early diagnosis are essential to prevent pathogen dissemination. PCR-based assays of molecular diagnostics allow rapid and precise pathogen identification, including cases of mixed contamination, differentiation of species causing similar symptoms [5, 6]. The sensitivity and specificity of detection of the target pathogen are significantly improved when using nested-PCR, by performing a second PCR round using the internal primers for the amplification product [7-9]. Efficiency for detection of fungi is based on the primer specificity. The sequence of a partial fragment of the translation elongation factor 1-alpha (TEF-1α) gene has sufficient variability for differentiation at the level of Fusarium genus and is widely used to create specific primers for individual species [10]. The use of nested-PCR to assess the number of copies of pathogenic DNA can also be a method for estimating the resistance of maize plants to infection with *Fusarium spp*. Serial dilution of DNA targets with PCR has been used by many researchers [11-13]. This necessarily requires that the PCR protocol is optimized for sensitive detection of a single, or a known number, of target molecules.

The aim of the current research is: a) PCR identification of Fusarium species in DNA samples isolated from maize cobs at different stages of development (silking, dough and physiological maturity); b) determining the number of copies of Fusarium spp. DNA in maize lines with different degrees of resistance to Fusarium by the method of serial dilutions.

Materials and methods

Maize samples of Ku123, RF7, MK01 lines were collected from the experimental field of the Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection. Plants were randomly collected at several physiological stages of growth (silking, dough and physiological maturity). DNA was isolated from 1 gram of corn kernels, mainly as described in ISO 21571:2005 [14] successively using the methods "Preparation of PCR-quality DNA using polyvinyl-pyrrolidone (PVP)-based DNA extraction methods", (Annex A2) and "CTAB-based DNA extraction methods", (Annex A3).

Nested-PCR for *Fusarium* fungi identification was performed using primers designed to amplify a partial sequence of the translation elongation factor 1-alpha (Tab.1). For primer design, we use the program Primer-BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/), found on NCBI site.

Both rounds of nested PCR were performed in 25 µl of PCR mixture containing 66 mM Tris-HCl (pH 8.4), 16 mM $(NH_4)_2SO_4$, 2,5 mM $MgCl_2$, 0,1 % Tween 20, 7% glycerol, 0,01 µg BSA, 0,2 mM of each dNTPs, 1,25 U Taq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific), 5 pM of each primer and DNA template. Nested-PCR protocol included in first round - 1 cycle of denaturation at 95°C for 3 min, followed by 1 min denaturation at 95°C, annealing at 60°C for 1min, extension at 72°C for 1min, 30 cycles. Second round included 1min denaturation at 95°C, annealing at 60°C for 1min, elongation at 72°C for 1min for 30 cycles. PCR products were separated in 1,5% agarose gel electrophoresis (6V/cm), stained in with ethidium bromide, viewed in the UV (302 nm). Product length was estimated using DNA ladder 100 bp (Thermo Fisher Scientific).

The number of copies of pathogen DNA was determined using the method of serial dilutions to a concentration when only one molecule remains in the sample, and after the next dilution, the amplification signal is absent.

Table 1. Primers used for nested-PCR identification of Fusarium species.

Pathogen	Primer	Primer sequence 5'- 3'	Amplicon bp	GenBank accession numbers
Fusarium spp.	fc2	CTACCAGTGCGGTGGTATCG	431	ON844090.1 Fusarium commune strain DAR 85434 (TEF-1α) gene, partial cds
	fc6	ACATACCAATGACGGTGACATAGT		
	fc3	CCATCGAGAAGTTCGAGAAGGTT	300	
	fc4	CCCAGGCGTACTTGAAGGAA		
F. oxysporum	fo1	ATCTGCCATCGTCAATCCCG	576	OQ181366.1 Fusarium oxysporum isolate CF40-21 (tef-1a) gene, partial cds
	fo6	GACCGGGAGCGTCTGAGT		
	fo2	TCAATCCCGACCAAGACCTG	329	
	fo4	ACGTGACGACGCACTCATT		
F. avenaceum	fa2	CTCCCATCGATTCCCACGAC	192	KY365600.1 Fusarium avenaceum strain FOEP 40.11085 (tef1) gene, partial cds
	fa5	GTGACTGCAAGACATAGTGCG		
	fa3	CGACTCGCTCCCTCATTCG	140	
	fa4	GTTTTGTGGGAACAGGGCAAG		
F. verticillioides	fv1	GATGAGCTTATCGGCCATCGT	579	OM812702.1 Fusarium verticillioides isolate MFvKA-42 (TEF 1 alpha) gene, partial cds
	fv6	CCGGGAGCGTCTATGTGATG		
	fv2	ATCGTAAACCCGGCCAAGAC	310	
	fv5	GAGGTTGTGGAATGGGAGAGG		

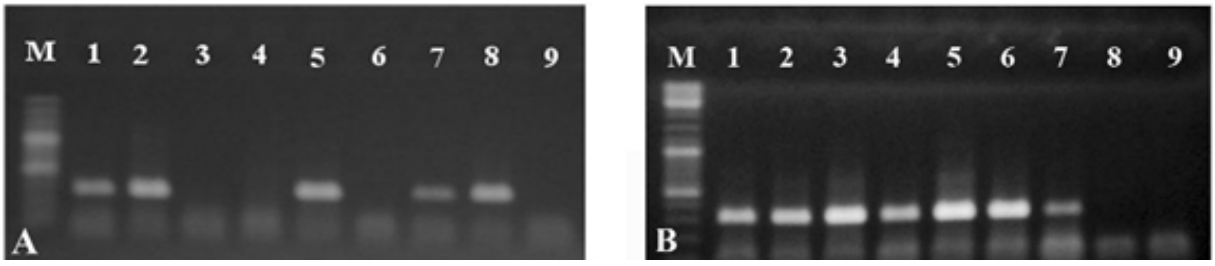
Results and Discussion

Samples of the cobs at the silking, dough and physiological maturity stage of Ku123, RF7, MK01 lines were analyzed. Primarily, DNA samples were analyzed for the presence of *Fusarium spp*. In the cob samples at the silking stage *Fusarium spp*. were not detected in any of the studied genotypes. Plant infection starts to develop at the dough stage. In case of positive signal (synthesis of a specific amplicon – 300 bp) samples were further analyzed for specification of *Fusarium* species. Nested-PCR detection of *F. oxysporum* (synthesis of a specific amplicon – 329 bp) in cob samples at the dough stage (top and base parts of the cobs) in four DNA samples of MK01 and Ku 123 lines is shown on Fig. 1. Amplicon specific for Fusarium spp. was not detected in the one sample of both MK01 and Ku123 maize lines.

Fig. 1. Nested - PCR analysis of F. oxysporum in the cobs at the dough stage:

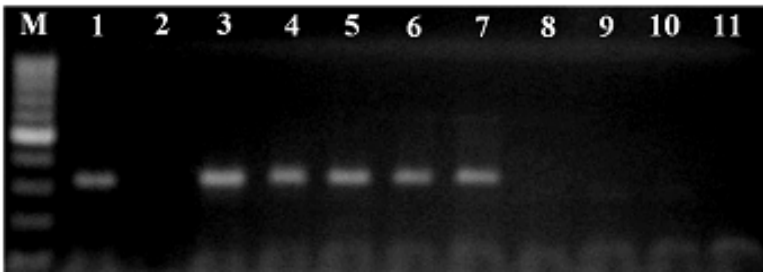
A - genotype MK01. Lanes 1-4 DNA samples of top part of the cobs, 5- 8 DNA samples of base part of the cobs; 9 – negative control, M-100 bp marker.

B - genotype Ku123. Lanes 1-4 - DNA samples of top part of the cobs, 5-8 DNA samples of base part of the cobs; 9 - negative control, M-100bp marker.



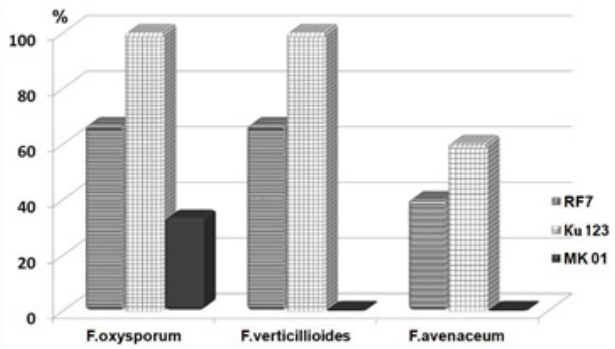
PCR detection of *F. verticillioides* (synthesis of a specific amplicon – 310 bp) in grain samples of Ku 123 and RF7 lines at the dough stage is shown on fig. 2.

Fig. 2. Nested-PCR analysis of F. verticillioides in the samples at the dough stage. Lanes 1-5 DNA samples of genotype Ku123, 6-10 DNA samples of genotype RF7; 1- negative control, M-100bp marker.



The distribution of the mixed infection of Fusarium fungi in corn cobs of Ku123, RF7, MK01 lines at the dough stage is presented on fig.3.

Fig. 3. Distribution of mixed Fusarium fungal infection in corn cobs at the dough stage in lines Ku123, RF7, MK01.



The analyzed MK01, RF7 and Ku123 lines showed different degree of infection with different *Fusarium* species at the dough stage. Asymptomatic mixed infection with *F. oxysporum*, *F. verticillioides* и *F. avenaceum* was detected in all samples of Ku123 and in some samples of the RF7 genotype. The genotype MK01 was infected only with *F. oxysporum*, with infection rate of 30%, compared to the infection levels with the same pathogen of RF7 (60%) and Ku123 (100%) lines.

Another approach to determining the resistance of maize genotypes to *Fusarium* infection is the determination of the pathogen DNA copy number by the method of serial dilutions. Serial dilutions are performed up to the concentration when a single target DNA sequence is present in the sample, while the following dilution shows no signal, and thus no nested-PCR amplification of the fragment is conducted.

This means that, knowing the dilution factor, it is possible to calculate how many copies of the analyzed DNA were present in the undiluted sample. For nested-PCR analysis we used primers specific to *Fusarium spp* and a mixture of 5 DNA samples for each of the two lines of MK01 (fig.4) and Ku123 (fig.5) lines at dough and physiological maturity stages.

Fig. 4. DNA dilution of mixed samples of line MK01. A -ten sequential dilutions 1:2 of DNA samples at dough stage, starting from $2x10^{-1}$ to 10^{-3}fold; B- ten sequential dilutions 1:2 of DNA samples at physiological maturity stage, starting from $2,5x10^{-2}$ to $6,4x10^{-5}$ fold. Numbers in figures A and B indicate the last sample dilution, when the amplification signal is still detected.

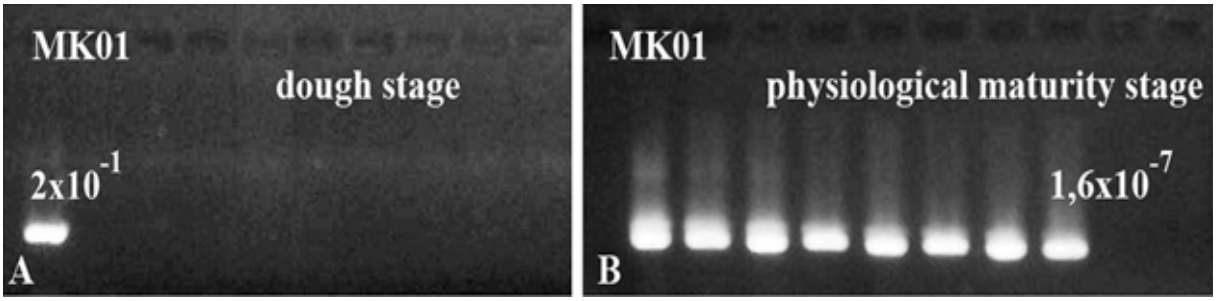
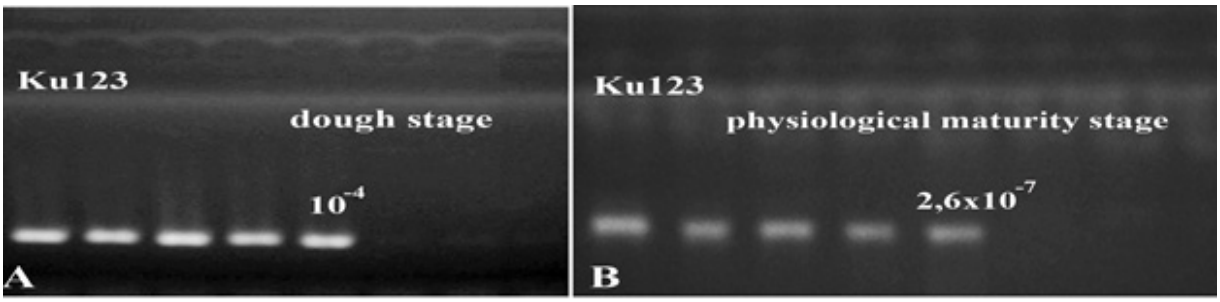


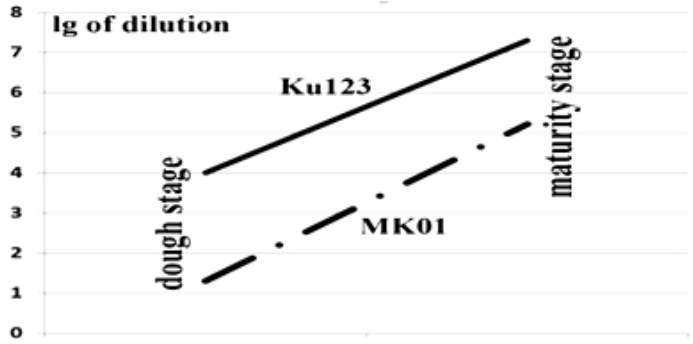
Fig. 5. DNA dilution of mixed samples of line Ku 123. A – eight sequential dilutions 1: 2 of DNA samples at dough stage, starting from $6,4x10^{-2}$ to $8,16x10^{-4}$ fold; B – eight sequential dilutions 1:2 of DNA samples at physiological maturity stage, starting from $1,6x10^{-6}$ to $2,1x10^{-8}$. Numbers in figures A and B indicate the last sample dilution, when the amplification signal is still detected.



As a result, it was shown that at least 20 copies of the DNA of the pathogen are present in 1 g of MK01 sample at the dough stage and at least $1,6x10^5$ copies at the physiological maturity stage. In case of Ku123 line, at least 10^4 pathogen DNA copies are present in 1 g of the sample at dough stage, and at least $2,6x10^7$ copies at the physiological maturity stage.

The concentration of the DNA of *Fusarium spp*. increases with maturation and depends on the resistance of maize genotype. The Ku123 genotype showed a maximal amount of infected kernels, thus it is the most susceptible to the infection, the genotype MK01 demonstrated to be the most resistant. The graph of the changes in values of the common logarithm of DNA dilution factor for both maize lines at two stages of development is presented on fig. 6.

Fig. 6. Lg of DNA dilution of the samples MK01 and Ku 123 in the dough and physiological maturity stages.



Therefore, both percentage of infection and the amount of pathogen's DNA analysis in kernels of cobs at dough stage using nested-PCR can be suggested as a method for evaluating maize resistance to *Fusarium* species at early stages of development. PCR-diagnostics of phytopathogens can be important for preventing the spread of the *Fusarium* pathogens, which are known producers of mycotoxins, can be present in infected grain and eventually lead to the loss of yield and grain quality. Fusarium infection can lead to manifestation of symptoms, but also can cause asymptomatic infection. Thus, the described approaches can be used for deeper understanding of the process of infection and screening of maize genotypes based on the susceptibility to *Fusarium* fungi, as well as for evaluation of the resistance of these genotypes.

Conclusions

Molecular analysis demonstrated that infection of corn cobs begins to develop at the dough stage, however, the analyzed genotypes Ku123, RF7, MK01 showed different degrees of infection with *F. oxysporum*, *F. avenaceum* and *F. verticillioides*. The genotype MK01 was infected only with *F. oxysporum*, with infection rate of 30%, compared to the infection levels with the same pathogen of RF7 (60%) and Ku123 (100%) lines. Thus, nested-PCR analysis of the cob at the dough stage can be proposed as a method for early diagnosis of the resistance of maize genotypes to Fusarium pathogens. Another approach to evaluating the resistance of maize genotypes to Fusarium infection is the determination of the pathogen DNA copy number by the method of serial dilutions. In this case, the evaluation of maize lines MK01 and Ku123 to *Fusarium spp*. was carried out both at dough stage and physiological maturity stage. In the present study, the MK01 line proved to be more resistant to the fungal infection, compared to Ku123 line.

References:

1. ECKARD, S., WETTSTEIN, F.E., Forrer, H.-R., VOGELGSANG, S. Incidence of *Fusarium* species and mycotoxins in silage maize. Toxins, 2011, vol. 8, p .949-967. ISSN 2072-6651.
2. PERINCHERRY, L., LALAK-KAŃCZUGOWSKA, J., STĘPIEŃ, Ł. *Fusarium*-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. Toxins, 2019, vol. 11, 664. ISSN 2072-6651.
3. OLDENBURG, E., HÖPPNER, F., ELLNER, F. et al. *Fusarium* diseases of maize associated with mycotoxin contamination of agricultural products intended to be used for food and feed. Mycotoxin Res, 2017, vol. 33, p.167–182. ISSN 18671632, 01787888.
4. MUNKVOLD, G. Fusarium Species and Their Associated Mycotoxins. Part of the Methods in Molecular Biology book series (MIMB,volume 1542), 2017, p. 51-106. ISSN: 1064-3745
5. BALODI, R., BISHT S., GHATAK, A., RAO, K.H. Plant disease diagnosis: technological advancements and challenges. Indian Phytopathology, 2017, vol. 70, no. 3, p. 275-281.. ISSN: 2248-9800
6. CAPOTE, N., PASTRANA, A. M., AGUADO, A., SÁNCHEZ-TORRES, P. Molecular tools for detection of plant pathogenic fungi and fungicide resistance. In book: Plant Pathology, 2012, p. 151-202. ISBN: 9780120445653.
7. MILLER, S., BEED, F., HARMON, C. Plant disease diagnostic dapabilities and detworks. Annu. Rev. Phytopathol, 2009, vol. 47. p. 15-38. ISSN: 1545-2107.

8. MBOFUNG, G. C. Y., PRYOR, B. M. A PCR-based assay for detection of Fusarium oxysporum f. sp. lactucae in lettuce seed. Plant Disease, 2010, vol. 94, no. 7, p. 860-866. ISSN: 01912917.
9. ANAND, G., KAPOOR, R. Nested PCR assay for specific and sensitive detection of Alternaria arthami. Arch. Microbiol, 2020, vol. 202, p. 171–179. ISSN: 0302-8933
10. KARLSSON, I., EDEL-HERMANN, V., GAUTHERON, N., DURLING, MB., KOLSETH, A-K., STEINBERG, C., PERSSON, P., FRIBERG, H. Genus-specific primers for study of Fusarium communities in field samples. Appl Environ Microbiol. 2016, vol. 82, no. 2, p. 491–501. ISSN: 0099-2240.
11. MONTES-BORREGO, M., MUÑOZ LEDESMA, F. J., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., LANDA, B. B. A nested-polymerase chain reaction protocol for detection and population biology studies of Peronospora arborescens, the downy mildew pathogen of opium poppy, using herbarium specimens and asymptomatic, fresh plant tissues. Phytopathology, 2009, vol. 99, no. 1, p. 73-81. ISSN: 0031-949X.
12. BAO, J., CHEN, Y., XING, Y., FENG, C., HU, Q., LI, X., JIANG, H. Development of a nested PCR assay for specific detection of Metschnikowia bicuspidata infecting Eriocheir sinensis. Front. Cell. Infect. Microbiol, 2022, vol. 12. ISSN: 2235-2988.
13. CHUNG, P-C., WU, H-Y., CHEN, Y-C., HUNG, TH., CHUNG, C-L. Development of a nested PCR assay for detecting Colletotrichum siamense and Colletotrichum fructicola on symptomless strawberry plants. PLoS ONE, 2022, vol. 17, no. 6. ISSN:1932-6203.
14. EN ISO 21571:2005/A1:2013, European committee for standardization.

Date despre autori:
Lidia TUMANOVA, dr., cercetător științific coordonator, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.
E-mail: lidia_tumanova@yahoo.com
ORCID: 0000-0001-5664-871X

Cristina GRĂJDIERU, cercetător științific stagiar, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.
E-mail: kgrejdieru@mail.ru
ORCID: 0000-0003-1560-7924

Valentin MITIN, cercetător științific, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.
E-mail: mitinval@hotmail.com
ORCID: 0000-0001-9328-9672

Irina MITINA, dr., cercetător științific coordonator, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.
E-mail: irina_mitina@hotmail.com
ORCID: 0000-0002-1550-6739

Acknowledgement: *Current research was carried out within the project of the State Program 20.80009.5107.11 „Long-term ex situ conservation of plant genetic resources in the „Gene Bank using the methods of molecular biology for plant germplasm health testing", financed by the National Agency for Research and Development.*

Prezentat la 09.04.2023

CZU: 582.232:631.53.01

PERSPECTIVA UTILIZĂRII ALGELOR ÎN TRATAREA SEMINŢELOR DE PLANTE

Sergiu DOBROJAN, Gheorghe JIGĂU, Galina DOBROJAN
Universitatea de Stat din Moldova

Cristin MELNIC
GŢ ,,Melnic Cristin”

Tatiana CIOLACU
Institutul de Ecologie şi Geografie

Eugeniu CIOBANU
Universitatea Pedagogică de Stat ,,Ion Creangă”

Algele prezintă o sursă naturală de substanțe biologic active, eficiente, sigure şi relativ ieftine, care stimulează procesul de germinare a semințelor diferitor plante. Conținutul de biostimulatori ai germinării semințelor variază în funcție de poziția taxonomică a algelor, starea culturilor şi specificul cultivării acestora. Tratarea semințelor diferitor plante cu biomasa algală, sau cu extracte obţinute din aceasta, are ca efect atât stimularea germinării semințelor, cât şi îmbunătățirea stării fiziologice a plantelor, creşterea rezistenței acestora la factorii de mediu, majorarea cantitativă şi îmbunătățirea calității recoltelor. Articolul prezintă o sinteză a unor rezultate ştiinţifice obţinute care scot în evidenţă faptul că biomasa unor alge poate fi utilizată ca sursă de biostimulatori în tratarea semințelor plantelor.

Cuvinte-cheie: *alge, semințe, tratarea semințelor, biostimulatori, fitohormoni.*

PERSPECTIVE OF THE USE OF ALGAE IN THE TREATMENT OF PLANT SEEDS

Algae are a natural source of biologically active substances, effective, safe and relatively cheap, which stimulate the germination process of the seeds of different plants. The content of seed germination biostimulators varies depending on the taxonomic position of the algae, the condition of the crops and the specifics of their cultivation. Treating the seeds of different plants with algal biomass, or with extracts obtained from it, has the effect of both stimulating seed germination and improving the physiological state of plants, increasing their resistance to environmental factors, increasing the quantity and improving the quality of harvests. This article presents a synthesis of some scientific results obtained that highlight the fact that the biomass of some algae can be used as a source of biostimulators in the treatment of plant seeds.

Keywords: *algae, seeds, seed treatment, biostimulants, phytohormones.*

Seminţele plantelor rezultă din progresul filogenetic ce a permis supravieţuirea mai bună a acestora faţă de condiţiile de mediu, fiind un organ caracteristic numai gimnospermelor şi angiospermelor, numite din acest motiv spermatofite. Semințele conțin germenii unei noi plante (embrionul) şi ţesut de depozitare specializat (endosperm, perisperm) închis în învelişul de protecţie (tegumentul) şi au o importanţă primordială pentru menţinerea multor specii de plante [1, 2]. Pentru naşterea unei culturi sau organ vegetal al plantelor din seminţe este necesar ca acestea să germineze. De germinarea seminţelor depinde direct supravieţuirea unor plante şi obţinerea recoltelor bune din punct de vedere calitativ şi cantitativ şi de aceea este necesar ca să se asigure stimularea acestui proces. Stimularea eficientă a germinării seminţelor şi asigurarea unor produse alimentare sigure pentru om poate fi realizată prin utilizarea biostimulatorilor. Biostimulatorii sunt de origine biologică, cu compoziţie complexă, manifestă proprietăţi noi, esenţiale pentru creşterea, dezvoltarea şi supravieţuirea plantelor în condiţii variabile de mediu, iar la utilizarea practică a acestora reduce riscul generării unor daune

ecologice mediului, factor important pentru implementarea lor în agricultura organică. Prin aplicarea biostimulatorilor se promovează sistemul holistic de management al producției agricole, care presupune păstrarea şi îmbunătățirea, stării agroecosistemului, biodiversităţii şi ciclurilor biologice ale organismelor din sol [3].

Actualmente interesul faţă de germinarea seminţelor realizată prin intermediul biostimulatorilor algali este generat de necesitatea creşterii calităţii seminţelor, accelerării dezvoltării plantelor (în special în primele etape ale ontogenezei), sporirea rezistenţei acestora la factori biotici și abiotici, creşterea randamentului şi a productivităţii culturilor şi obţinerea recoltelor sănătoase. Ţine de menționat faptul că algele prezintă o sursă naturală de substanţe biologic active, eficiente, sigure şi relativ ieftine, fapt care argumentează importanţa şi necesitatea utilizării biomasei acestora în procesul de germinare a seminţelor.

În general, germinarea semințelor se realizează în trei faze consecutive. Prima fază se caracterizează prin absorbția rapidă a apei în spațiile aplazice prin intermediul forțele antrenate de sămânță. În cea de a doua fază, de activare, are loc restabilirea activităților metabolice (sinteza proteinelor), iar în faza a 3-a de germinare are loc alungirea celulelor și apariția radicelor. Până la finisarea fazei a 2-a de germinare a semințelor acest proces este reversibil, deoarece semințele pot fi din nou uscate păstrând-şi viabilitatea şi respectiv în condiții adecvate, poate germina [4]. Procesul de germinare a seminţelor este influenţat de factorii exogeni şi anume de apă, oxigen, temperatură, lumină etc. Apa este absolut necesară pentru germinare, în timpul îmbibării apei se activează enzimele hidrolitice care descompun rezerva alimentară în substanțe chimice utile din punct de vedere metabolic. Astfel, putem constata că apa facilitează direct germinarea seminţelor. Oxigenul este elementul principal al activităţii metabolice a seminţelor. Se consideră că dacă mediul de germinare este slab aerat, acest fapt afectează negativ rata de germinare și procentul de germinare al seminței. Temperatura, la fel, influenţează direct procesul de germinare, temperaturile foarte scăzute dar și cele foarte ridicate împiedică germinarea semințelor, însă cele optime au efect stimulator [5].

Germinarea seminţelor este influenţată şi de factorii interni, cum ar fi reglatorii de creştere, perioada de repaus şi viabilitatea. Biomasa algală conţine fitohormoni și regulatori de creștere (aşa cum sunt: citokininele, auxinele, giberelinele, betainele, acid abscisic și brasinosteroizii), polizaharide de matrice și de rezervă (alginați, caragenani, agar, ulvan, mucopolizaharide și oligozaharide, fucoidan, laminaran, amidon și fluoroid) etc., care au efect biostimulator al germinării seminţelor diferitor plante [6-10].

Ţine de remarcat faptul că tipul şi conţinutul de fitohormoni din biomasa algelor este variat în funcţie de poziţia sistematică a acestora, datele privitor la conţinutul de fitohormoni a unor grupe taxonomice de alge şi cianobacterii se prezintă în (tab. 1).

Tabelul 1. Conţinutul de fitohormoni a unor alge din diferite grupe taxonomice [11-13].

Încrengătura	Genul	Tipul de fitohormoni
Chlorophyta	*Enteromorpha, Chlorella, Cladophora, Caulerpa, Chlamydomonas, Dunaliella, Draparnaldia*	Auxine
	Protococcus, Chlorella, Scenedesmus, Chlamydomonas	Citochinine
	Caulerpa	Giberline
	Chlorella, Dunaliella, Haematococcus	Acid abscisic
	Enteromorpha	Acid lunularic
	Dunaliella, Chlorella	Acid iasmonic
	Ulva, Chlorella	Poliamine
	Hydrodictyon	Brasinosteroizi
Phaeophyta	*Macrocystis, Laminaria, Fucus, Ascophyllum*	Auxine
	Fucus, Ascophyllum, Sargassum, Macrocystis	Citochinine
	Fucus	Giberline
	Ascophyllum, Laminaria	Acid abscisic
	Dyctiota	Poliamine

Rhodophyta	*Botryocladia, Porphyra, Gelidium, Gracilaria, Gracilariopsis, Chondracanthus, Hypnea*	Auxine
	Porphyra	Giberline
	Porphyra	Citochinine
	Gelidium	Acid iasmonic
	Cyanidium, Gelidium, Grateloupia	Poliamine
	Griffithsia	Rodomorfină
Charophyta	*Chara*	Citochinine
Euglenophyta	*Euglena*	Citochinine, acid iasmonic, poliamine
Cyanophyta	*Arthronema, Calothrix, Synechococcus, Nostoc, Trichormus, Anabaena,*	Citochinine
	Anabaena, Nostoc, Calothrix, Scytonema, Cylindrospermum, Spirulina, Synechococcus,	Giberline
	Spirulina	Acid iasmonic
	Spirulina	Acid indol-3-acetic
	Spirulina	Acid fenilacetic
	Spirulina	Acid ascorbic
	Spirulina	Acid aminociclopropan-1-carboxilic
	Spirulina	6-benzilaminopurină

Pentru a rezuma, putem concluziona că cea mai mare diversitate a tipurilor de fitohormoni este prezentă în biomasa algelor din încrengăturile *Cyanophyta*, *Chlorophyta, Phaeophyta* şi *Rhodophyta* (datele detaliate sunt prezentate în tab. 1). Utilizarea biomasei algei verzi *Chlorella vulgari*. pentru tratarea seminţelor de grâu, orz, porumb şi salată a rezultat cu germinarea majoră a acestora şi îmbunătăţirea stării fiziologice a culturilor [14-16].

Cu o varietate semnificativă de fitohormoni sunt caracterizate şi algele marine, însă cercetarea acestora şi utilizarea în practică este complicată în condiţiile Republicii Moldova. Pentru ţara noastră cele mai accesibile pentru cercetare şi utilizat în vederea germinării seminţelor sunt algele cianofite (cianobacteriile). Aceste alge produc numeroase substanţe biologic active, cum ar fi citochininele, giberlinele, unii acizi fitoreglatori şi au efect biogerminativ semnificativ [17]. Biomasa speciilor de alge cianofite *Anabaena vaginicola*, *Nostoc calcicole* şi *Scytonema bohneri* conţine auxina şi acid indol-3-butiric care are efect biostimulator pronunţat asupra germinării multor seminţe de plante. Cercetările realizate asupra a 34 de alge cianofite din genurile *Nostoc, Synechocystis, Anacystis, Gloeothece, Phormidium, Plectonema, Symploca, Calothrix, Scytonema, Chlorogloeopsis* şi *Fischerella* au evidenţiat faptul că aproape toate speciile secretă auxină şi alte substanţe biostimulatoare şi crează premize de utilizare în tratarea seminţelor diferitor plante [18-21].

În cercetările realizate de Aly, M. H. A. şi coautorii [22] s-a demonstrat faptul că biomasa cianobacteriilor *Nostoc muscorum* şi *N. humifusum* este bogată în acid giberlinic (2859,00-9384,90 ngl^{-1}) şi acid ascorbic (5230,50-163,40 ngl^{-1}), iar aplicarea acestora la tratarea seminţelor de *Beta vulgaris* a contribuit la germinarea a 68,73 - 64,41% din seminţele plantelor experimentate (germinarea seminţelor în loturile de control care nu erau tratate cu extract din biomasa algală constituia doar 61,02%). Astfel, constatăm că aceste specii au un potenţial major de biostimulare a germinării seminţelor plantelor şi pot fi utilizate în practică.

În afară de fitohormoni biomasa algelor cianofite este bogată şi în aminoacizii care au un efect biostimulator pronunţat şi influenţează pozitiv asupra creşterii plantelor şi a performanţei culturilor. Suplimentar,

biomasa multor microalge este bogată în macronutrienţi (N, P, K) şi micronutrienţi (Fe, Mg, Mn), care influenţează pozitiv procesul de germinare a seminţelor [23-25].

Cercetările noastre anterioare au demonstrat faptul că utilizarea biomasei diferitor specii de alge cianofite contribuie la stimularea germinării seminţelor unor plante de cultură (tab. 2).

Tabelul 2. Studierea influenţei biostimulatorilor obţinuţi din biomasa algelor *Nostoc flagelliforme* şi *N. verrucosum* asupra germinării semințelor de tomate, % [26].

Variantele experimentale	Perioada de timp expuse la tratat, ore								
	1,5			3			4,5		
	1 zi	2 zi	4 zi	1 zi	2 zi	4 zi	1 zi	2 zi	4 zi
Martor	23,07	92,30	76,92	63,63	81,81	81,81	35,71	78,57	85,71
Sol. I - alge	60,00	80,00	90,00	40,00	70,00	90,00	60,00	90,00	95,00
Sol. II -- alge	50,00	80,00	98,00	68,00	98,00	99,00	50,00	80,00	80,00
Sol. III - alge	7,14	57,14	64,28	50,00	92,85	92,85	53,84	92,30	96,50
Sol. IV- - alge	8,33	16,66	33,33	15,38	53,84	69,23	16,66	83,33	91,66
Sol. V-- alge	15,38	23,07	30,76	50,00	91,66	91,66	35,71	64,28	85,71

Rezultatele prezentate în tab. 2 indică faptul că biostimulatorii algali obţinuţi din biomasa combinată a algelor cianofite *Nostoc flagelliforme* şi *N. verrucosum*, variantele experimentale I şi II au ca efect stimularea germinării seminţelor de tomate cu până la 21,08% comparativ cu variantele de seminţe netratate.

Anterior, am realizat şi alte cercetări cu scopul stabilirii efectului biostimulator al tratării seminţelor de grâu cu biomasa combinată a algelor *Nostoc gelatinosum* şi *Anabaena variabilis*, caare au scos în evidenţă faptul că algele cercetate manifestă un efect biostimulator pozitiv major asupra germinării seminţelor şi au un potenţial practic de utilizare (tab. 3).

Tabelul 3. Studierea influenţei biostimulatorilor algali obţinuţi din biomasa algelor *Nostoc gelatinosum* şi *Anabaena variabilis* asupra germinării semințelor de grâu, % [27].

Variantele experimentale	Perioada de analiză, zile				
	1	**2**	**3**	**7**	**14**
Sol. I - alge	0,00	0,00	0,66	74,00	84,00
Sol. II - alge	0,00	0,00	1,33	68,00	79,33
Sol. III - alge	0,00	0,00	5,33	86,00	98,33
Sol. IV- alge	0,00	0,00	9,33	91,33	97,33
Martor	0,00	0,00	3,33	64,66	72,00

Un alt studiu realizat de cercetători din domeniu [28, 29**]** a evidenţiat faptul că tratarea seminţelor de grâu înainte de semănat cu biomasă de Spirulina are ca efect stimularea germinării acestora. Utilizarea hidrolizatului obţinut din biomasa de *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco la tratarea seminţelor de grâu a avut ca efect stimularea germinării seminţelor de grâu și creșterea culturii înființate pe solurile sărate [30]. Astfel, putem concluziona că tratarea seminţelor de grâu cu biomasa algală are ca efect stimularea germinării seminţelor.

Biostimulatorii obţinuţi din biomasa unor alge cianofite au ca efect stimularea germinări seminţelor unor plante medicinale. Cercetări de pionerat realizate în această direcţie, în ţara noastră, au fost efectuate sub coordonarea dnei. dr. Alina Trofim care a scos în evidenţă faptul că utilizarea filtratului şi a biomasei algelor cianofite *Spirulina platensis* şi *Calothrix marchia* au efect stimulator major asupra germinării seminţelor de menta (în varianta martor, în lipsă de biostimulatori, au germinat 64-68% din seminţe, iar în cea cu biostimulatorii S22 – 88-96%) (rezultatele sunt prezentate în Tab. 4).

Tabelul 4. Procentul de germinare a seminţelor de mentă la aplicarea biostimulatorilor produşi în baza filtratelor rezultate de la cultivarea *Sp. platensis* şi *C. marchia* CNMN-CB-18 [31].

Varianta experimentală	Procent de germinare (PG %)
Martor	64-68
S1	72-84
S11	84-88
S2	84-88
S22	88-96

Concluzii

În baza celor menţionate, concluzionăm că algele prezintă o sursă majoră, ecologică şi regenerabilă de substanţe biostimulatoare a germinării seminţelor diferitor plante de cultură, medicinale şi aromatice. Utilizarea biostimulatorilor algali are ca efect accelerarea procesului de germinare a semințelor, creşterea rezistenței plantelor la factorii de mediu şi majorarea productivității culturilor. Pentru asigurarea dezvoltării agriculturii durabile recomandăm aplicarea biostimulatorilor obținuți din alge, în special cele cianofite, la tratarea semințelor diferitor plante.

Referințe:

1. АЛЕКСЕЙЧУК Г. Н., ЛАМАН Н. А. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки. Мн.: Право и экономика, 2005, 48 с.
2. DELIU C. Morfologia şi anatomia plantelor. Presa Universitară Clujeană, 1999, 174 p.
3. JELEV N., DASCALIUC AL. Utilizarea biostimulatorilor în cercetările ştiinţifice şi în practica agricolă. // Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţii, nr. 3(336) 2018, p. 22-34.
4. ANISH CH., SNEHASHIS K. Germination: the way of entering into a new life.// AgriCos e-Newsletter, Vol. 1, Iss. 06, 2020, p. 1-4.
5. GUAN B. Germination responses of Medicago ruthenica seeds to salinity, alkalinity, and temperature // Journal of Arid Environment, nr. 73, p. 135-138..
6. KHAN W., MENON U., SUBRAMANIAN S., JITHESH M., RAYORATH P., HODGES D. et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development // Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(4), p. 386–99.
7. HONG YP., CHEN CC., CHENG HL., LIN CH. Analysis of auxin and cytokinin activity of commercial aqueous seaweed extract // Gartenbauwissenschaft: Germany, 1995, vol. 60, is. 4, p. 191-194.
8. LÓPEZ BC. Uso de derivados de algas marinas en la producción de tomate, papa, chile y tomatillo. Coahuila // Palau: Bioquím S.A, 2001, p. 24.
9. STIRK WA., TARKOWSKÁ D., TUREČOVÁ V., STRNAD M., VAN STADEN J. Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak®, a commercial seaweed extract made from Ecklonia maxima // Journal of applied phycology, 2014, 26(1), p. 561–567.
10. DU JARDIN P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation // Scientia Horticulturae, 2015, p. 3–14.
11. TARAKHOVSKAYA E. R., MASLOV YU. I., SHISHOVA M. F. Phytohormones in algae.// Russian Journal of Plant Physiology, 2007, vol. 54, no. 2, p. 163–170.
12. CAM VAN T., DO, THUAN DANG TRAN, QUANG TRUNG NGUYEN. Phytohormones production in microalgae and the methods of characterization // Recent Research Advances in Biology, vol. 5, 2021, p. 24-41.
13. ZAPATA D., ARROYAVE C., CARDONA L., ARISTIZÁBAL A. Phytohormone production and morphology of *Spirulina platensis* grown in dairy wastewaters // Algal Research, 59(2):102469, 2021. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102469.
14. UYSAL O., UYSAL FO., EKINCI K. Evaluation of microalgae as microbial fertilizer // European Journal of Sustainable Development, 2015, 4(2), p. 77–82.

15. ODGEREL B., TSERENDULAM D. Effect of *Chlorella* as a biofertilizer on germination of wheat and barley grains // Proceedings of the Mongolian Academy of Sciences, 2016; 4(220), p. 26–31.
16. RONGA D., BIAZZI E., PARATI K., CARMINATI D., CARMINATI E., TAVA A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions // Agronomy, 2019, p. 4:192.
17. DOBROJAN S., ŞALARU V., ŞALARU V., MELNIC V., DOBROJAN G. Cultivarea algelor. hişinău: CEP USM, 2016, 173 p.
18. СЕЛЯХ И. О., СЕМЕНОВА Л. Р. Синтез и секреция гормоноподобных соединений у цианобактерий // Материалы Международной научной конференции «Автотрофные микроорганизмы», 2000, с 163–164.
19. SERGEEVA E., LIAIMER A., BERGMAN B. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria // Planta, 2002, vol. 215, p. 229–238.
20. RODRÍGUEZ A.A., STELLA A.M., STORNI M.M., ZULPA G, ZACCARO M.C. Effects of cyanobacterial extracellular products and gibberellic acid on salinity tolerance in *Oryza sativa L.* // Saline Systems, 2006, №2, p. 7–10.
21. PRASANNA, R., NAIN L., TRIPATHI R., GUPTA V., CHAUDHARY V., MIDDHA S., JOSHI M., ANCHA R., KAUSHIK B.D. Evaluation of fungicidal activity of extracellular filtrates of cyanobacteria – possible role of hydrolytic enzymes // J. Basic Micrbiol., 2008, №48, p. 86–94.
22. ALY, M. H. A., AZZA A. M., ABD EL-ALL., SOHA S. M., MOSTAFA. Enhancement of sugar beet seed germination, plant growth, performance and biochemical components as contributed by algal extracellular products // J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 33 (12): 2008, p. 8823 – 8842.
23. RONGA D., BIAZZI E., PARATI K., CARMINATI D., CARMINATI E., TAVA A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions // Agronomy, 2019, 9(4), p. 1-22.
24. GEBSER B., POHNERT G. Synchronized regulation of different zwitterionic metabolites in the osmoadaption of phytoplankton // Marine drugs. 2013, 11(6): 2168-2182. https://doi.org/10.3390/md11062168.
25. TATE JJ., GUTIERREZ-WING MT., RUSCH KA., BENTON MG. The effects of plant growth substances and mixed cultures on growth and metabolite production of green algae *Chlorella sp*.: a review. // Journal of plant growth regulation, 2013, 32(2), p. 417–428.
26. DOBROJAN S., ŞALARU V., DOBROJAN G. *Procedee de tratare a seminţelor înainte de semănat*. Brevet de invenţii nr. 4606
27. DOBROJAN S., ŞALARU V., DOBROJAN G., JIGĂU GH., COSTICA M., CIOBANU EU., TĂRÎŢA T., SEMENIUC E. *Procedeu de tratare a seminţelor de grâu înainte de semănat*. Brevet de invenţii nr. 4662.
28. DMYTRYK A., ROJ E., WILK R., CHOJNACKA K., GORECKI H. Effect of new biostimulators on the initial phase of plant growth // Przemysl Chemiczny, 2014, 93(6), p. 1020-1025.
29. MICHALAK I., CHOJNACKA K., DMYTRYK A., WILK R., GRAMZA M., RÓJ E. Evaluation of supercritical extracts of algae as biostimulants of plant growth in field trials. // Frontiers in plant science, 2016, 7. DOI: 10.3389/fpls.2016.01591.
30. EL ARROUSSI H., ELBAOUCHI A., BENHIMA R., BENDAOU N., SMOUNI A., WAHBY I. Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum L*. under salt stress // II World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture, 2015, p. 13–26.
31. TROFIM A., BULIMAGA V., ZOSIM L. *Utilizarea biostimulatorilor cianobacterieni în agricultura ecologică.* Chişinău, 2021, 79 p.

Date despre autor:
Sergiu DOBROJAN, doctor în biologie, conf. univ., cercetător ştiinţific principal LCŞ „Algologie Vasile Şalaru", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: sergiudobrojan84@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-0040-5836

Gheorghe JIGĂU, doctor în biologie, conf. univ., cercetător ştiinţific coordonator LCŞ „Procese pedogenetice", Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: gheorghe.jigau@gmail.com
ORCHID: 0000-0002-4778-2105

Galina DOBROJAN, cercetător științific, LCŞ „Algologie Vasile Şalaru”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: galinadobrojan87@gmail.com

Cristin MELNIC, cercetător științific, administrator și fondator GŢ „Melnic Cristin”.
E-mail: melnicvictor088@gmail.com

Tatiana CIOLACU, doctor în şt. solului, cercetator ştiinţific coordonator; LCŞ ,,Geomorfologie si Ecopedologie”, Institutul de Ecologie si Geografie.
E-mail: ciolacutatiana5@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9972-9314

Eugeniu CIOBANU, cercetător științific, LCŞ ,,Biotehnologii Ecologice”, Universitatea Pedagogică de Stat ,,Ion Creangă”
E-mal: eugeniuciobanu@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-3595-4421

Prezentat la 04.04.2023

STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE
Revista științifică a Universității de Stat din Moldova, 2023, nr. 1(161)

CZU: 582.998.1(478)

ECLIPTA PROSTRATA (L.) L. (ASTERACEAE) – NEW SPECIES FOR THE FLORA OF REPUBLIC OF MOLDOVA

Polina CASSIR

Scientific reserve ,,Lower Prut", Slobozia Mare, Republic of Moldova

Tatiana IZVERSCAIA, Veaceslav GHENDOV

National Botanical Garden (Institute), Moldova State University, Republic of Moldova

The article presents data on the new vascular plant species *Eclipta prostrata* (L.) L. (=*Eclipta alba* (L.) Hassk.), belonging to the Asteraceae family, in the spontaneous flora of the Republic of Moldova. Populations of this new species were recorded in the south of the republic, on the territory of the Ramsar site ,,Lower Prut Lakes". Synonymy, chorology, stationary characteristics, photographic images, black and white diagnostic illustrations are presented, as well as some useful plant properties.

Keywords: *vascular flora, Eclipta prostrata, Ramsar site ,,Lower Prut Lakes", Republic of Moldova.*

ECLIPTA PROSTRATA (L.) L. (ASTERACEAE) – SPECIE NOUĂ PENTRU FLORA REPUBLICII MOLDOVA

În articol sunt prezentate date despre noua specie de plante vasculare *Eclipta prostrata* (L.) L. (=*Eclipta alba* (L.) Hassk.), aparținând familiei Asteraceae, în flora spontană a Republicii Moldova. Populațiile acestei specii noi au fost înregistrate în sudul republicii, pe teritoriul sitului Ramsar „Lacurile Prutului de Jos". Sunt prezentate sinonimia, corologia, caracteristicile staționale, imaginile foto, ilustrațiile diagnostice alb-negru, precum și câteva proprietăți utile ale plantei.

Cuvinte-cheie: *flora vasculară, Eclipta prostrata, Situl Ramsar,,Lacurile Prutului de Jos", Republica Moldova.*

Introduction

The genus *Eclipta* L. is a quite well studied in the most regions of the natural area of its distribution as well as on the territories of where the species of the genus are introduced. It is a genus, whose representatives are distributed mainly in the Northern (generally in central and southern parts) and South America, Africa, as well as Australia. In total, the genus includes (based on the opinions of different authors) from 7 to 11 species: *Eclipta alatocarpa* Melville (native to Australia), *Eclipta elliptica* DC. (South America – Argentina Northeast, Brazil South, Uruguay), *Eclipta leiocarpa* Cuatrec. (South America – Colombia), *Eclipta megapotamica* (Spreng.) Sch.Bip. ex S.F.Blake (South America – Argentina Northeast, Brazil South, Uruguay), *Eclipta paludicola* Steud. (South America – Colombia), *Eclipta platyglossa* F.Muell. (Australia), *Eclipta prostrata* (L.) L. (North and South Americas), *Eclipta procumbens* Michx., *Eclipta punctata* Jacq., *Eclipta pusilla* M.E.Jones and *Eclipta thermalis* Bunge [1]. Some botanists consider the last four species as synonyms of *Eclipta prostrata* (L.) L. [2].

The plants of *Eclipta prostrata* registered and collected in 2022 on the territory of the ,,Lower Prut Lakes" Ramsar site indicate the first findings of the species for the vascular flora of the Republic of Moldova (Fig. 1).

Material and methods

The samples of the collected herbaria from the territory of Ramsar site (the voucher specimen has been maintained in the Herbarium of the National Botanical Garden (Institute) of the Moldova State University), were critically processed in laboratory conditions using specific regional floras [3-7]. The nomenclature of the species is given in accordance with the modern nomenclature [7, 8].

The general distribution map is cited from the Royal Botanic Gardens, Kew [2]. Confinement to biotopes in the territories of natural growth and in regions where the plant is introduced is given on the basis of literature data [3-7, 11]. The descriptions of plant communities on the site were made according to the

Fig. 1. Eclipta prostrata (L.) L. – herbarium sample.

Fig. 2. Eclipta prostrata (L.) L.: a – flowering branch, b – stem leaf, c – inflorescence, d – palea, e – bisexual floret, f – ray floret, g – achene.

generally accepted method [9]. The rarity of species in the Republic of Moldova is assessed by the IUCN categories and criteria [10]. The drawings were made by Leca Petru.

Results and Discussions

During the floristic survey (in 2022) of the „Lower Prut Lakes” Ramsar site territory (carried out within the framework of the project „Research and conservation of vascular flora and macromycobiota of the Republic of Moldova”), in order to investigate the state of rare species of vascular plants, the herbarium samples of the genus *Eclipta* L. were collected. These samples were identified as *Eclipta prostrata* (L.) L. (Fig. 2).

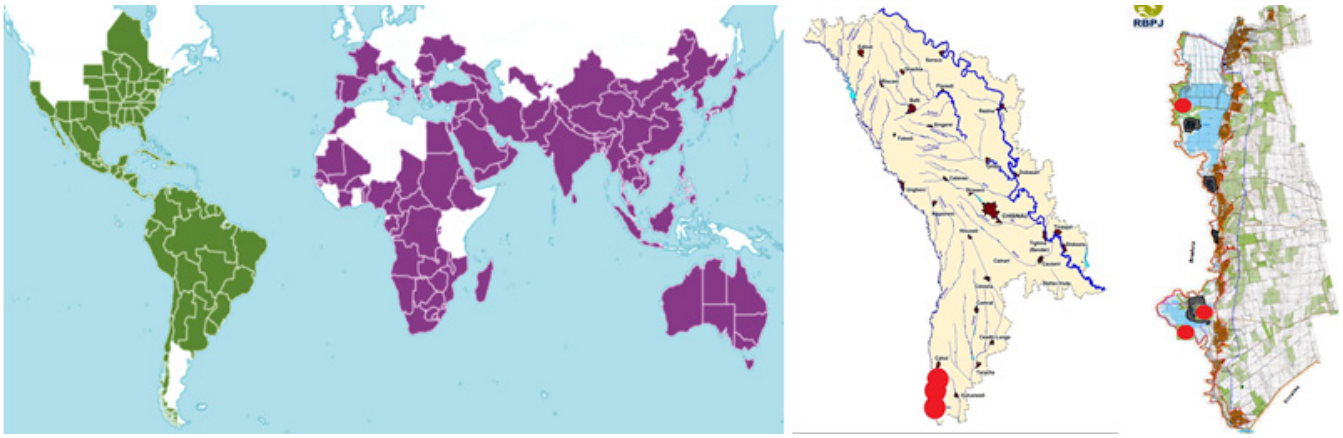
Eclipta prostrata (L.) L. 1771, Mantissa Alt.: 286. (synonyms: *Verbesina prostrata* L. 1753, Sp. Pl. 2: 902; *Cotula prostrata* (L.) L. 1767, in Syst. Nat., ed. 12, 2: 564; *Eleutheranthera prostrata* (L.) Sch.Bip. 1866, Bot. Zeitung (Berlin), 24: 239; *Eclipta alba* f. *prostrata* (L.) Hassk. 1848, Pl. Jav. Rar.: 530). – Ecliptă prostrată – Eclipta (false daisy, ink plant, tattoo plant) – Эклипта распростёртая.

Herbs, annual or perennial, highly variable species (Fig. 2)**.** Stems succulent, erect, ascending or prostrate, up to 60 (-100) cm tall, strigose-pilose, branched at base**,** slightly swollen below nodes and rooting at the nodes**.** Leaves opposite, lanceolate, sessile or shortly petiolate, 3-10 cm long and 0,5-2,5 cm wide, papery, densely strigose-pubescent on both surfaces, with narrowed base, margin serrulate, apex gradually acuminate. Capitate inflorescence terminal or axillary. Capitula circa 5 mm long and 6 mm wide, enlarging to 11 mm wide in fruit; peduncle slender, of 2-4,5 cm long; involucre globose-campanulate; phyllaries 5 or 6, 2-seriate, oblong, acute, outer longer then the inner. Ray florets 2-seriate, white, with lamina 2,5-3 mm long and circa 0,4 mm wide, bifid or entire. Disk florets many, tubular; corolla circa 1,5 mm long, 4-lobed. Achenes bilateral compressed, circa 2,8 mm long and 1,5 mm wide, with ribbed margin. Flowers in June-September.

The native distributional range covers the North, Central and South America. The species has been introduced to Europe, where is considered naturalized (Mediterranean region, central (Romania) and southeastern (Republic of Moldova, Ukraine) parts), Asia (widely distributed throughout India, China, Taiwan, Thailand), Africa, Australia and Pacific islands (Fig. 3a). Eclipta generally occurs from spring to fall. It germinates over a wide range of pH, salt, and temperature conditions and preferentially germinates when the seed is on or near the soil or media surface. Eclipta germination is greater in warm, moist soils and as a result it typically occurs in poorly drained fields, irrigated areas, or during periods of heavy rainfall.

Plants can flower in as little as five weeks after germination and produce seeds with no dormancy within 6 to 7 weeks that germinate quickly. Eclipta can also reproduce vegetatively through adventitious rooting of nodes or from stem fragments left on the soil [7].

Fig. 3. Eclipta prostrata (L.) L. distribution: a – worldwide, b – in the Republic of Moldova, c – in „Lower Prut Lakes" Ramsar site.



A B C

The populations of *Eclipta prostrata* in the Ramsar site area are known from 3 localities – the border between the Crihana Veche commune and the Manta commune, the Manolescu canal in plot 4, in the commune of Slobozia Mare and the shore of Lake Beleu in the water (plot 7) (Fig. 3b, 3c). At the same time, in 2022, the species was reported from the territory of a neighboring state, in Romania – Ialomița county to the east of the commune Vlașca (detection date of the species 16th September 2022, where it grows on the banks of the Danube (Borcea branch) [11].

Throughout its general range it occurs in wet meadows, in shallow waters, often a weed on roadsides. The species habit is greatly influenced by the habitats in which the plants grow. In the Republic of Moldova, it grows in the floodplain of the Prut River along damp banks as part of periodically flooded meadows and in the shallow waters of Lake Beleu, as well as canals Gârloiu and Manolescu. The habitat represents damp biotopes on the banks, among shrubs of species of the genus *Salix* L., forms small thickets of 2 x 2 m^2, among meadow grassland, represented by hygrophytes and mesohygrophytes: *Alisma plantago-aquatica* L., *Alopecurus aequalis* Sobol., *Bidens cernua* L., *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla, *Catabrosa aquatica* (L.) P.Beauv, *Eleocharis palustris* (L.) Roem. et Schult., *Glyceria arundinacea* Kunth, *Lythrum salicaria* L., *Oenanthe aquatica* (L.) Poir., *Persicaria amphibia* (L.) Delarbre, *Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre, *Phalaroides arundinacea* (L.) Rauschert, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Ranunculus sceleratus* L., *Rorippa amphibia* (L.) Besser, *Scirpus tabernaemontani* C.C.Gmel., *Stachys palustris* L., *Typha latifolia* L., *Veronica anagallis-aquatica* L., *Veronica anagalloides* Guss. etc. The plant was registered in patches, in the vegetal association dominates with abundance 3-4. Solitary specimens grow scattered in water nearby (Fig. 4).

Fig. 4. Habitat (water edge) and plants of Eclipta prostrata (L.) L. from the Ramsar site „Lower Prut Lakes".

According to the IUCN criteria, the *Eclipta* in the local flora is categorized as a critically endangered species (category Critically Endangered – CR, A4ce; B2ab (ii, iii); C2a; D), based on the fact that the species occurs in very few localities in the country and forms a small local population, although the ability of its area of expansion in the foreseeable future is high.

Usage: The plant has a folk reputation in Taiwan as a remedy for the treatment of bleeding, hemoptysis and itching, hepatitis, diphtheria and diarrhea. Stigmasterol, caffeic acid and wedelolactone have been determined as markers of *E. prostrata*. Methanol extracts from *E. prostrata* have been used to treat jaundice, leishmaniasis [12], mouse osteoblast differentiation [13] and hepatic stellate cell proliferation [14]. Water extract of *E. prostrata* showed a significant reduction in total cholesterol, triglyceride, total protein, and elevation in high-density lipoprotein cholesterol concentrations [15-16]. The extract is reported to suppress maternal aggression [17]. The whole plant is used for: diarrhea, jaundice, rice-felds dermatitis, eczema, ulcers, wound bleeding; plant juice with ginger given in indigestion; plant juice applied over wounds and cuts; plant infusion given as wash in ulcers of venereal diseases, also ash of dry plants is applied; aerial parts have antibiotic, tonic, emetic, hemostatic, aphrodisiac, anthelmintic, antimyotoxic and antihemorrhagic properties. The aqueous extract mixed with black pepper and sugar taken in body inflammation. Roots – purgative, antiseptic and emetic; pounded roots applied on septic wounds. Leaves of *Eclipta prostrata* used for liver problems, jaundice and gastrointestinal disorders; leaves paste with mustard oil applied to forehead for headache; leaves crushed and applied on foot cracks, wounds and sores between toes; fresh leaves juice antiinflammatory, hepatic stimulant, used in eczema, skin diseases, ulcers, wounds, sores, scorpion stings. Seeds tonic for promoting sexual desire and improving semen quality. In veterinary medicine – leaf juice used in swelling of ears of cattle; antiseptic pounded roots applied on septic wounds and ulcers [18].

Conclusions

For the first time for the territory of the Republic of Moldova, *Eclipta prostrata* (L.) L.is reported, found during field surveys of meadow communities on the territory of the ,,Lower Prutul Lakes” Ramsar site in 2022. In the only growing place known in the region, it forms an extremely small populations, represented by several adult fruit-bearing specimens. The species, at present, is rare although the ability of its area of expansion in the foreseeable future is high. A ,,zero” level of long-term monitoring has been laid.

References:

1. *The Plant List*. Downloadable from http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=eclipta
2. *Plants of the World online*. Kew Science**.** http://www.plantsoftheworldonline.org/
3. CIOCÂRLAN, V. *Flora ilustrată a României. Pteridophyta et Spermatophyta*. București, Ceres, 2009, 1141 p.
4. CHANG, S. *Eclipta prostrata* (L.) L. In: Flora of China. 2011, vol. 20-21, p. 869. http://flora.huh.harvard.edu/china/index.html
5. KOYAMA et BOUFFORD. *Eclipta prostrata* (L.) L. In: Flora of Missouri. Missouri Botanical Garden Press and Missouri Department of Conservation, 2006. Reprinted 2021, vol. 2, p. 1554. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=11&taxon_id=200023875
6. STROTHER, J. L. *Eclipta prostrata* (L.) L. In: Flora of North America. Oxford University Press, 2006, vol. 21, p. 129. http://floranorthamerica.org/Eclipta_prostrata
7. TUTIN, T.G. *Eclipta* L. In: Flora Europaea. Cambridge University Press, 1968, vol. IV, p. 141.
8. ЧЕРЕПАНОВ, С.К. *Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР)*. Санкт-Петербург, 1995, 990 с.
1. КОРЧАГИН, А.А. *Видовой (флористический) состав растительных сообществ и методы его изучения.* В: Полевая геоботаника. М.-Л.: «Наука», 1964, Т. 3, с. 39-131.
9. IUCN. Guidelines for application of IUCN Red List Criteria at Regional Levels: Version 3.0. IUCN Species Survival Commission. – IUCN, Gland, Switzerland, 2003.
10. CONSTANTIN, M., NEGREAN, G. *Noi plante adventive din judeţul Ialomiţa*. În: Sesiunea de comunicări ştiinţifice „D. Brandza” Ediția a XXVIII-a. Rezumate. București, 4-5 noiembrie 2022, p. 39-41.
11. KHANNA, V.G., KANNABIRAN, K., GETTI, G. Leishmanicidal activity of saponins isolated from the

leaves of *Eclipta prostrata* and *Gymnema sylvestre*. In: *Indian Journal of Pharmacology*, 2009, vol. 41, no. 1, p. 32-35.
12. LIN, X.-H. et al. Effects of volatile components and ethanolic extract from *Eclipta prostrata* on proliferation and differentiation of primary osteoblasts. In: *Molecules*, 2010, vol. 15, no. 1, p. 241-250.
13. LEE, M.K. et al. Antiproliferative activity of triterpenoids from *Eclipta prostrata* on hepatic stellate cells. In: *Phytomedicine*, 2008, vol. 15, no. 9, p. 775-780.
14. KUMARI, C.S., GOVINDASAMY, S., SUKUMAR, E. Lipid lowering activity of *Eclipta prostrata* in experimental hyperlipidemia. In: *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, vol. 105, no. 3, p. 332-335.
15. RANGINENI, V., SHARADA, D., SAXENA, S. Diuretic, hypotensiveand hypocholesterolemic effects of *Eclipta alba* in mild hypertensive subjects: a pilot study. In: *Journal of Medicinal Food*, 2007, vol. 10, no. 1, p. 143-148.
16. BANJI, D. et al. Impact of the aqueous extract of *Eclipta alba* on maternal aggression in rats. In: *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, vol. 23, no. 2, p. 138-142.
17. *CRC World Dictionary of medicinal and poisonous plants*. CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742. 2012 by Taylor & Francis Group, LLC, 4017. http://www.crcpress.com

Date about author:
Polina CASSIR, botanist, Scientific reserve ,,Lower Prut", Slobozia Mare, Republic of Moldova.
E-mail: cassirpolina@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1434-080X

Tatiana IZVERSCAIA, PhD in Biology, leading scientific researcher, National Botanical Garden (Institute) ,,Al. Ciubotaru".
E-mail: t_izverskaya@mail.ru
ORCID: 0009-0003-8530-0140

Veaceslav GHENDOV, PhD in Biology, leading scientific researcher, National Botanical Garden (Institute) ,,Al. Ciubotaru".
E-mail: v_ghendov@mail.ru
ORCID: 0000-0001-6405-3935

Acknowledgement: *The research was supported by the NARD through the project ,,Research and conservation of vascular flora and macromycobiota of the Republic of Moldova", 20.80009.7007.22.*

Presented at 28.04.2023

CZU: 611.013.12

ABORDĂRI MODERNE PRIVIND DINAMISMUL MORFOFUNCŢIONAL AL PROCESULUI DE SPERMATOGENEZĂ

Vladimir ŞEPTIŢCHI, Ana LEORDA, Viorica RAISCHI, Olesea GROSUL-RAILEANU
Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, Universitatea de Stat din Moldova

Lucrarea rezumă abordările moderne despre dinamismul morfofuncțional al spermatogenezei ca proces dinamic complex cu evenimente celulare și moleculare bine organizate, care include trei etape funcționale specifice de bază – spermatocitogeneza (mitoza), meioza și spermiogeneza (diferențierea fără diviziune), și duce la formarea spermatozoizilor. Prima etapă presupune diferențierea spermatogoniilor (celule germinale diploide mici) prin diviziunea mitotică în spermatocite primare. A doua etapă necesită meioză, în care celulele diploide – spermatocitele formează spermatide haploide rotunde. Etapa finală a spermatogenezei implică producerea de spermatozoizi maturi și mobili din spermatide rotunde, printr-un proces numit spermiogeneză. În oricare dintre aceste etape pot apărea tulburări funcționale, ceea ce poate duce la perturbarea întregului proces și la infertilitate. Până în prezent, o înțelegere cuprinzătoare a biologiei celulare și a geneticii spermatogenezei este dificilă, deoarece are loc într-un mediu testicular complex, caracterizat printr-o asociere strânsă a spermatozoizilor în curs de dezvoltare cu celulele suplimentare. Prin urmare, este necesar de a intensifica studiul mecanismelor dinamismului morfofuncțional al spermatogenezei și al reglării acesteia în general și la diferite etape.

Cuvinte-cheie**:** *spermatogeneză, spermatocitogeneză, meioză, spermiogeneză, spermatogonie, spermatocit, spermatidă, spermatozoid.*

MODERN APPROACHES TO MORPHOFUNCTIONAL DYNAMICS OF SPERMATOGENESIS PROCESS

This paper summarises modern approaches to the morphofunctional dynamics of spermatogenesis as a complex dynamic process with well-organised cellular and molecular events, which includes three specific basic functional steps - spermatocytogenesis (mitosis), meiosis and spermiogenesis (differentiation with no cell division), and leads to sperm production. The first stage involves the differentiation of spermatogonia (small diploid germ cells) by mitotic division into primary spermatocytes. The second stage requires meiosis, in which diploid cells - spermatocytes form round haploid spermatids. The final stage of spermatogenesis involves the production of mature, motile spermatozoa from round spermatids in a process called spermiogenesis. At any of these stages, functional disorders can occur, which can lead to disruption of the whole process and infertility. To date, a comprehensive understanding of the cell biology and genetics of spermatogenesis is difficult as it takes place in a complex testicular environment, characterised by a close association of developing spermatozoa with additional cells. Therefore, it is necessary to intensify the study of the mechanisms of the morphofunctional dynamics of spermatogenesis and its regulation in general and at different stages.

Keywords: *spermatogenesis, spermatocytogenesis, meiosis, spermiogenesis, spermatogonia, spermatocyte, spermatid, spermatozoon.*

Introducere

Conform conceptelor moderne, spermatogeneza este un proces cronologic îndelungat, care se caracterizează prin trei faze funcționale specifice: spermatocitogeneza, meioza și spermiogeneza și include, respectiv, formarea spermatogoniilor, spermatocitelor și spermatidelor. O mare varietate de factori sunt implicați în spermatogeneză și s-a raportat că 178 de gene și proteine joacă un rol important în procesul de auto-reînnoire și meioză în timpul spermatogenezei. Spermatogeneza este un proces dinamic cu evenimente celulare și moleculare bine organizate, care conduc la eliberarea unui număr mare de spermatozoizi cu capacitatea de continuare a vieții pe planeta Pământ.

Majoritatea organismelor constau din două linii celulare – celule somatice și celule germinale. Primele sunt necesare pentru generația actuală, în timp ce cele din urmă creează urmași. Celulele germinale mascu-

line și feminine se formează de regulă în timpul spermatogenezei și oogenezei, care au loc în testicule și, respectiv, ovare. Spermatogeneza include diferențierea celulelor stem spermatogonale în spermatocite prin diviziunea celulară mitotică și producerea de spermatide haploide din spermatocite primare tetraploide prin diviziunea celulară meiotică. Spermatidele dau ulterior naștere spermatozoizilor în faza finală a spermatogenezei, numită spermiogeneză. Aceste etape fundamentale, în care proliferarea mitotică precede meioza în timpul spermatogenezei, sunt observate la o mare varietate de organisme. Cu toate acestea, până în prezent, dezvoltarea unei înțelegeri cuprinzătoare a biologiei celulare și a geneticii spermatogenezei este dificilă pentru majoritatea speciilor, deoarece are loc într-un mediu testicular complex, caracterizat prin asocierea strânsă a spermatozoizilor în curs de dezvoltare cu celulele suplimentare.

Rezultate şi discuţii

Spermatogeneza este un proces fiziologic complex și continuu, care derulează în epiteliul seminal. Studiile au arătat, că un bărbat adult normal are nevoie în medie de 64 de zile pentru spermatogeneză și produce aproximativ 150 de milioane de spermatozoizi pe zi [1, 2]. Producerea spermatozoizilor maturi haploizi necesită trei procese principale: 1) celulele stem spermatogoniale (SSC) se auto-reînnoiesc prin mitoză multiplă. La baza epiteliului seminifer, porțiuni de spermatogonii de tip A se diferențiază în spermatogonii de tip B, acestea se diferențiază în continuare în spermatocite primare, care apoi intră în meioză; 2) Meioza. La debutul meiozei, spermatogoniile de tip B se diferențiază în spermatocite preleptotenice, care traversează bariera hematotesticulară (HTB) și intră în compartimentul adluminal. Ulterior, meioza împarte spermatocitele diploide în 4 spermatide rotunde haploide; 3) Spermiogeneza. Spermatidele rotunde suferă citodiferențieri, inclusiv condensarea cromatinei, formarea acrozomilor și formarea cozii. Morfologia spermatozoizilor se schimbă dramatic. În cele din urmă, spermatozoizii maturi sunt eliberați în lumenul tubilor seminiferi, proces, numit spermiație [3]. În procesul de spermatogeneză, puținele spermatogonii cu celule stem, care căptușesc baza tubilor seminiferi se divid prin mitoză pentru a menține numărul de celule stem proprii și produc ciclic spermatocite primare, acestea la rândul lor sunt supuse meiozei pentru a produce spermatide haploide, care se diferențiază în spermatozoizi, fiind eliminați ulterior în lumenul tubilor [4, 5]. Testicululele mamiferelor sunt formate din două compartimente principale: a) interstițiul, care conține celulele Leydig producătoare de testosteron și rețeaua de vascularizație a testiculului; b) tubii seminiferi, care conțin celule Sertoli somatice și celulele germinale în curs de dezvoltare cu care celulele Sertoli se asociază. Spermatogeneza începe cu celule stem spermatogoniale diploide, care se divid mitotic pentru a deveni spermatocite, urmează două diviziuni meiotice în rezultatul cărora se formează spermatide rotunde haploide, iar apoi are loc diferențierea spermatidelor în timpul spermiogenezei pentru a forma spermatide mature. Spermatidele mature intră apoi în epididim, unde se dezvoltă în spermatozoizi cu capacitatea de motilitate direcționată și de fertilitate. Diviziunea celulelor germinale și diferențierea are loc în asociere cu celulele Sertoli. Celulele Sertoli produc proteinele necesare spermatogenezei și, la rândul său, sunt parțial reglementate de modificările în celulele germinale în curs de dezvoltare la care sunt asociate. Interacțiunile complexe dintre celulele Sertoli și celulele germinale din jur sunt determinante pentru spermatogeneză [5, 6]. Celulele Sertoli se extind de la membrana bazală tubulară până la lumenul tubular [6, 7]. Diviziunea spermatogoniilor are loc în partea bazală a tubilor seminiferi, între membrana bazală a tubilor și joncțiunile strânse dintre celulele Sertoli adiacente. Deoarece celulele germinale intră în meioză ca spermatocite primare, ele se deplasează de la regiunea bazală a testiculului la cea adluminală, cu formarea de joncțiuni strânse între ele. Meioza implică împerecherea cromozomilor omologi și crossing-overul/recombinarea genetică între perechile lor. Acest lucru are ca rezultat producerea de spermatocite secundare haploide cu o structura genetică, care diferă unele de altele și de celula din care provin. Spermatocitele secundare și celulele lor derivate (spermatidele) exprimă antigene superficiale unice și, prin urmare, au nevoie de protecție împotriva sistemului imunitar. Joncțiunile strânse Sertoli-Sertoli formează o barieră hemato-testiculară, care ajută la protejarea celulelor meiotice și a celulelor germinale în curs de dezvoltare ulterioare de sistemul imunitar și de substanțele chimice potențial dăunătoare transmise prin sânge [4, 8].

Fazele spermatogenezei

1. Proliferarea spermatogonilor. Producția continuă de spermatozoizi și, prin urmare, fertilitatea masculină necesită menținerea unui grup de SSC și diferențierea reglementată a unui subset al acestor celule

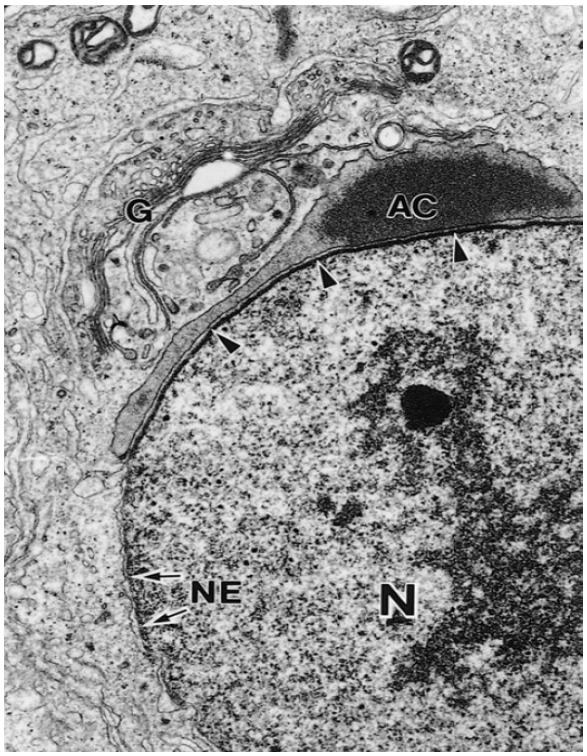
[9]. SSC reprezintă celule unice (As), care codifică subunități ale receptorului factorului neurotrofic al liniei celulare gliale (GDNF) Ret și GFRa1, precum și factorul de transcripție PLZF. SSC-urile nu exprimă Kit, acesta fiind exprimat prin spermatogonii mai mature, diferențiate. SSC sunt destul de puține: șoarecii au aproximativ 30 000 SSC/testicul. În cultură sau după introducerea în blastocist, celulele stem sunt capabile să dea naștere la linii ectodermice, mezodermice și endodermice, indicând pluripotența lor. Divizarea și diferențierea ulterioară a SSC sunt reglementate, cel puțin parțial, de factorii proveniți din mediul lor (nișa lor). Nișa este parțial formată din celule Sertoli, care secretă GDNF, precum și alți factori de creștere care sunt implicați în reglare [5]. Studiul cu implicarea șoarecilor transgenici au arătat, că GDNF participă la suprimarea diferențierii SSC și, prin urmare, la menținerea populațiilor SSC. În schimb, inhibarea transmiterii semnalelor GDNF reduce replicarea cu auto-reînnoirea SSC, permițând astfel formarea spermatogoniei progenitoare în procesul de diferențiere. Spermatogoniile progenitoare se replică, dând naștere la spermatogonii complet diferențiate. După ultima lor diviziune, spermatogoniile intră în meioză ca spermatocite preleptotice. Aceste celule migrează în sus de la baza tubului seminifer și traversează joncțiunea Sertoli-Sertoli. O mare parte din ceea ce se știe despre funcția și reglarea SSC provine din studiile asupra șoarecilor. Trebuie remarcat, însă, că aceste procese la șoareci și la oameni sunt semnificativ diferite [4, 10]. Spre deosebire de șoareci, în cazul oamenilor și al altor primate există două populații de SSCs: celule stem mitotic active, numite spermatogonii A pale (Ap), care susțin spermatogeneza în testicului normal; și celule stem de rezervă numite spermatogonii A dark (Ad), care proliferează după pierderea unui număr semnificativ de celule spermatogene. Celulele stem/progenitoare diferă, de asemenea, de omologii lor la șoareci prin faptul, că se divid doar o dată sau de două ori înainte de diferențiere. În pofida numărului limitat de repetări, numărul de spermatozoizi, produși per gram de testicul uman este similar la om și la șoareci, sugerând, că numărul de celule stem/progenitoare din testiculele umane ar trebui să fie mult mai mare decât la șoareci. Se consideră, că GDNF joacă un rol important *in vivo* atât în reglarea spermatogenezei atât la om, cât și la șoareci. Ca și în cazul șoarecilor, celulele Sertoli umane exprimă ARNm GDNF, iar transcrierile care codifică subunitățile receptorului GDNF GFRA1 și RET sunt depistate în spermatogoniile izolate atât din testiculele șoarecelui, cât și umane. În plus, GFRA1, domeniul de legare a ligandului receptorului GDNF, este exprimat în spermatogoniile umane Ap și Ad.

2. Meioza. Ca urmare a meiozei, se formează spermatide haploide [11]. În meioză replicarea ADN-ului are loc în timpul fazei S a interfazei. Imediat după replicarea ADN-ului, celulele intră în profaza meiozei (meioza I). În leptoten, prima etapă a primei profaze a meiozei, cromozomii devin vizibili în nuclei, fiecare dintre care constă din două cromatide surori. În timpul zigotenului, cromozomii omologi încep să se împerecheze, ceea ce este facilitat de formarea unui complex sinaptonemal. În timpul pachitenului, cromozomii omologi se împerechează complet și sunt supuși ruperii și reuniriii cromozomiale, urmând recombinarea genetică. În timpul diplotenului, complexul sinaptonemal începe să se distrugă, iar cromozomii omologi se separă unul de celălalt, rămânând legați prin chiasme, regiuni în care a avut loc crossing-overul. La femelele mamiferelor, ovocitele se dezvoltă până la acest stadiu înainte de naștere și rămân în această stare până la reluarea meiozei în timpul pregătirii pentru ovulație. La masculi nu există întârziere a meiozei și, cel mai probabil, procesul este continuu. În diakineză cromozomii se condensează și începe să se formeze fusul meiotic. În metafaza I cromozomii omologi se aliniază în placa de metafază. În anafaza I, cromozomii omologi, fiecare dintre care constă dintr-o pereche de cromatide surori, se deplasează către poli opuși. Prima diviziune meiotică se termină, de fapt, atunci când cromozomii ajung la poli în telofază. Celulele-fiice au un număr haploid de cromozomi, iar fiecare cromozom este format dintr-o pereche de cromatide. Meioza II nu este precedată de sinteza ADN-ului. Cromatidele se separă în celulele fiice rezultate, astfel încât spermatidele haploide primesc jumătate din cantitatea de ADN.

Meioza este un proces complex, supus multor erori și defecte. În acest proces, pot apărea spermatocite apoptotice, despre care se știe că apar frecvent. Uneori pot apărea megalospermatocite, care reprezintă spermatocite foarte mari. În aceste celule, cromozomii omologi nu reușesc să se împerecheze într-un proces numit asinapsie, determinând celulele să devină abortive. Mai mult, spermatogeneza se poate opri la stadiul spermatocitelor primare, încetând modificările morfologice ale celulelor. Se poate observa, că spermatocitele primare mărginesc lumenul tubilor seminiferi. Acestea nu se vor dezvolta în continuare, ceea ce va duce la descompunerea celulelor și la oprirea formării spermatidelor [12].

3. Spermiogeneza. Spermatidele, produse ale meiozei, se maturizează pentru a deveni spermatide alungite (cunoscute și sub numele de spermatozoizi) în timpul spermiogenezei [13]. Maturarea parțială a spermatidei presupune alungirea nucleară și condensarea cromatinei, aceasta din urmă rezultând din înlocuirea histonelor cu protamină bogată în arginină și cisteină în timpul alungirii spermatidei. Condensarea nucleară are ca rezultat cromatina, inactivă din punct de vedere transcripțional, împachetată compact. Maturarea spermatidelor include, de asemenea, formarea unei vezicule acrozomale de către aparatul Golgi și localizarea ulterioară a acesteia peste nucleu (Fig. 1). Acrozomul conține enzime hidrolitice, necesare pătrunderii spermatozoizilor prin membrana celulelor ovulului în timpul fertilizării.

Fig. 1. Microscopie electronică a stadiului de formare a veziculei acrozomale (Å~18000). AC – acrozom; G – aparat Golgi; N este nucleul; NE – membrană nucleară. (conform [14]).



În plus se formează coada spermatozoizilor, iar mitocondriile se adună la baza nucleului, formând partea mijlocie a testiculului spermatozoizilor, lipsită de mobilitate sau de capacitatea de a pătrunde în ovul, ulterior dobândesc ambele calități în epididim [4, 5].

Structura cozii spermatozoidului se aseamănă foarte mult cu un ciliu mobil prin faptul, că axonemul are un aranjament de 9+2 microtubuli. Prin urmare, defectele genetice depistate în cilii mobili pot afecta semnificativ formarea cozii spermatozoizilor. O boală genetică numită dischinezie ciliară primară (DCP) din cauza unei malformații a cililor mobili provoacă boli pulmonare, un risc crescut de infecții și infertilitate masculină. Multe gene sunt asociate cu DCP, cu toate acestea, efectul exact al acestor gene mutante asupra spermatogenezei este încă în curs de investigare [12].

Studiile anterioare au arătat, că citoscheletele pe bază de microfilament sunt deosebit de importante pentru spermatogeneză [15]. Pe lângă faptul, că reprezintă o cale de transport molecular microfilamentele mai asigură spermiogeneza, transportul spermatidelor alungite și spermiația. Testiculele mamiferelor au structuri citoscheletice subcelulare specializate pe bază de actină [5, 14]. Actina monomerică globulară (G-actina) este unitatea de bază, care alcătuiește microfilamentul, numit actină filamentoasă (F-actină) [16, 17]. Ca și în cazul microtubulilor, ratele de polimerizare și depolimerizare la ambele capete ale microfilamentelor sunt diferite. Capătul la care microfilamentele cresc rapid este numit „capăt ghimpat" [18]. Pe baza modificărilor dinamice ale actinei microfilamentele sunt implicate într-o serie de evenimente celulare, cum ar fi migrația celulară, diviziunea celulară, morfogeneza celulară și autofagia [4, 19, 20, 21]. Polimerizarea scheletului microfilamentului necesită o combinație de diferite proteine: celor care leagă actina și celor reglatoare ale actinei. Proteinele care leagă actina și cele care reglează direct polimerizarea actinei și organizarea citoscheletică pe bază de actină, acționează ca molecule efectoare prin căi de semnalizare, răspunzând la semnalele extracelulare. Acestea posedă activitate semnificativă de modulare a actinei în testicule. Modificarea nivelurilor lor de expresie prin ARN interference (ARNi), knockout-ului condiționat sau supraexpresie duce la defecte severe în spermatogeneză, demonstrând faptul, că acestea sunt indispensabile pentru spermatogeneză. Mai mult, rețeaua lor de interacțiuni și relațiile de reglementare încă mai necesită a fi explicate. Fiind unul dintre elementele importante ale citoscheletului, rețeaua de microfilamente nu numai că oferă suport structural pentru morfologia și mișcarea celulelor, dar mai participă și la transportul moleculelor de miozină intracelulară [22, 23]. Perturbarea citoscheletului pe bază de actină în timpul spermatogenezei poate afecta fertilitatea masculină [24, 25]. Infertilitatea observată clinic poate fi cauzată de dinamica anormală a actinei. Un complex heterolog, constând din calea de semnalizare a actinei

AMPK/LKB1 și PI3K/Akt reglează rețeaua de actină. Semnalul extracelular, incluzând factori de creștere, nutrienți, hormoni etc., joacă un rol-cheie în menținerea și reglarea spermatogenezei. Astfel, structurile bogate în actină de specializare ectoplasmatică asigură o aderență mai puternică între celulele epiteliului canalului deferent. Prin urmare, spermatidele în curs de dezvoltare pot adera strâns la celulele Sertoli în timpul spermiogenezei și spermiării [4, 5].

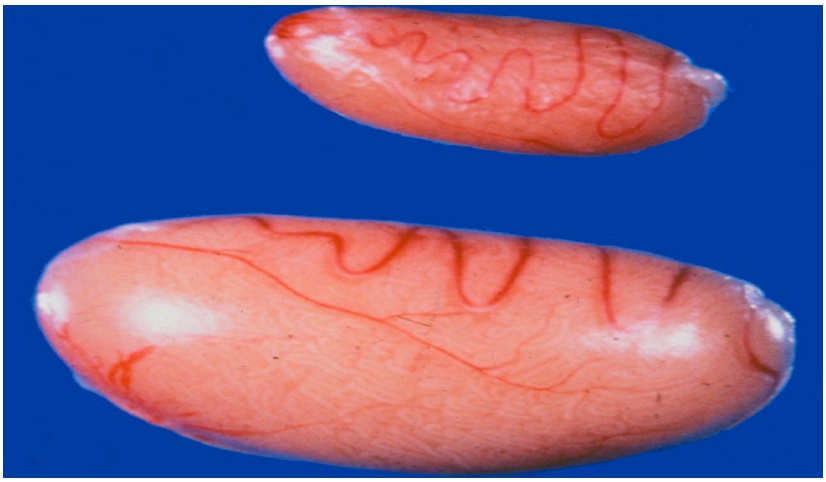
Ciclul epiteliului seminal

Spermatogeneza este un proces continuu care, așa cum este descris mai sus, include proliferarea și diferențierea spermatogoniilor, meioza și spermiogeneza [4, 6]. Spermatozoizii sunt produși în mod constant, de la pubertate până la bătrânețe. În orice locație dată de-a lungul tubilor seminiferi, se observă dezvoltarea simultană a cohortelor de spermatogonii, spermatocite și spermatide. Spermatogoniile sunt situate de-a lungul membranei bazale, spermatocitele – mai aproape de lumenul tubului, iar spermatidele sunt cel mai aproape de lumen. Celulele nu sunt distribuite aleatoriu, dar oriunde de-a lungul tubului, acestea sunt organizate în stadii bine definite, determinate de patru-cinci cohorte de celule germinale [5]. Orice secțiune transversală a tubilor seminiferi conține una sau două generații de spermatogonii, una sau două generații de spermatocite și una sau două generații de spermatide. Diferitele generații de celule germinale formează stadii morfologice identificabile, definite de seturi specifice de asociații celulare, care se succed în timp în orice zonă dată a tubilor seminiferi. Diferitele regiuni ale unui tub seminifer dat vor conține diferite etape ale ciclului, al căror rezultat final este producția continuă și asincronă de spermă. Asociațiile celulare prezente în orice locație dată se schimbă în timp, pe măsură ce celulele se diferențiază. Seria de asociații celulare, care în cele din urmă produc spermatozoizi din spermatogonii se numește ciclul tubului seminifer. Termenul „ciclu” este utilizat deoarece orice asociație de celule particulară prezentă la un moment și într-un loc dat va fi depistată din nou la un moment ulterior în aceeași locație tubulară. Ciclul continuă din momentul pubertății pe toată durata vieții masculului. Timpul necesar pentru formarea spermatozoizilor din spermatogonii variază în funcție de specie. La om, spermatogeneza are loc în aproximativ 64 de zile, iar la șobolani aproximativ în 48 de zile. Celulele nu se deplasează lateral pe lungimea tubilor. Cu toate acestea, observarea de-a lungul lungimii tubului arată, că etapele sunt situate în mare parte în ordine succesivă, deși există scurte inversiuni ale acestei ordini segmentare, numite modulații. Ordinea secvențială a etapelor de-a lungul tubilor constituie așa-numita „undă a epiteliului seminal”.

Reglarea hormonală și paracrină a spermatogenezei

Este cunoscut faptul, că o serie de factori, atât endocrini, cât și paracrini, reglează supraviețuirea celulelor germinale în timpul spermatogenezei. Testosteronul, produs de celulele Leydig din compartimentul interstițial al testiculului, este necesar pentru spermatogeneză [26]. O scădere prelungită a concentrației de testosteron intratesticular poate duce la o pierdere semnificativă a celulelor germinale și astfel la o scădere a volumului testicular și, în cele din urmă, la infertilitate [4, 27] (Fig. 2).

Fig. 2. Impactul scăderii pe termen lung a concentrației de testosteron intratesticular asupra volumului testicular. Scăderea volumului testicular apare din cauza pierderii celulelor germinale (conform [4]).



Sunt puțin cunoscute mecanismele celulare și moleculare, care stau la baza reglării spermatogenezei de către testosteron. Situația este complicată de faptul că celulele germinale, a căror supraviețuire depinde de concentrații adecvate de testosteron, nu exprimă receptori de androgeni. Se consideră, că scăderea concentrației intratesticulare a testosteronului este mediată de expresia receptorilor androgeni somatici. Pe lângă testosteron, menținerea spermatogenezei poate depinde și de preparatele foliculostimulante, hormonul foliculostimulant (FSH). Celulele Sertoli conțin receptori atât pentru testosteron, cât și pentru FSH. Factorii paracrini din celulele Sertoli, dintre care unii pot fi reglați de testosteron, joacă un rol important în reglarea spermatogenezei. Hormonul FSH stimulează proliferarea spermatogoniilor, în timp ce testosteronul susține spermatogeneza [5, 28]. Estrogenul, precum și factorii de creștere, cum ar fi insulina și acidul retinoic, sunt, de asemenea, necesari pentru spermatogeneza la mamifere [29].

Astfel, producția de gameți masculini este esențială pentru supraviețuire și reproducere. Spermatogeneza este un proces lung și ordonat prin care spermatozoizii se formează în tubii seminiferi și sunt clasificați în: spermatocitogeneză (mitoză), meioză și spermiogeneză (diferențiere fără diviziune). Spermatocitogeneza implică diviziunea celulelor mitotice pentru a crește producția de spermatozoizi și formarea de celule stem și spermatocite primare. Spermiogeneza reflectă un exemplu de neegalat al diferențierii celulare la elaborarea sistemului enzimatic penetrant și autopropulsat pentru genomul masculin, spermatozoizi.

Concluzii

1. Spermatogeneza reprezintă un proces ordonat și îndelungat de formare a spermatozoizilor în tubii seminiferi cu implicarea a peste 45 de gene, care include spermacitogeneza (mitoza), meioza și spermiogeneza (diferențierea fără diviziune). Până în prezent, o înțelegere multilaterală a biologiei celulare și a geneticii spermatogenezei este dificilă pentru majoritatea speciilor, deoarece are loc într-un mediu testicular complex, caracterizat prin asocierea strânsă a spermatozoizilor în curs de dezvoltare cu celule suplimentare.

2. Celulele stem spermatogonale sunt esențiale pentru menținerea spermatogenezei pe tot parcursul vieții și elucidarea modului în care aceste celule funcționează este crucială pentru înțelegerea mecanismului infertilității masculine. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a obține o mai bună înțelegere a dinamicii SSC.

3. Diviziunea celulelor sexuale **și diferențierea are loc în asociere cu celulele Sertoli**, care produc proteinele necesare spermatogenezei și, la rândul lor, sunt parțial reglementate de modificările în celulele germinale în curs de dezvoltare cu care sunt asociate. Interacțiunile complexe dintre celulele Sertoli și celulele germinale **înconjurătoare au un rol decisiv pentru spermatogeneză.**

4. Degenerarea celulelor germinale poate avea loc pe tot parcursul spermatogenezei, dar în special – în timpul spermatocitogenezei, meiozei și poate varia în funcție de dezvoltarea sexuală, vârstă și specie.

5. Modificările celulare și moleculare din timpul spermatogenezei sunt strict reglementate de factori externi și interni, care în unele condiții pot perturba derularea fiziologică a acestui proces. Reglarea complexă celulară, paracrină și endocrină a spermatogenezei mamiferelor prezintă o provocare majoră pentru înțelegerea cuprinzătoare a acestui proces.

6. Tulburările în orice stadiu al spermatogenezei pot duce la formarea de gameți nefuncționali sau embrioni anormali, astfel importanța studierii riscurilor legate de infertilitatea masculină este evidentă.

Referințe:

1. MISELL, L.M., HOLOCHWOST, D., BOBAN, D., ET AL. A Stable Isotope-Mass Spectrometric Method for Measuring Human Spermatogenesis Kinetics In Vivo // *The Journal of Urology*, 2006, 175(1), p. 242-246.
2. AMANN, R.P., HOWARDS, S.S. Daily spermatozoal production and epididymal spermatozoal reserves of the human male // *J. Urol,* 1980 (124), p. 211-215.
3. NISHIMURA, H., L'HERNAULT, S.W. Spermatogenesis // *Curr. Opin. Cell Biol*, 2017, 27, p. 988-994.
4. GOLDBERG, E., ZIRKIN, B. R. Spermatogenesis: Overview // *Encyclopedia of Reproduction*. 2018, p. 13-18.

5. TONG YANG, WAN-XI YANG. The dynamics and regulation of microfilament during spermatogenesis // *Gene,* 2020, 744:144635.
6. RUSSELL, L. D., ETTLIN, R. A., SINHA HIKIM, A. P., CLEGG, E. D. *Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater*, Florida: Cache River Press, 1990, 286 pag.
7. RUSSELL, L. D., TALLON-DORAN, M. Three-dimensional reconstruction of a rat stage V Sertoli cell: 111. A study of specific cellular relationships // *American Journal of Anatomy*, 1983, Vol. 167, p. 181-192.
8. FRANÇA, L.R., HESS, R.A., DUFOUR, J.M., ET AL. The Sertoli cell: One hundred fifty years of beauty and plasticity // *Andrology*, 2016, Vol. 4, p. 189-212.
9. DE ROOIJ, D. G. The nature and dynamics of spermatogonial stem cells // *Development*, 2017, Vol. 144, p. 3022-3030.
10. SINGH, D., PADUCH, D. A., SCHLEGEL, P. N., ET AL. The production of glial cell line-derived neurotrophic factor by human Sertoli cells is substantially reduced in Sertoli cell-only testes // *Human Reproduction*, 2017, Vol. 32, p. 1108-1117.
11. GRISWOLD, M.D. Spermatogenesis: The commitment to meiosis // *Physiological Reviews*, 2016, Vol. 96, p. 1-17.
12. SUEDE, SH., MALIK, A., SAPRA, A. *Histology, Spermatogenesis*. 2023 Mar 6 // StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. PMID: 31985935.
13. O'DONNELL, L. Mechanisms of spermiogenesis and spermiation and how they are disturbed // *Spermatogenesis*, 2015;4(2): e979623.
14. GARTNER, L. P. *Textbook of histology* / L. P. Gartner. 4nd ed., Philadelphia, PA: Elsevier, 2017, 655 p.
15. FLAHERTY, S. P., WINFREY, V. P., OLSON, G. E. Localization of actin in mammalian spermatozoa: a comparison of eight species // *Anat. Rec,* 1986, Vol. 216, p. 504-515.
16. KIERSZENBAUM, A. L., TRES, L. L. The acrosome-acroplaxome-manchette complex and the shaping of the spermatid head // *Arch. Histol. Cytol*, 2004, Vol. 67, 271-284.
17. WINDER, S.J., AYSCOUGH, K.R. Actin-binding proteins // *J. Cell Sci*, 2005, Vol. 118, p. 651-654.
18. SU, W., MRUK, D. D., CHENG, C. Y. Regulation of actin dynamics and protein trafficking during spermatogenesis–Insights into a complex process // *Biochem. Mol*, *Biol*, 2013, Vol. 482, p. 153-172.
19. DA COSTA S. R., OKAMOTO C. T., HAMM-ALVAREZ S. F., ET AL. Actin microfilaments – the many components, effectors and regulators of epithelial cell endocytosis // *Adv. Drug Deliv, Rev*, 2003, Vol. 55, p. 1359-1383.
20. XIAO, X., MRUK, D. D., TANG, E. I., ET AL. N-wasp is required for structural integrity of the blood-testis barrier // *PLoS Genet*, 2014, Vol. 10, e1004447.
21. DUNLEAVY, J. E. M., O'BRYAN, M., STANTON, P. G., O'DONNELL, L. The cytoskeleton in spermatogenesis // *Reproduction*, 2019, Vol. 157, p. 53-72.
22. ZAKRZEWSKI, P., LENARTOWSKI, R., RĘDOWICZ, M. J., ET AL. Expression and localization of myosin VI in developing mouse spermatids // *Histochem. Cell Biol*, 2017, Vol. 148, p. 445-462.
23. LI, L., TANG, E. I., CHEN, H., ET AL Sperm release at spermiation is regulated by changes in the organization of actin- and microtubule-based cytoskeletons at the apical ectoplasmic specialization-A study using the adjudin model // *Endocrinology*, 2017, Vol. 158, p. 4300-4316.
24. JOHNSON, K. J. Testicular histopathology associated with disruption of the Sertoli cell cytoskeleton // *Spermatogenesis,* 2015;4(2): e979106.
25. LI, N., LEE, W. M., CHENG, C. Y. Overexpression of plastin 3 in Sertoli cells disrupts actin microfilament bundle homeostasis and perturbs the tight junction barrier // *Spermatogenesis*, 2016;6(1): e1206353.
26. ZIRKIN, B. R. Spermatogenesis: Its regulation by testosterone and FSH // *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 1998, Vol. 9, p. 417-421.
27. WANG, C., FESTIN, M. P., SWERDLOFF, R. S. Male hormonal contraception: Where are we now? // *Current Obstetrics and Gynecology Reports*, 2016, Vol. 5, p. 38-47.
28. WALKER, W. H. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis // *Spermatogenesis,* 2011, Vol. 1, p. 116-120.
29. SMITH, L. B., WALKER, W.H. The regulation of spermatogenesis by androgens // *Semin. Cell Dev. Biol,* 2014, Vol. 30, p. 2-13.

Date despre autori:
***Vladimir ȘEPTIȚCHI**,* doctor habilitat în științe biologice, conferenţiar cercetător, cercetător ştiinţific principal, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, USM.
E-mail: septitchi@mail.ru
ORCID: 0000-0002-6306-7021

Ana LEORDA, doctor în științe biologice, conferenţiar cercetător, cercetător ştiinţific coordonator, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, USM.
Email: leorda-ana64@mail.ru
ORCID: 0000-0002-2923-8843

Viorica RAISCHI, doctor în științe farmaceutice, cercetător ştiinţific superior, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, USM.
E-mail: vioricalana@gmail.com
ORCID: 0000-0003-3392-364

Olesea GROSUL-RAILEANU, doctorandă, Școala doctorală științe biologice, geonomice, chimice și tehnologice, USM**.**
Email: railianu.radu@yandex.com
ORCID: 0000-0002-4305-3503

Notă: *Articolul a fost elaborat în cadrul proiectului: 20.80009.7007.25. – Metode şi procedee de menţinere şi conservare a biodiversităţii în funcţie de integritatea gametogenezei şi variabilitatea alimentară.*

Prezentat la 03.04.2023

CZU: 632.95:[631.4 + 613]

INFLUENȚA TOXICOLOGICĂ A PESTICIDULUI DECIS ASUPRA SĂNĂTĂȚII SOLULUI ȘI A SĂNĂTĂȚII UMANE

Aurelia CRIVOI, Gheorghe JIGĂU, Iurie BACALOV, Elena CHIRIȚA, Adriana DRUȚA

Universitatea de Stat din Moldova

Preparatul Decis face parte din grupul de produse de uz fitosanitar cu impact redus asupra componentelor mediului. Asupra solului, acțiunea lui se realizează prin impactul asupra activității vitale a microbiomului acestuia, suprimarea sistemelor fermentative de bază și proceselor metabolice participante la pedogeneza și nutriția plantelor. Acțiunea toxică a preparatului Decis asupra microbiomului solului se intensifică pe fondul unor tratări cu preparate din grupa celor cu impact puternic (Nurela- D, Zolon) și moderat (Delan). Impactul preparatului Decis asupra sistemului sismpato-adrenal al omului este în funcție de dozele administrate. Acțiunea acestuia în doză de 1,2 mg/kg asupra nivelului de catecolamine conduce la dezechilibru aminelor, iar folosirea acestuia în doze mai mari (2,0 și 2,4 mg/kg) conduce la mărirea bruscă a nivelului de adrenalină și noradrenalină în țesuturile organelor studiate.

Cuvinte-cheie: *toxicologie, pesticide, sănătate, dăunători, culturi agricole, protecția plantelor, sol.*

TOXICOLOGICAL INFLUENCE OF DECIS PESTICIDE ON SOIL AND HUMAN HEALTH

The Decis preparation is part of the group of phytosanitary products with low impact on environmental components. On the soil, its action is achieved through the impact on the vital activity of its microbiome, the suppression of the basic fermentation systems and the metabolic processes involved in pedogenesis and plant nutrition. The toxic action of the Decis preparation on the soil microbiome intensifies against the background of treatments with preparations from the group of those with a strong (Nurela-D, Zolon) and moderate (Delan) impact. The impact of the Decis preparation on the human sympathoadrenal system depends on the administered doses. Its action in a dose of 1.2 mg/kg on the level of catecholamines leads to an imbalance of amines, and its use in higher doses (2.0 and 2.4 mg/kg) leads to a sudden increase in the level of adrenaline and noradrenaline in the tissues of the studied organs.

Keywords: *toxicology, pesticides, health, pests, agricultural crops, plant protection, soil.*

Introducere

Evaluarea problemei

Prin prisma conceptului funcțiilor eco/ și agroecosistemice a solurilor în calitatea lor de element de bază a eco/ agroecosistemelor este în sporire interesul pentru sănătatea solurilor de care se află în dependență directă sănătatea componentelor de mediu și a oamenilor. Aceasta implică necesitatea utilizării strict controlate a produselor de uz fitosanitar și a fertilizanților, impactul cărora în cadrul tehnologiilor agricole intensive practicate în agricultura contemporană este în permanentă sporire. În acest context, chiar și în cadrul tehnologiilor agricole pedoconservative/ pedoregenerative, produsele de uz fitosanitar sunt promovate în scopul reducerii numărului de perturbare a solurilor. În același timp, este bine cunoscut că utilizarea acestora implică mai multe riscuri ambientale, inclusiv și a celui de poluare a produselor agroalimentare și furajelor, de asemenea, pătrunderea acestora în organismul uman, iar ca urmare afectarea mai multor organe și sisteme din organismul omului, inclusiv cel endocrin. Impactul acestora este diferit în funcție de grupa de produse de uz fitosanitar. Compușii carbonilici, de exemplu, au acțiuni specifice asupra glandei tiroide și celor sexuale. Erbicidele afectează, prioritar, funcția glandei tiroide, iar substanțele clor organice, sistemul hipofizo-adrenal [1].

În pofida celor menționate la etapa actuală de dezvoltare a agriculturii, renunțarea totală la utili-

zarea produselor de uz fitosanitar este de neconceput. În schimb, este posibilă reducerea impactului acestora prin intermediul managementului sustenabil al sănătății solului de care este în dependență directă sănătatea producției agro vegetale. În acest context, cercetările mai multor autori au constatat, că în condițiile când produsele de uz fitosanitar nu au impact direct asupra solurilor, acțiunea acestora se realizează prin impactul asupra activității biologice a pedomicrobiocenozei, suprimarea sistemelor fermentative de bază și proceselor metabolice participante la procesul de pedogeneză și nutriția plantelor.

Conform autorilor citați [2, 3, 4] în funcție de impactul asupra pedomicrobiocenozei solului produsele de uz fitosanitar mai frecvent utilizate se împart în mai multe grupe: a) cu acțiune toxică puternică - nurel -D, zolon; b) moderată: Delon, Baileton; c) slabă - Decis, Carată, Fastak; d) practic inofensive - skor, horus, fundazol, zeama bordoleză, topsin -M. S-a stabilit că acțiunea preparatului Decis asupra microbiozei sodiului se intensifică în perioadele cu activitate redusă a microbiomului solului cauzată fie de post acțiunea unor preparate utilizate anterior, fie din condițiile vitale nefavorabile. În acest sens, s-a stabilit că administrarea preparatului Decis în perioada timpurie de primăvară, când condițiile climaterice sunt instabile, iar regimul temperaturilor este nefavorabil conduce la reducerea capacității de adaptare - protecție a pedobiocenozei la acțiunea acestuia.

Impactul toxic al preparatelor cu toxicitate slabă asupra biozei solului sporește în condiții de degradare bioenergetică și biofizică a solurilor. În același timp, capacitatea naturală de auto reproducere a activității solurilor nu suferă modificări semnificative, ca urmare în condiții optimale ale regimului hidrotermic (mai- iunie) aceasta se restabilește. În acest context, managementul impactului produselor de uz fitosanitar asupra pedobiocenozei și funcționalității acesteia presupune două componente de bază: a) folosirea rațională și controlată a acestora și b) asigurarea unui cadru biohidrotermic și bioaerohidric optimal în cadrul unor tehnologii bioremediative.

Cercetătorii [5,6] au demonstrat prin experimente efectuate pe animale de laborator, că acțiunea îndelungată a pesticidelor mărește frecvența și durata bolilor sistemului cardiovascular, bolilor hipertonice, bolilor sistemului endocrin, bolilor sistemului nervos periferic, a vaselor creierului, de asemenea, dereglează metabolismul de lipide, precum și schimbă conținutul de fosfolipide și a colesterinei în organism. De aceea pesticidele se consideră ca factori ce duc la acutizarea bolii, la prelungirea duratei și la dereglarea mecanismelor de adaptare a organismului.

Conform literaturii de specialitate [7], la diverse grupe de pesticide se observă un caracter diferit de acțiune asupra sistemului endocrin, astfel substanțele clor organice prezente atacă mai mult hipofiza și sistemul adrenal, compușii carbonilici au acțiune specifică asupra glandelor sexuale și a glandei tiroide. În mecanismul de adaptare și apărare un rol important le aparține catecolaminelor, factor principal al sistemelor centrale și periferice simpatoadrenale și serotoninohormonale cu un spectru larg de acțiune.

Pentru a explica starea schimbului catecolaminelor și serotoninei la persoanele care au contactat cu pesticidele s-au realizat studii experimentale de laborator, în urma cărora s-a determinat adrenalina, noradrenalina, dopamina și metaboliții serotoninici. La majoritatea persoanelor sănătoase s-a constatat mărirea activității funcționale simpatice a sistemului simpato-adrenal, care demonstrează mărirea aproape de două ori în comparație cu controlul relației noradrenalnă - adrenalină, datorită măririi cantității de noradrenalină. Schimbările fixate arată că a avut loc coordonarea sistemului simpato-adrenal ce a fost îndreptat spre menținerea homeostaziei.

Rezultate interesante au fost observate la șobolanii care au intrat în contact cu diferite pesticide. Dacă eliminarea adrenalinei practic nu s-a schimbat, apoi eliminarea noradrenalinei simțitor s-a micșorat, deci s-a intensificat eliminarea metaboliților. Starea sistemului simpato-adrenal se caracterizează prin inhibarea funcției simpatice pe fondalul măririi descompunerii catecolaminelor și slăbirea rezervelor endogene [7]. Contactarea cu diferite pesticide după natura lor chimică duce la schimbări tipice, dar diferite după intensitate, ceea ce remarcă caracterul lor nespecific.

Din cele menționate mai sus putem remarca că pesticidele acționează activ asupra organismului și deci trebuie folosite doar acele substanțe cu acțiune de scurtă durată care se descompun peste câteva ore sau zile după întrebuințare.

Material şi metode de cercetare

În cadrul prezentei lucrări, în baza analizei sintetice a surselor de literatură şi rezultatelor testării efectuate în condiţii de producţie, este evaluat impactul preparatului Decis asupra solurilor şi organismelor vii.

Pentru studierea bilanţului catecolaminelor sub acţiunea pesticidului Decis a fost necesar de selectat obiectele biologice, care au o dezvoltare înaltă a sensibilităţii şi termoreglării la schimbarea factorilor mediului extern. Cercetările s-au realizat pe un grup de 67 şobolani albi de laborator – masculi, de aproximativ aceeaşi vârstă, cu masa corporală de 250 g.

Şobolanii menţinuţi în condiţii de laborator şi repartizaţi pe grupe: martor cărora li se administra 1 ml de soluţie fiziologică (0,9 %) şi grupe de şobolani cărora li s-a administrat zilnic peroral pesticidul Decis în următoarele concentraţii –1,2 mg/kg; 2,0 mg/kg; 2,4 mg/kg. După expirarea termenului au fost decapitaţi pentru determinarea concentraţiei de adrenalină. Au fost folosite următoarele organe interne: suprarenalele, inima, rinichii, ficatul şi muşchii scheletali.

Pentru determinarea concentraţiei catecolaminelor în ţesuturi s-a folosit metoda (A. Ş. Maltina, T. B. Rahman, 1967), cu unele modificări (de I. D.Cusmanova, 1973). Principiul de diferenţiere a determinării adrenalinei şi noradrenalinei se bazează pe proprietăţile acestor substanţe de a se oxida în diferite PH-uri ale mediului. La PH-4,2 în prezenţa erecianidului cu catecolamine se oxidează adrenalina, iar la mărirea PH-6,2 se oxidează noradrenalina. În rezultatul prelucrării de mai departe se formează catecolaminele corespunzătoare care au o fluorescenţă specifică, această metodă se efectuează pe etape.

Organele cercetate se extirpează, se cântăresc şi imediat se introduc în azot lichid. Ţesuturile se trec în mojare de porţelan, care se găsesc pe gheaţă şi conţin 1 ml de acid percloric (0,4 n de $HClO_4$) şi 10 mg de trilon B, pentru a împiedica în mediul de reacţie formarea precipitatului coloid calciu-fosfor.

Ulterior ţesuturile se frecţionează minuţios cu 14 ml de acid percloric cu scopul de a precipita proteinele. Amestecul se agită şi se lasă la întuneric timp de 30 minute. Apoi amestecul se trece în eprubetele pentru centrifugă răcite, iar mojarul se clăteşte cu 5 ml de acid percloric. Centrifugarea se efectuează la 4^0C timp de 15 minute cu viteza de 4000 rot/min.

Supernatantul (17 ml de filtrat) se varsă în eprubete răcite în prealabil. Atent se adaugă câte o picătură de carbonat de calciu la agitarea permanentă până la PH-3-4. În acest timp se depune un precipitat alb floconos (perclorat de calciu), care se înlătură prin centrifugare la rece timp de 5 minute la 3000 rot/min. Supernatantul se varsă în eprubete curate şi se aduce la 1n soluţie de amoniac până la PH - 3,4.

Rezultatele obţinute şi discuţii

În sistemul simpato-adrenal pot avea loc variaţii în conţinutul catecolaminelor din ţesuturi, în rezultatul unui şir de factori, particularităţile individuale ale animalelor (greutatea corporală, vârsta, sexul), anotimpul cercetărilor ş.a.m.d. De aceea, am ales pentru cercetări animale de acelaşi sex (masculi), care au avut aproximativ aceeaşi greutate şi vârstă.

În lotul martor unde a fost determinat conţinutul adrenalinei şi noradrenalinei în ţesuturile organelor: suprarenalele, inima, rinichii, ficatul şi muşchii scheletali. Rezultatele obţinute demonstrează că ţesutul suprarenalelor este cel mai bogat în adrenalină - 157 mkmoli/kg şi noradrenalină – 346 mkmoli/kg, cu un decalaj considerabil. Iar în celelalte ţesuturi concentraţia noradrenalinei este puţin mai ridicată ca conţinutul adrenalinei. Un şir de cercetări au evidenţiat faptul că adrenalina şi noradrenalina se conţine în toate ţesuturile diferitor organe la animale.

O altă sarcină a cercetării a constat în studierea nivelului catecolaminelor în ţesuturile organelor la şobolanii cărora li s-a administrat pesticidul Decis. După cum cunoaştem, răspunsul nespecific al organului la o varietate de stimuli percepuţi ca un pericol pentru homeostaza mediului intern şi pentru adaptarea la mediul înconjurător este definit ca stres, care implică activitatea sistemului neuroendocrin.

În condiţii de stres, în circulaţie se eliberează catecolaminele: adrenalina şi noradrenalina, a căror raport este modificat faţă de condiţiile bazale. Cercetările efectuate au demonstrat că nivelul de adrenalină în toate organele cercetate (cu excepţia suprarenalelor) după administrarea pesticidului Decis în doza de 1,2 mg/kg, masa corporală se micşorează relativ puţin.

În rinichi conţinutul de adrenalină s-a micşorat de la 4,8 mkmoli/kg – martor, până la 3,2 mkmoli/kg la loturile experimentale. În ficat şi inimă nivelul adrenalinei, de asemenea, scade de la 2,9 mkmoli/kg –

martor, în comparație cu loturile experimentale: 2,1 mkmoli/kg. Iar concentrația adrenalinei în suprarenale crește brusc după administrarea Decisului (1,2 mg/kg) de la 157 mkmoli/kg – martor, în comparație cu loturile experimentale – 309 mkmoli/kg. Aceeași tendință se observă și în conținutul de noradrenalină după administrarea pesticidului Decis în doza de 1,2 mg/kg. Nivelul de noradrenalină în suprarenale este mărit până la 459 mkmoli/kg în comparație cu martorul 346 mkmoli/kg.

Conform literaturii de specialitate este bine cunoscut faptul că conținutul de catecolamine în suprarenale depinde de corelațiile a două procese: viteza sintezei și viteza secreției lor în sânge. Odată cu fluxul de sânge, catecolaminele nimeresc iarăși în suprarenale și după principiul mecanismului de retrosecreție intensifică sau încetinește sinteza lor în stratul medular.

Probabil mărirea nivelului de adrenalină în suprarenale este legat de intensificarea vitezei de sinteză a hormonului și de reținerea lui în glandă, precum și de micșorare a acestui hormon în celelalte organe.

În altă serie de experiențe, unde s-a administrat pesticidul Decis în doză de 2,0 mg/kg am observat schimbări mai mari în balanța catecolaminelor din țesuturile studiate comparativ cu doza precedentă. Concentrația de adrenalină în țesuturile examinate a crescut brusc în aceste organe, în comparație cu nivelul acestor hormoni la lotul martor. Nivelul de adrenalină în ficat, mușchi scheletici, inimă și suprarenale a crescut corespunzător cu 145%, 161%, 162% și 220% în comparație cu lotul martor. Conținutul adrenalinei în această serie de experiențe a fost scăzut numai în rinichi – 3,7 mkmoli/kg comparativ cu 4,8 mkmoli/kg la martor [7].

Concentrația de noradrenalină în țesuturi are un caracter divers: în ficat și rinichi aproape că nu s-a schimbat, iar în celelalte organe a crescut puțin față de normă. Mai evidente sunt schimbările în țesuturile cardiace, care depind de corelația următoarelor procese: sinteza lor în însăși țesutul cardiac, absorbția acestora din sângele circulant, restituirea lor iarăși în sânge și de viteza inactivării catecolaminelor în mușchiul cardiac. Iar în dependență de aceasta, care proces predomină asupra nivelului de catacolamine, acesta poate fi scăzut, mărit sau neschimbat.

În următoarea serie de experiențe a fost administrarea pesticidului Decis în doza de 2,4 mg/kg, unde se poate observa o mărire rapidă a nivelului de adrenalină și noradrenalină. Putem menționa că în ficat are loc o mărire bruscă a cantității de noradrenalină până la 7,1 mkmoli/kg, față de martor - 5,2 mkmoli/kg, deoarece aici are loc metabolismul mai intens al catecolaminelor.

În rinichi și ficat se petrec procesele de metilare, dezaminare, oxidare a catecolaminelor, care pot nimeri în ficat din sângele circulant. Astfel, rezultatele obținute cu referire la nivelul catecolaminelor în unele organe (suprarenale, ficat, rinichi, inimă și mușchi scheletici) a șobolanilor de laborator ne indică că la administrarea pesticidului Decis în diverse doze acționează diferit asupra bilanțului de catecolamine, mărind în general concentrația lor.

Concluzie

Rezultatele cercetărilor evidențiază starea funcțională a sistemului simpato-adrenal, în dependență de dozele pesticidului Decis administrate. Acțiunea pesticidului Decis în doza de 1,2 mg/kg, asupra nivelului de catecolamine conduce la disbalanța aminelor, iar folosirea acestuia în doze mai mari (2,0 mg/kg și respectiv 2,4 mg/kg), conduce la mărirea bruscă a nivelului de adrenalină și noradrenalină în țesuturile organelor studiate.

Referințe:

1. CRIVOI A., BUIMISTRU B,. DOMINIC N. *Studierea reacțiilor de comportare la șobolani sub influența preparatului Decis //* Mater. Științ. a corpului didactico-științifică a Universității de Stat din Moldova. Chișinău, 11-18 ianuarie, 1993, p. 298.
2. ГАНИЕВ М. М., НЕДОРЕЗКОВ В. Д. *Химические средства защиты растений.* М.: Колос, 2006, 248 с.
3. ЮРИН В. М., ДИТЧЕНКО Т. И., ЯКОВЕЦ О. Г., КРЫТЫНСКАЯ Е. Н., БЫХОВЕЦ А. И., ТИМОФЕЕВА В. А. *Оценка избирательности действия пестицидов на растения (электрофизиологический метод).* Методические указания для студентов биологического факультета. МИНСК, БГУ, 2011, 68 с.
4. JIGĂU Gh., LEȘANU M. *Reabilitarea ecologică a terenurilor agricole*. Chișinău: Tipografia Bons Office, 2021, p. 200.

5. ОНИЩЕНКО Г. Г., ПОКРОВСКИЙ В. И. *Профилактическая медицина и эпидемиология.* М.: Наука, 2010, с. 394 - 396.
6. ЯНУШЕВСКАЯ Э. Б. ПОДГОРНАЯ М. Е. Экологические формирования *с*истем защиты персика, обеспечивающих устойчивость агроэкосистем к негативным эко-фактором // Научные труды. СКЗНИИСИВ, 2013, Том 2, с. 83-93.
7. МАТЛИНА Э. Ш., МЕНЬШИКОВ В. В. Влияние фармакологических средств на обмен КА // Фармакология и токсикология, т. 28, №13, 1967, с. 372.

Date despre autor:
***Aurelia CRIVOI*,** doctor habilitat, profesor universitar, în LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: crivoi.aurelia@mail.ru
ORCID: 0000-0002-1917-1278

Gheorghe JIGĂU, doctor în biologie, conf. univ., cercetător ştiinţific coordonator LCŞ „Procese pedogenetice”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: gheorghe.jigau@gmail.com
ORCHID: 0000-0002-4778-2105

Iurie BACALOV, doctor în ştiinţe biologice, conf. univ., şef LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: bacalov@mail.ru
ORCID: 0000-0002-1651-9056

Elena CHIRIŢA, doctor în ştiinţe biologice, conferenţiar cercetător LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: chiritaelena30@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9717-8133

Adriana DRUŢA, master în ştiinţe biologice, cercetător ştiinţific LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: *druta.adriana@mail.ru*
ORCID: *0000-0002-5961-6518.*

Prezentat la 03.04.2023

STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE
Revista ştiinţifică a Universităţii de Stat din Moldova, 2023, nr. 1(161)

CZU: [631.43/.45 + 631.95]:574

SĂNĂTATEA SOLULUI ŞI CRITERII DE EVALUARE PRIN PRISMA CONCEPTULUI BIOFIZIC AL PEDOGENEZEI

Gheorghe JIGĂU, Sergiu DOBROJAN, Galina DOBROJAN, Boris TURCHIN, Elena CHIRIŢĂ, Andriana DRUŢĂ
Universitatea de Stat din Moldova

Valentin GABERI
FPC ,,VITIS COJUŞNA" SRL

Nistor BOLOCAN
Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, UTM

Prin prisma conceptului biofizic al pedogenezei sănătatea solului este produsul integrator al proceselor independente şi interdeterminate de constituire a subsistemelor fizic, chimic, fizico-chimic şi biologic al ecosistemului solului în cadrul lanţului genetic-evolutiv factori→regimuri→procese elementare→sol (ecosistemul solului).

Evoluţia ecosistemului solului presupune două faze distincte: a) constituirea sistemului rutinar al solului; b) constituirea şi evoluţia ecosistemului solului.

Constituirea sistemului rutinar al solului este determinat de procesele abiotice de transformare şi organizare a componentelor abiotice (fazele solidă, lichidă şi gazoasă) cu formarea profilului pedolitic şi matricei biolitice.

Constituirea ecosistemului solului este determinată de biologizarea pedomatricei cu formarea biopedomatricei şi modelarea acesteia de către organismele lui în conformitate cu propriile necesităţi.

Prin această prismă de idei sănătatea solului este categorie biofizică, iar pentru evaluarea acesteia se recomandă aplicarea parametrilor însuşirilor fizice şi biologice, precum şi a parametrilor chimici şi fizico-chimici aferenţi acestora.

Cuvinte-cheie: *sol, sănătate, pedogeneză.*

SOIL HEALTH AND EVALUATION CRITERIA THROUGH THE PRISM OF THE BIOPHYSICAL CONCEPT OF PEDOGENESIS

Through the prism of the biophysical concept of pedogenesis, soil health is the integrative product of the interdependent and interdetermined processes of constituting the physical, chemical, physical-chemical and biological subsystems of the soil ecosystem within the genetic-evolutionary chain factors→regimes→elementary processes→soil (soil ecosystem).

The evolution of the soil ecosystem involves two distinct phases: a) the establishment of the routine system of the soil; b) the constitution and evolution of the soil ecosystem.

The constitution of the routine system of the soil is determined by the abiotic processes of transformation and organization of the abiotic components (solid, liquid and gaseous phases) with the formation of the pedolitic profile and the biolitic matrix.

The constitution of the soil ecosystem is determined by the biologicalization of the biolytic matrix with the formation of the biopedomatrix and its modeling by its organisms in accordance with their own needs.

Through this prism of ideas, soil health is a biophysical category and for its evaluation it is recommended to apply the parameters of the physical and biological properties, as well as the chemical and physico-chemical parameters related to them.

Keywords: *soil, health, pedogenesis.*

Introducere

Categoria sănătatea solului a intrat în atenţia cercetării la sfârşitul sec. XX şi este definită ca trăsătură a acestuia de a funcţiona în cadrul ecosistemului/agroecosistemului, de a susţine fertilitatea şi calitatea solului şi componentelor de mediu aferente (apa, aerul), precum şi de a asigura sănătatea plantelor şi animalelor [1,2].

În acest context, termenul „*sănătatea solului*” este asociat cu performanţa funcţiilor sale ecosistemice şi are un sens mai larg decât termenul „*calitatea solului*” [3].

Cu referinţă la acest subiect mai mulţi autori susţin că la definirea „*calităţii solului*” sunt luaţi în calcul doar parametrii măsurabili (predominant chimici, agrochimici, toxicologici) care se referă la componenta abiotică a solului fără luarea în consideraţie a componentei biotice [4].

Conform autorilor citaţi, anume componenta biologică a solului asigură realizarea principalelor funcţii ecosistemice ale acestuia: a) producţională; b) ambiental-formatoare; c) de susţinere în stare activă genofondul şi diversitatea unică a biotei solului. Din aceste considerente, în opinia lor, caracteristicile „sănătatea” şi/sau „patologia” solului sunt atribute determinate de componenta biologică.

Analiza sintetică a cercetărilor mai recente (a. 2000-2020) din acest domeniu ne permite să concludem că deja clar se conturează o tendinţă de a supraevalua rolul componentei biologice în constituirea sănătăţii solului şi de a neglija, totalmente, locul şi rolul calităţii biotopului în funcţionarea biotei solului.

În acest context, prin prisma rolului prioritar al factorului biologic în pedogeneză considerăm că pedobiocenozei îi revine un rol important în constituirea sănătăţii solului, în acelaşi timp, însă, în opinia noastră, diagnostica, controlul şi managementul sustenabil al acesteia nu pot fi realizate fără luarea în calcul a mediului vital (biotopului), dinamicii şi evoluţiei acestuia, componentă de bază a căruia este solul [5].

Acesta, la rândul său, fiind „produs al vieţii şi funcţie a dezvoltării şi evoluţiei biotei”, ulterior se transformă în mediu de existenţă a pedobiocenozei. În acest sens, este recunoscut că solul este nu doar spaţiul vital pentru organismele vii, dar şi o verigă de legătură între toate componentele fizice, chimice, fizico-chimice şi cele trofice ale ecosistemului. În acest sens, solurile şi organismele vii funcţionează în cadrul unui spaţiu evoluţional şi ecologic determinat unic, formând sistemul „diversitatea solurilor (tipuri, subtipuri, însuşiri)→diversitatea biologică”, dezvoltat în cadrul procesului de coevoluţie îndelungată [6]. Pornind de la aceasta, în cercetările noastre sănătatea solului este examinată ca un indice integrator calitativ specific care determină capacitatea acestuia de a asigura realizarea întregului complex de funcţii biogeocenotice: acumulator, rezervor şi furnizor de apă; realizarea circuitului biogeochimic lărgit al elementelor biofile; sechestrarea şi stabilizarea carbonului organic în sol, reproducerea microbiotei solului; biodiversităţii şi activităţii acesteia; asigurarea stabilităţii antierozionale; autoorganizarea, autoepurarea, autoreglarea, reproducerea şi dinamica organizării structural-funcţionale a ecosistemului solului .

Prin această prismă de idei, în prezenta lucrare sănătatea solului este definită categorie biofizică funcţională, interdeterminată, interdependentă cu calitatea solului, iar pentru evaluarea acesteia este argumentată aplicarea parametrilor însuşirilor fizice şi biologice, precum şi a parametrilor chimici şi fizico-chimici aferenţi acestora.

Obiect de studii şi abordări metodologice

În calitatea sa de categorie biofizică, sănătatea solului este considerată produs al integrării materiei abiotice (rutinară) şi celei biotice la scara pedologică a timpului materializată în capacitatea acestuia de a asigura procesele de autoreglare şi autoevoluţie manifestată în stabilitatea funcţiilor biogeocenotice/agrobiocenotice. În acest sens, cadrul metodologic al cercetărilor este asigurat de principiul dezvoltării şi evoluţiei sănătăţii solului în cadrul întregului complex de procese şi însuşiri ale solurilor determinate de condiţiile concrete de landşaft [6]. Conform acestuia, soluri sănătoase sunt solurile care dispun de trăsături zonale sau intrazonale (componenţă, însuşiri, legături funcţionale) obţinute în cadrul procesului pedogenetic naţional.

„Soluri bolnave” – sunt solurile cu trăsături negative necaracteristice solurilor zonale / intensităţii intrazonale cauzate de factorii negativi naturali sau antropici cu impact negativ asupra sensului şi procesului de pedogeneză şi funcţionalităţii acestora.

Trăsături negative – oricare parametri ai componenţei şi însuşirilor solurilor care cauzează reducerea recoltelor (funcţia producţională) obţinute şi calităţii acestora, dar şi cu impact negativ asupra componentelor mediului ambiant (funcţia ambiental-formatoare), sănătăţii animalelor şi oamenilor.

Prin prisma acestui principiu metodologic sănătatea solului este categorice funcţională care reflectă starea biotopului, componenţa, gradul de biodiversitate a biomului corespunzător acesteia *manifestată în activitatea biologică şi dinamica* ei materializată în modelarea complexului organo-mineral în tendinţa optimizării acestuia în conformitate cu necesităţile vitale.

În acest context, starea de sănătate a solului este produs al evoluţiei interdependentă şi interdeterminată a componentei abiotice (rutinare) şi celei biotice materializată în gradul de biologizare a componentei rutinare manifestat în gradul de modelare a acesteia cantitativ exprimat în indici fizici şi hidrofizici ai solului.

În acest sens, devierile parametrilor calităţii biotopului de la valorile optimale în sens negativ >20% indică la perturbarea proceselor responsabile de sănătatea solurilor [7, 8].

Materiale şi discuţii

Prin prisma paradigmei dokuceaviste factori → sol ultimul, mai frecvent, este examinat în abordarea genetic-evolutivă care operează, preponderent, cu noţiuni şi caracteristici fizico-chimice tradiţional aplicate pentru evaluarea substanţei fizico-chimice.

În abordare bioecologică solul este examinat ca produs al acţiunii intercalate a activităţii asimilaţional-disimilaţională a organismelor vii (microorganisme, micromezofaună, plante) şi proceselor de transformări şi sinteze minerale şi organice cu participarea microbiotei solului. Prin această prismă de idei, solul este considerat produs natural organomineral format în anumite condiţii natural-climatice şi susţinut prin acţiuni continue microbian-vegetale asupra substratului iniţial, preponderent, anorganic. Acest produs conţine organisme vii, mortmasă biogenă şi metaboliţi supuse permanent transformărilor enzimatice, chimice şi proceselor de acumulare biogenă a elementelor biofile. În acesta se realizează principalele procese biologice şi fizico-chimice şi circuitele biogeochimice a elementelor biofile şi a microorganismelor.

În contextul conceptelor prezentate mai sus menţionăm că, în condiţiile reducerii semnificative a rolului factorului biologic în pedogeneza antropo-naturală, accentele în managementul sănătăţii şi fertilităţii solurilor urmează a fi plasate pe intensificarea proceselor biologice în sol prin sporirea resurselor bioenergetice şi optimizarea cadrului fizic de funcţionare a biotei solului.

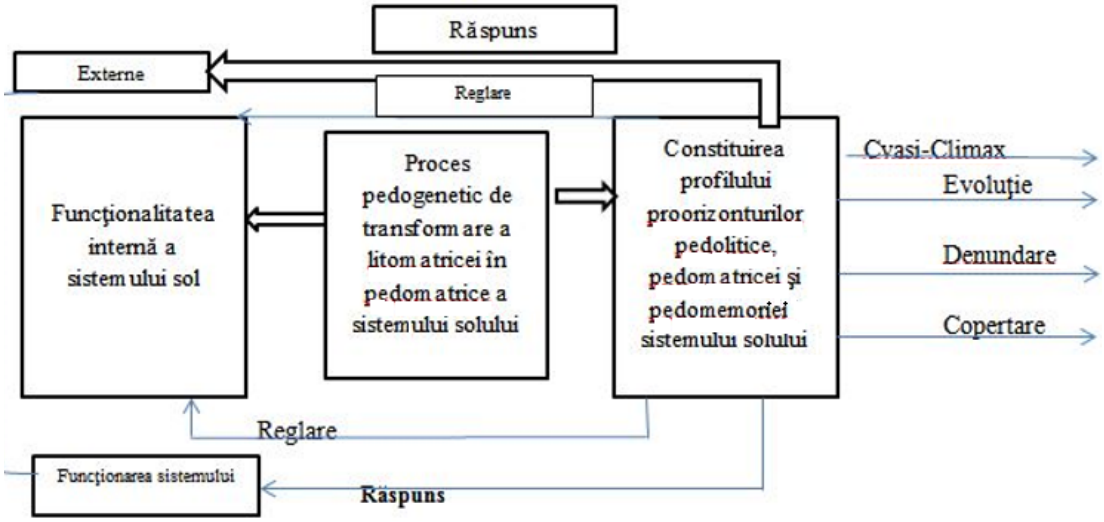
Prin prisma conceptului biofizic al pedogenezei procesul pedogenetic presupune două faze distincte: a) constituirea sistemului solului şi b) constituirea şi funcţionarea ecosistemului solului.

În atare abordare procesul de pedogeneză reprezintă succesiunea în timp a proceselor de biologizare a sistemului solului.

Sistemul sol-sistem rutinar polifazic funcţional formarea căruia demarează din momentul când oricare formaţiune minerală rutinară de la suprafaţa pământului interacţionază *in situ* cu componentele mediului ambiental. „Autonomia" acestuia ca sistem exogen este relativă, deoarece acesta este, în acelaşi timp, subsistem în mai multe sisteme superficial-planetare ale Pământului, fiind reglator al fluxurilor şi circuitelor substanţelor.

Trăsătură universală specifică sistemelor solurilor, prin care acestea se deosebesc de alte sisteme rutinare exogene (roci, depozite, de diverse sedimente etc.) este capacitatea de a produce, a reţine şi a acumula produsele solide ale funcţionalităţii interne *in situ* a sistemului, astfel asigurîndu-se restructurarea şi organizarea structurală continuă, în timp, a componentei solide în cadrul procesului de funcţionare şi de dezvoltare îndelungată materializată în formarea profilului pedolitic şi matricei pedolitice (fig. 1).

Fig. 1. Interacţiuni directe şi legături de răspuns ale sistemului şi corpului solului.



În acest sens, procesele de funcţionare care decurg ca rezultat al interacţiunii diverselor medii naturale de la suprafaţa pământului contribuie modificării-transformării formaţiunilor rutinare superficiale ca urmare a acumulării produselor solide ale proceselor exogene (procese de alterare fizică) cu formarea de formaţiuni pedolitice (propedogenetice). În acest sens, sistemul solului este formaţiune solidă organizarea structurală a căreia îi atribuie capacitatea pentru apă, aer, căldură şi regimuri hidric, termic, de aeraţie, aerohidric, hidrotermic etc., necesare pentru dezvoltarea organismelor vii şi demararea procesului de pedogeneză.

Sistemul solului se caracterizează cu parametri funcţionali, indiferent de gradul de dezvoltare a componentului solid al „corpului solului” (profilul pedolitic) atât în fazele incipiente (0-moment), cît şi în fazele avansate de dezvoltare a acestuia. În acest sens, sistemul solului se constituie chiar din momentul când toate componentele mediului natural au intrat în interacţiune. Evoluţia acestuia este determinată de procesele fizico-mecanice, fizice, chimice şi fizico-chimice care creează în timp profilul pedolitic şi condiţiile favorabile pentru dezvoltarea biotei (tab. 1).

Forţă motrică a dezvoltării-evoluţiei sistemului solului sunt diversele procese realizate între componentele de bază ale acestuia: fază solidă - fază lichidă – fază gazoasă în interiorul sistemului, dar şi procesele dintre sistemul solului şi componentele naturale ale mediului ambiant.

Procesele de funcţionare a sistemului solului au dinamică circadiană, sezonieră, anuală şi multianuală şi trend unidirecţionat în sensul evoluţiei însuşirilor şi regimurilor materializate în autoorganizarea şi stabilitatea structurii acestuia.

Pentru evaluarea sistemului solului sunt utilizaţi parametrii fizici, chimici, fizico-chimici, valorile cărora sunt determinate de sensul şi intensitatea proceselor de funcţionare a acestuia în funcţie de trendul determinat de condiţiile concrete de landşaft (tab. 1).

Ecosistemul solului este mediul în cadrul căruia interacţionează componentele abiotice ale solului (solidă, lichidă, gazoasă) şi cele biotice. În acest context, ecosistemul solului este alcătuit din componente anorganice, fiinţe vii (biota) şi materie organică moartă (mortmasa biotică, produse intermediare ale proceselor de descompunere-transformare a mortmasei biotice, produse metabolice provenite din activitatea biotei solului). Un loc aparte în componenţa acesteia revine substanţelor humice care prin originea lor sunt substanţe paravii [9].

Tabelul 1. Procese de constituire şi evoluţie a sistemului solului, efecte, criterii de evaluare.

Grupul de procese	Procese-mecanisme	Efecte funcţionale	Criterii de evaluare
Fizico-mecanice	Mărunţirea-fragmentarea (alterarea fizică)	Sporirea ariei specifice şi suprafeţei de interacţiune a substratului mineral cu apa şi aerul. Sporirea gradului de aerisire. Înmagazinarea apei: crearea premiselor pentru realizarea proceselor fizice, chimice, fizico-chimice.	Alcătuirea granulometrică.
Fizice	Încălzirea-răcirea: dilatarea-contractarea-fisurarea. Adsorbţia-disorbţia: gonflarea-contracţia-microfisurarea-formarea porilor fisurali. Argilizarea.	Permiabilitate şi conductivitate pentru apă şi aer. Capacitatea de acumulare şi stocare a apei. Însuşiri pentru apă. Regim hidric, regim de aeraţie, regim termic.	Coeficient de filtraţie. Porozitate totală. Capacitate pentru apă. Capacitate de aeraţie. Densitate aparentă. Densitatea fazei solide. Conţinutul de argilă fizică şi fină.

Chimice	Solubilizare-dizolvare. Cristalizare-precipitare. Transformări minerale (alterare chimică). Neosinteze minerale. Gleizare.	Migrare-diferenţiere-acumulare substanţe. Formare neoformaţiuni (fierice, manganice, fiero-manganice, carbonatice ş.a.). Salinizare Mobilizarea elementelor biofile din compuşii minerali greu-solubili.	Conţinut de săruri. Conţinut de carbonaţi. Reacţie a soluţiei solului. Conţinut de FeO. Conţinut total de elemente nutritive biofile şi de forme mobile a acestora.
Fizico-chimice	Formare sisteme disperse.	Constituirea complexului adsorbtiv al solului (CAS). Adsorbţie-desorbţie a cationilor (Ca, Mg, Na, H^+, Al^{3+} ş.a.)	Capacitate de adsorbţie cationică. Componenţa complexului adsobtiv.

În ecosistemul solului decurg cele mai importante procese biochimice materializate în integrarea componentelor anorganice şi celor biotice şi biologizarea pedolitomatricei cu formarea biopedoplasmei/materia pedostructurală. Aceasta reprezintă primul nivel de integrare specific ecosistemului solului şi este componentul esenţial al materiei de bază a solului.

Conceptul de matrice pedostructurală se bazează pe teoria materiei biostructurale elaborată de E. Macovschi (citat N. Florea) [10].

Materia pedostructurală nu reprezintă o formă aparte a materiei, ci doar o varietate de tranziţie între forma chimică şi cea biologică, specifică pentru sol. Este mai mult decât un amestec intim a materiei vii cu componenţii fini din sol minerali şi organici lipsiţi de viaţă, la care se adaugă soluţia solului de sol şi aerul. Coloizii solului formează cu soluţia solului pedoplasma, partea nevie cea mai activă, prin asocierea la pedoplasmă a materiei vii (microorganisme) rezultă biopedoplasma sau materia pedostructurală.

Este de subliniat că materia vie microbiană trece în mod continuu în pedoplasmă după moarte şi, ca o nouă materie vie se formează mereu în sol pe baza elementelor minerale şi energiei rezultate din descompunerea resturilor vegetale [10].

Particulele solide ale solului asociată de obicei în câmpuri argilohumici şi microagregate de diferite forme şi dimensiuni formează o „osătură" a solului în interiorul căreia se află aerul şi apa (soluţia) solului. Biopedoplasma este deci intim amestecată şi specific organizată împreună cu particulele scheletice din sol de dimensiuni şi compoziţii variate şi, implicit, cu aerul precum şi cu mezo-şi, microfauna solului alcătuind materia de bază a solului, esenţială în funcţionarea pedosistemelor/ecosistemului solului.

În acest context, atragem atenţia că diferitele părţi componente ale sistemului sol (minerale sau organice, nevii sau vii) nu acţionează independent sau izolat, pentru ele însele, ci asociat, coordonat, coordonat şi intercorelat, întreaga activitate fiind subordonată întregului formând un sistem biorutinar/ecosistemul solului plinivelar structural-funcţionalorganizat, polifuncţional [11].

Conform autorului citat, sistemul biorutinat este spaţiul în cadrul căruia microorganismele interacţionează cu substratul fizic reprezentat prin fazele solidă, lichidă şi gazoasă, iar funcţia de bază a biotei solului presupune activitatea de modelare şi reproducere lărgită a calităţii mediului vital, sporirea volumului circuitului biologic al substanţelor, fertilităţii şi sănătăţii solului la toate nivelele ierarhice de organizare a ecosistemului solului (fig. 2, 3).

Prin prisma celor prezentate în fig. 2 şi 3 formarea şi funcţionarea ecosistemului solului se supune principiului autoorganizării la toate nivelele ierarhice de organizare structural-funcţională a acestuia, precum şi a sistemelor biorutinare de nivel mai înalt-biogeocenozei. În acest context organismele vii în tendinţa asigurării unei organizări funcţionale stabile pentru funcţionare modelează ambianţa vitală, expresie cantitativă a căreia este fertilitatea şi sănătatea solului. Fertilitatea biogenă provenită din activitatea multiplelor generaţii de microorganisme asigură efectele de răspuns (trăsătură de bază specifică sistemelor biofizice autoreglatoare) conform căreia condiţiile de viaţă pentru actualele generaţii de organisme vii sunt produsul

activităţii biologice a generaţiilor din fazele precedente ale pedogenezei. Actualele generaţii de organisme vii pun bazele funcţionării generaţiilor viitoare. Astfel se asigură evoluţia cantitativă şi calitativă a ecosistemului solului şi sănătăţii acestuia. Aceasta se materializează în intensificarea circuitului biogeochimic al substanţelor şi energiei sporirea biodiversităţii şi complexităţii organizării structural-funcţionale-a ecosistemului solului în conformitate cu necesităţile vitale ale microbiomului solului.

Fig. 2. Interacţiuni şi procese de constituire a ecosistemului solului, funcţionare şi evoluţie.

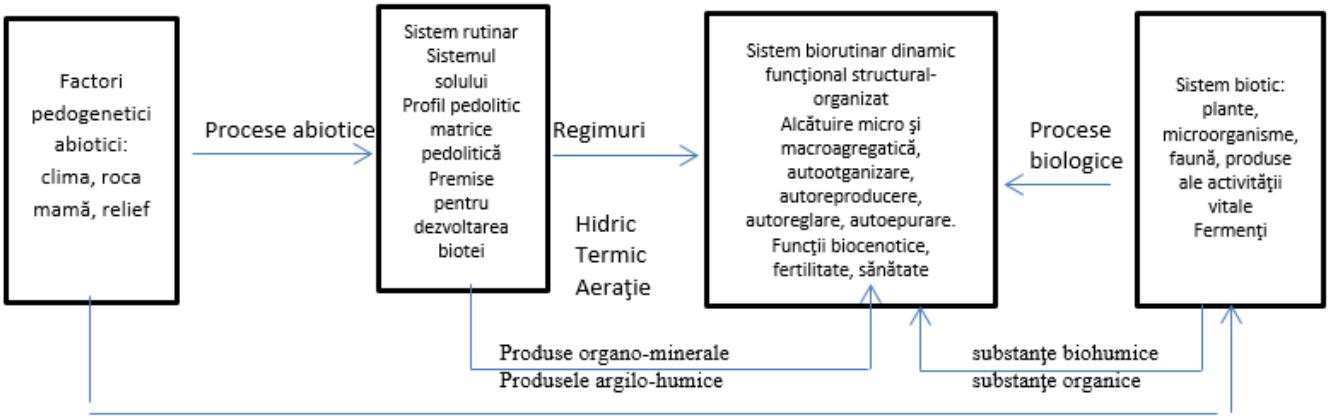
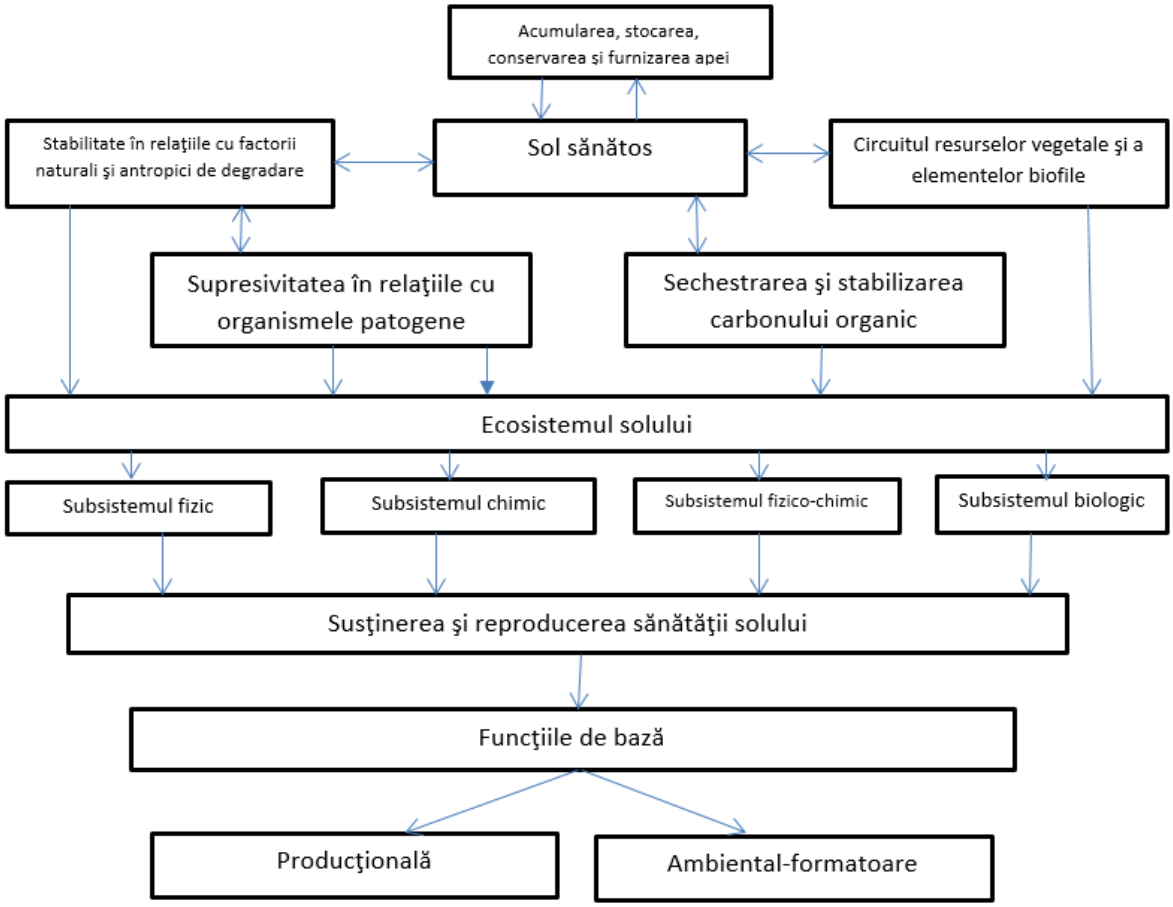


Fig. 3. Sănătatea solului prin prisma conceptului ecosistemului solului.



Indice integrator al evoluţiei pedobiocenozei, fertilităţii şi sănătăţii solurilor este starea fizică a acestora exprimată în valorile parametrilor fizici funcţionali de bază ai solurilor manifestată în funcţionaliţionalitatea interdeterminată şi interdependentă a sistemului pedofuncţional [sistem bioenergetic]↔[sistem agregatic] (tab. 2). În acest context, considerăm că constituirea ecosistemului solului demarează din faza demarării în

materia de bază a solurilor a proceselor sincronizate de acumulare-stabilizare a humusului şi celui de agregare-structurare a acesteia. Pe măsura evoluţiei ecosistemului solului procesele specificate sunt cantitativ şi calitativ interdeterminate şi interdependente şi au rolul decisiv în constituirea, evoluţia şi stabilitatea sănătăţii şi fertilităţii solurilor.

Tabelul 2. Procese de constituire şi evoluţie a ecosistemului solului, efecte, criterii de evaluare.

Grupul de procese	Procese-mecanisme	Efecte funcţionale	Criterii de evaluare
Fizico-mecanice	Compactare-tasare-slitizare-vertisolare. Afînare-automulcire. Structurare-termocompresională. Destructurarea mecanică.	Modificarea raportului dintre masa şi volumul fazelor solului. Degradarea alcătuirii structural-agregatice. Prăfuirea structurii (slitizarea).	Gradul de compactare. Gradul de tasare. Conţinut de agregate › 7mm. Conţinut de agregate agronomic preţioase. Conţinut de agregate ‹ 0,25 mm. Constituirea profilului agrofizic.
Fizice	Agregarea – structurarea stabilizarea agregatică. Dezagregarea-destructurarea. Argilizarea. Migrarea (eluvierea) – acumularea (iluvierea) formaţiunilor fin dispersate – coloidale.	Constituirea alcătuirii microagregatice. Constituirea alcătuirii structural – agregatice. Constituirea şi diferenţierea profilului granulometric, microagregatic, agregatic, poros.	Conţinut de microagregate agronomic valoroase. Conţinut de agregate agronomic valoroase. Conţinut de agregate agronomic preţioase. Conţinut de agregate hidrostabile › 0,25 mm Coeficient de structurare. Indice de hidrostabilitate a structurii. Factori de dispersie. Factor de agregare. Porozitate totală şi diferenţială. Tipuri de profil: granulometric, microagregati, agregatic, poros agrofizic Conţinut de argilă neagregatică.
Chimice	Transformări şi neosinteze minerale. Reacţii organominerale cu formarea de complexe argilohumice. Descompunerea-transformarea-humificarea materiei organice proaspete. Metamorfizarea şi dinamica componenţei soluţiei solului.	Mobilizarea elementelor nutritive Producerea de fitonutrienţi organo-minerali Mobilizarea migrarea şi redistribuirea diferenţierea produselor biopedogenezei în profilul solului.	Conţinut de elemente nutritive şi dinamics acestuia. Conţinut de fitonutrienţi organo-minerali. Conţinutul şi componenţa sărurilor uşor solubile în sol.
Fizico-chimice	Modificarea componentei complexului adsorbtiv a solului.	Decalcifiere parţială a complexului adsorbtiv al solurilor. Sporirea ponderii relative a magneziului şi sodiului în complexul adsorbtiv al solului. Migrarea carbonaţilor.	Componenţa cationilor reţinuăţi. Conţinutul şi distribuirea carbonaţilor în profilul solului.

Biologice	Vegetarea-devegetarea şi humificarea-dehumificarea biopedoplasmei solului. Dehumusierea materiei de bază a solului. Reducerea biomasei şi biodiversităţii pedobiocenozei. Dezvoltarea intensivă a organismelor patogene, microflorei toxicogene, reducerea microflorei supresive.	Reducerea/sporirea resurselor bioenergetice în soluri. Reducerea/sporirea capacităţii de agregare-structurare a materiei de bază a solurilor. Reducerea/sporirea funcţiei ambiental-formatoare a solurilor. Reducerea/sporirea funcţiei supresive a solurilor. Reducerea a activităţii biologice a solurilor. Modificarea sensului şi intensităţii procesului de humificare.	Conţinutul fracţiunii de substanţe humice solubile în 0,1 n NaOH Componenţa sistemului de substanţe organice a solurilor. Componenţa sistemului humic a solurilor.

Concluzii

Sănătatea solului este categorie funcţională biofizică manifestată în funcţia producţională şi ambiental-formatoare determinată de realizarea interdeterminată şi interdependentă a proceselor de integrare a componentelor abiotice (solidă, lichidă, gazoasă) şi celei biotice. Indicii integratorii ai proceselor specificate sunt parametrii fizici şi biologici ai solurilor, precum şi parametrii chimici şi fizico-chmici aferenţi acestora.

În constituirea calităţii biotopului şi biofuncţionalităţii ecosistemului solului revine structurii agregatice, spaţiului poros şi parametrilor hidrofizici care determină regimurile biohidrotermic şi bioaerohidric responsabil de funcţionalitatea biotei solului.

Referinţe:

1. Doran J. W., Srantonio M., Liebig M. A. Soil health and sustenability // Adv. Agron., 1996, v. 56, p. 1-54.
2. Kaplen D. L., Andrews S. S., Doran J. W. Soil quality: curent concept and applications // Adv. Agro., 2001, v. 74, p. 1-39.
3. Торопова Е. Ю., Кудрявцев А. Е., Стецов Г. Я., Селюк М. П. Фактологические критерии оценки здоровья сибирских почв. // Агрохимия, 2020, nr. 5, с. 3-11.
4. Семенов А. М., Глинушкин А. П., Соколов М. С. Здоровье почвенной экосистемы: от фундаментальной постановки к практическим решениям // Известия тимирязевской сельскохозяйственной академии, 2019, вып., 1, с. 5-18.
5. Jigău Gh., Crivoi A., Dobrojan S., Ciolacu T., Turchin B., Dobrojan G. Cadrul ecosistemic funcţional al sănătăţii solului // Conferinţa Ştiinţifică Naţională, consacrată jubileului de 95 ani din ziua naşterii academicianului Boris Melnic, 2023, p. 202-206.
6. Хазиев Ф. Х. Структурно-функциональная связь биоразнообразия наземных экосистем с почвами // Экобиотех, 2019, Том 2, № 1, с. 19-35.
7. Цховребов В. С. Понятие здоровье почвы и критерии её оценки // Эволюция и деградация почвенного покрова. Сборник научных статей по материалам VI Международной научной конференции. Ставрополь, 2022, с. 406-407.
8. Jigău Gh., Stadnic A., Bacalov Iu., ş.a. Normative de evaluare şi optimizare a parametrilor fizici de sănătate a cernoziomurilor arabile // Conferinţa Ştiinţifică Naţională, consacrată jubileului de 95 ani din ziua naşterii academicianului Boris Melnic, 2023, p. 197-201.
9. Jigău GH., Dobrojan S., Dobrojan G.,Turchin B. Utilizarea preparatelor bioorganominerale de provenienţă humică în sustenabilizarea micro- şi mezoproceselor pedogenetice // Geneza, evoluţia şi în cadrarea taxonomică a

solurilor din depresiunile intramontane din România: Ghidul celei de-a XXXI-a ediții a simpozionului „Factori și procese pedogenetice din zona temperată”, octombrie 2022, Iaşi, p. 112-125.
10. Florea N. Pedogeografie cu noţiuni de pedologie (ediţia a II-a). Sibiu. 1994. 205 p.
11. Смагин А. В. Структурно-функциональная организация почв как динамических биокосных систем. Автореф. дис. На соиск. уч. ст. док. биол. наук. Москва, 2004, 45 с.
12. Jigău Gh., Stadnic A., Ciolacu T., Turchin B. Tehnologii agricole pedoconservative: abordare pedofuncţională // Geneza, evoluţia şi în cadrareac taxonomică a solurilor din depresiunile intramontane din România: Ghidul celei de-a XXXI-a ediții a simpozionului „Factori și procese pedogenetice din zona temperată”, octombrie 2022, Iaşi, p. 74-87.

Date despre autor:
Gheorghe JIGĂU, doctor în biologie, conf. univ., cercetător ştiinţific coordonator LCŞ „Procese pedogenetice”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: gheorghe.jigau@gmail.com
ORCHID: 0000-0002-4778-2105

Sergiu DOBROJAN, doctor în biologie, conf. univ., cercetător ştiinţific principal LCŞ „Algologie Vasile Şalaru”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: sergiudobrojan84@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-0040-5836

***Galina DOBROJAN*,** master, cercetător științific, LCŞ „Algologie Vasile Şalaru”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: galinadobrojan87@gmail.com.

Boris TURCHIN, cercetător ştiinţific LCŞ „Procese pedogenetice”, Universitatea de Stat din Moldova.

Elena CHIRIŢA, doctor în ştiinţe biologice, conferenţiar cercetător LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: chiritaelena30@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9717-8133

***Adriana DRUŢA*,** master în științe biologice, cercetător ştiinţific LCŞ „Ecofiziologie Umană şi Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: druta.adriana@mail.ru
ORCID: 0000-0002-5961-6518.

Valentin GABERI, FPC „Vitis-Cojuşna” SRL.
E-mail: gaberi_valentin@yahoo.com

Nistor BOLOCAN, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, UTM.
E-mail: ninafrunză@mail.ru

Prezentat la 05.04.2023

CZU: 546.47 + 678.7

POLIMERI ANALOGI DIN COPOLIMERI DE N-VINILPIROLIDONĂ GREFAT CU FTALOCIANINĂ DE ZINC

Stefan ROBU, Tamara POTLOG, Ion LUNGU, Petru BULMAGA
Universitatea de Stat din Moldova

Pavel TIULEANU
Universitatea de Chimie Tehnologică ,,D. I. Mendeleev", Moscova, Rusia

Viorel PRISACARI, Veronica SAVA
Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie ,,N. Testemiţeanu

În lucrare este descrisă sinteza polimerilor analogi din N-vinilpirolidonă cu clorură de acriloil funcționalizați cu ftalocianină de zinc utilizând metoda Friedel-Crafts. Grefarea ftalocianinei de zinc la copolimerul de N-vinilpirolidonă s-a realizat la temperaturi joase (3-5 ºC), cu utilizarea catalizatorului $AlCl_3$ anhidru. Purificarea polimerilor noi s-a realizat prin precipitarea în apă. Analiza structurii chimice a polimer analogilor s-a realizat prin utilizarea spectroscopiei IR și UV/Vis. A fost evaluată activitatea antimicrobiană, *in vitro*, a copolimerilor grefați cu ftalocianină de zinc față de tulpinile microbiene ca *S. Aureus, E. Coli, Ps. Aeruginosa* și altele. S-a demonstrat că polimer analogii obținuți posedă activitate bactericidă relativ înaltă față de culturile *Ps. Aeruginosa, Pr. Vulgaris* în comparație cu furacilina sau clorhexidina, utilizate în calitate de substanțe de referință.

Cuvinte-cheie: *ftalocianina de zinc, N-vinilpirolidona, clorură de acriloil, absorbția luminii, proprietăți bactericide, culturi bactericide.*

SYNTHESIS OF WATER-SOLUBLE ANALOGS-POLYMERS OF POLY-N-VINYLPYROLIDONE GRAFTED WITH ZINC PHTHALOCYANINE

The paper describes the synthesis of polymer analogues of N-vinylpyrrolidone with acryloyl chloride functionalized with zinc phthalocyanine, by using the Friedel-Crafts method. The grafting of zinc phthalocyanine to N-vinylpyrrolidone copolymers was carried out at low temperatures (3-5 ºC), using the anhydrous $AlCl_3$ catalyst. The purification of the new polymers was carried out by sedimentation in water. The chemical structure of polymer analogues were performed by IR, UV/Vis spectroscopy. The bactericidal properties of the synthesized polymer analogs were studied. The antibacterial activity of grafted copolymers with zinc phthalocyanine was performed „*in vitro*", with a series of bactericidal cultures such as *S. Aureus, E. Coli, Ps. Aeruginosa* and others. It has been shown that the obtained polymer analogs possess relatively high bactericidal activity against some cultures such as *Ps. Aeruginosa, Pr. Vulgaris* to the action of furacilin or chlorhexidines, used as controls.

Keywords: *zinc phthalocyanine, N-vinylpyrrolidone, acryloyl chloride, light absorption, bactericidal properties, bactericidal cultures.*

Introducere

Una dintre cele mai interesante grupe de compuși ai derivaților de porfirină, având în vedere proprietățile lor fizico-chimice, sunt ftalocianinele de zinc, molecule fotosensibile cunoscute pentru stabilitatea lor chimică excepțională și proprietăți de absorbție a radiației electromagnetice în domeniul IR al spectrului electromagnetic [1, 2]. Ftalocianinele metalelor de tranziție sunt atractive și pentru terapia fotodinamică (PDT), deoarece în urma absorbţiei unei cuante de energie luminoasă de către o moleculă de fotosensibilizator aflată în stare fundamentală, unul dintre cei doi electroni ai orbitalului periferic molecular suferă o tranziţie energetică urcând pe un orbital de energie superioară, dând naştere unei stări excitate. Un electron aflat pe un nivel superior se poate dezexcita prin relaxare vibraţională, fluorescenţă sau tranziţie inster-sistem, proces prin care o moleculă trece dintr-o stare excitată de tip singlet într-o stare excitată de tip triplet, după

care fie va ceda energia printr-un proces de fosforescenţă, fie va declanşa reacţii fotodinamice – reacții succesive de oxidare-reducere, cu transfer de electroni sau protoni între moleculele participante sau - reacţii de transfer de energie între moleculele de fotosensibilizator în stare excitată de triplet şi oxigenul molecular, a cărui stare fundamentală are particularitatea de a avea o configuraţie de tip triplet şi care va fi transformat în oxigen singlet. Reacţiile fotochimice dau naştere speciilor reactive de oxigen: anion superoxid O^{2-}, radical hidroxil $OH^{\bullet}$ şi oxigen singlet $^1O_2$, acesta din urmă fiind extrem de agresiv şi considerat ca promotor distructiv al celulei tumorale [3, 4]. Această formă de oxigen este motivul activității biologice a fotosensibilizatorilor, deoarece, interacționând chimic cu celula tumorală, devine un agent oxidativ cu o reactivitate care o depășește semnificativ pe cea a stării standard de triplet [5].

În această lucrare o atenție deosebită se acordă problemei dizolvării ftalocianinei de zinc în solvenți acceptabili pentru practica medicală. Astfel, autorii [6,7] au reușit să solubilizeze ftalocianinele de fier și mangan în apă folosind polimeri solubili în apă precum poli-N-vinilpirolidona (PVP), sau polietilenglicol (PEG). Pentru aceasta, autorii [6] au dizolvat inițial ftalocianine de fier și mangan în acid sulfuric concentrat și apoi soluția a fost diluată cu o cantitate mică de dimetilformamidă, apoi amestecată cu o soluție diluată (2%) de poli-N-vinilpirolidonă. Soluția apoasă rezultată a fost utilizată pentru testarea proprietăților bactericide ale acestor metaloftalocianine.

Activitatea bactericidă a fost evaluată prin determinarea diametrului zonei de inhibiție a creșterii unor specii de bacterii [6]. Ftalocianinele au fost incorporate preliminar în o probă de agar-agar. S-a studiat efectul unui preparat bactericid asupra culturilor testate de S. Aureus, E. coli, precum și asupra altor culturi. Temperatura de testare – 37 ºC, perioada de incubare - 24 ore. Autorii [6] au propus o soluție practică de a crea, pe baza acestor preparate polimerice PVP: PcFe și PVP:PcMn, un remediu de control al gradului de contaminare a obiectelor cu aceste microorganisme.

În acest context, pentru a realiza sisteme polimerice solubile în apă fără utilizarea acizilor minerali (acid sulfuric sau clorhidric), s-au sintetizat noi preparate polimerice din copolimeri de N-vinilpirolidonă și clorură de acriloil, funcționalizați cu ftalocianina de zinc.

Partea experimentală

Este bine cunoscut faptul că poli-N-vinilpirolidona este bine solubilă în apă și nu este toxică [8]. Pe baza acestor considerații, s-a decis utilizarea copolimerilor de N-VP cu ftalocianina de zinc obținută prin substituția în inelul benzenic conform schemei de mai jos. Sinteza se realizează în două etape. În prima etapă, N-vinilpirolidona a fost copolimerizată cu clorură de acriloil (ClAC) prin mecanism radicalic în prezența inițiatorului de azo-bis-izobutironitril (AIBN), la o temperatură de 80 ºC conform metodicii descriese în [9].

După aceasta, copolimerii ce conțin de la 5 la 15 mol% ClAC s-au supus reacției Friedel-Crafts conform schemei (fig. 1).

Sinteza copolimerului grefat (III) s-a realizat la temperaturi joase 3-5 ºC în prezența catalizatorului $AlCl_3$ anhidru. Concentrația de ftalocianină trebuia să fie identică cu concentrația clorurii de acriloil. După această etapă se obține un nou copolimer grefat cu ftalocianină de zinc. Randamentul reacției constituie circa 75%.

Rezultate și discuții

Cercetarea structurii chimice a produșilor sintetizați

Pentru a confirma structura chimică a produșilor sintetizați ftalocianina de zinc (a), inclusiv polimerii, polimer analogului III din ftalocianină de zinc (b), copolimerul II (NVP: ClAC) (c) s-au analizat prin intermediul spectroscopiei IR (Fig. 2).

După cum rezultă din Fig. 2, în spectrul IR al polimer analogului se constată apariția unei noi benzi de absorbție, la frecvență $\nu = 1720$ cm^{-1}, caracteristice grupării carbonil, cât și dispariția și creșterea unor vibrații, de exemplu, $\nu = 841$ cm^{-1}, caracteristică a legăturii C-Cl. O parte din grupările de clorură acidă intră în reacții de substituție în ciclul benzenic, iar grupările libere sunt hidrolizate în timpul reprecipitării polimer analogului în apă. În spectrul IR al copolimerului NVP:ClAC-PcZn, există benzi de absorbție caracteristice PcZn pur la $\nu = 1000$-1500 cm^{-1} și la $\nu = 2000$-2200 cm^{-1}. Compoziția chimică a polimer analogilor obținuți poate fi confirmată și prin capacitatea lor de a se dizolva în apă, ceea ce este foarte important pentru utilizarea lor și în practica terapiei fotodinamice și în alte domenii ale medicinei.

Fig. 1. Schema de sinteză a polimer analogului N-VP cu clorură de acriloil, grefat cu ftalocianină de zinc.

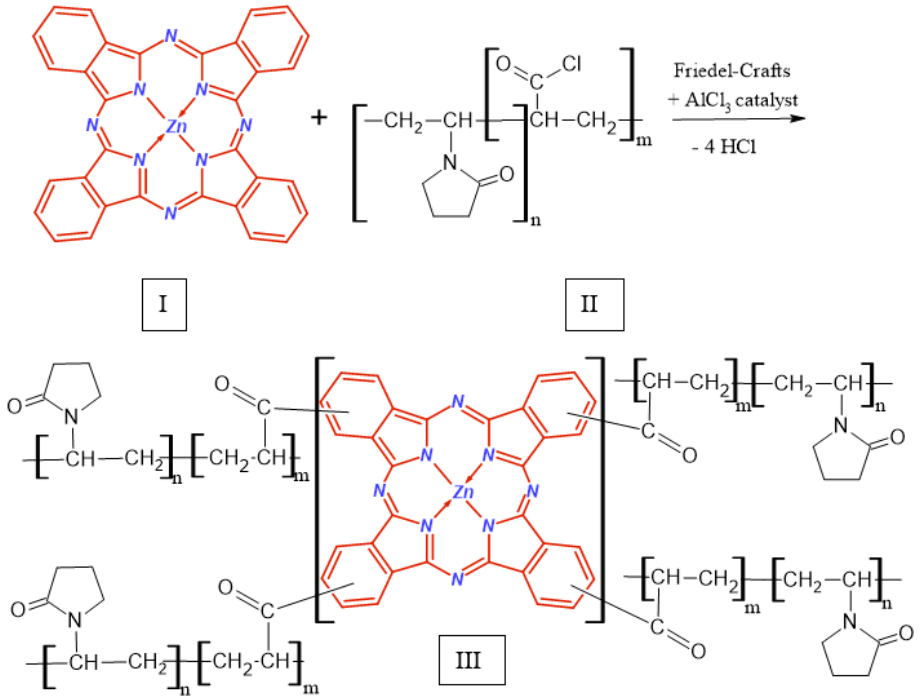


Fig. 2. Spectre IR: a – ftalocianină de zinc, b – copolimer N-VP:ClAC-PcZn, c – NVP: ClAC.

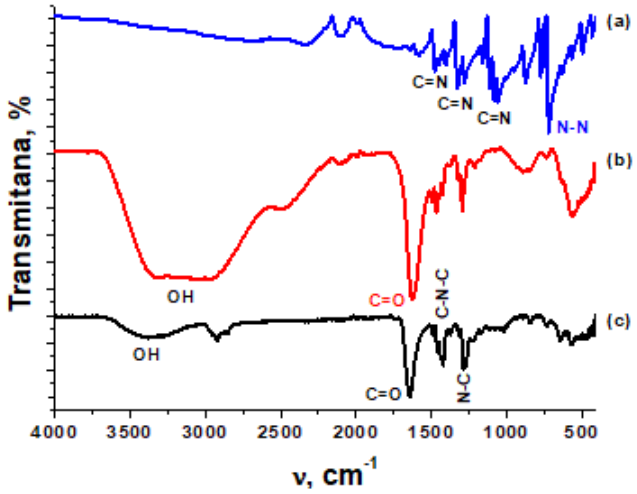
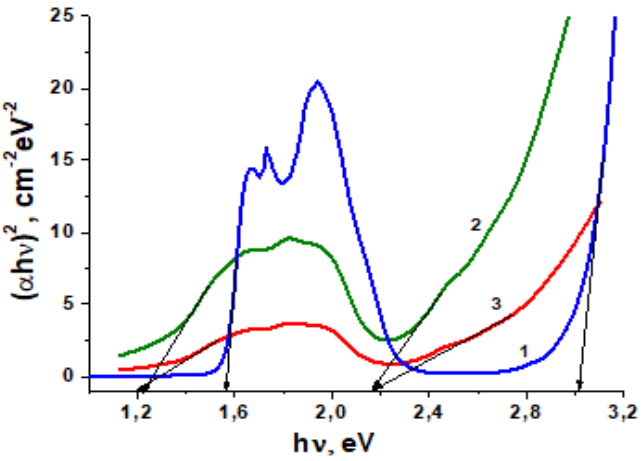


Fig. 3. Dependenţa $(\alpha h\nu)^2=f(h\nu)$ pentru: 1 - ftalocianină pură; 2 - soluţie de copolimer ftalocianinic în apă de 3%; 3 – soluţie de copolimer de 1%



Din spectrele de absorbţie în UV-Vis ale ftalocianinei pure (a), soluţiilor de copolimer ftalocianină de 1 % (b) şi 3 % (c) se observă o bandă largă de absorbţie ce se extinde de la 500 până la 850 nm, care creşte considerabil odată cu majorarea concentraţiei ftalocianinei de zinc în polimer analog.

Un interes deosebit prezintă regiunea de la 400 nm la 1000 nm, care corespunde benzii Q. Valorile benzii optice interzise au fost estimate folosind dependenţa $(\alpha h\nu)^2 = f(h\nu)$ prin extrapolarea părţii liniare a marginii de absorbţie la intersecţie cu axa energiei, aşa cum se arată în fig. 3. Valorile estimate ale benzii interzise în regiunea vizibilă a probelor de soluţii apoase de copolimer cu o concentraţie de 1% şi 3% au fost relativ mai mici în comparaţie cu ftalocianina de zinc pură. Astfel, studiile optice au demonstrat prezenţa unei tranziţii directe, a cărei valoare depinde de concentraţia copolimerului de ftalocianină în apă.

Studiul proprietăţilor antimicrobiană

Activitatea antimicrobiană a compuşilor sintetizaţi a fost studiată *in vitro* prin metoda diluţiilor în serie [10]. Rezultatele testărilor bactericide ale polimer analogului ftalocianinic NVP:ClAC-PcZn sunt prezen-

tate în tabelul 1. Pentru claritate, acestea au fost comparate cu preparate bactericide bine cunoscute, cum ar fi furacilina și clorhexidina. După cum rezultă din tabel, activitatea bactericidă a noului polimer analog NVP:ClAC-PcZn nu este cu mult inferioară decât al furacilinei și clorhexidinei.

Tabelul 1. Indicii bactericizi ai CMB pentru copolimerul ftalocianinic N-VP:ClAC-PcZn (90:10 mol%).

Preparate	Microorganisme (culturi bacteriene), µg/mL				
	S. aureus (t. 209)	*E. faecalis (t. ATCC 19433)*	*E. coli (t. ATCC 25922)*	*Ps. Aeruginosa (t. ATCC 27853)*	*Pr. vulgaris (t. HX 19222)*
Polimer analog NVP-ClAC- ZnPc cu 10% conținut masic de ZnPc	~300	75	110	75	80
Furacilina	38	89	58	>300	>300
Clorhexidina	125	115	230	>300	>300

Preparatul nou prezintă activitate bactericidă față de *P. aeruginosa*, precum și *P. vulgaris*. Pentru aceste culturi bacteriene, în special pentru *P. aeruginosa*, furacilina și clorhexidina sunt practic inactive. Indicii bactericizi prezentați în tabelul 1 denotă că copolimerii furacilinei cu NVP-ClAC- ZnPc manifestă activitate împotriva tuturor bacteriilor și microorganismelor enumerate în tabel.

Concluzii

A fost efectuată funcționalizarea ftalocianinei de zinc cu copolimerul N-vinilpirolidonă și clorură de acriloil prin metoda Friedel-Crafts, cu un randament de circa 75%.

Rezultatele studiului cu metoda spectrofotometrică UV-Vis în intervalul de lungimi de undă 500 - 1000 nm, demonstrează sensibilitatea fotodinamică a acestor materiale.

Polimer analogii ftalocianinici sintetizați prezintă activitate antimicrobiană semnificativă pentru *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* și alte culturi bacteriene.

Referințe:

1. DOTOVA, O., IUZHATOVA, O., SOLOVYOVA, I., NEGRINOVSKY, V., LUKYASNETS, E., KALTYA, O. Water-soluble manganese phthalocyanines. In: *Porphyrines and Phtalocyanines*, 2013, Nr.17, p. 881-888.
2. МАЙЗЛИШ, В., ШАПОШНИКОВ, Т., СНЕГИРЕВА, Ф., КОЛЕСНИКОВА, Е., СМИРНОВ, Р. Синтез и свойства макрогетероциклических соединений с атомами азота в бензольных кольцах изоиндольных фрагментов. В: *Изв. Вузов. Химия и химическая технология,* 1990, Nr. 33, с.70-74.
3. УДАРЦЕВА, О., ЛОБАНОВ, А., АНДРЕЕВА, Е., ДМИТРИЕВА, Г., МЕЛЬНИКОВ, М., БУРАВКОВА, Л. Фотофизические свойства и фотодинамическая активность нанокомпозитных фталоцианинов алюминия. В: *Биофизика*, 2014, Nr. 6, с.1051-1060.
4. KRASNOVSKY, A. Photodynamic action and singlet oxygen. In: *Biophysics,* 2004, Nr. 49(2), p. 305–321.
5. MARTUSEVICH, A., PERETYAGIN, S., MARTUSEVICH, A. Features of the action of singlet oxygen and ozone on lipoperoxidation processes and the antioxidant system of rat blood and tissues. In: *Sovrem. Technol. Med.* 2012, Nr. 2, p.1057 –1066.
6. ЛОБАНОВ, А., ВАСИЛЬЕВ, С., КОНОНЕНКО, А., БАННИКОВА, Д., БРИТОВА, С., САВИНОВА, Е., ГОРШЕНЕВ, В., ЗАИКОВ, Г., ВАРФОЛОМЕЕВ, С. Комплексы фталоцианинов железа и марганца с полимерами. Агрегационные свойства и биоцидная активность. В: *Вестник Казанского технологического университета,* 2015, Nr. 2, с. 111-113.
7. ГОРБУНОВА, М. Прикладные аспекты химии N-винилпирролидона и его полимеров. В: *Вестник Пермского научного центра*, 2012, Nr. 1, с. 17-21.
8. TIULEANU, P., ROBU, S., RUSNAC, R., POTLOG, T., FURTUNA, V., PRISACARI, V. // Proceedings of the 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering, Proceedings of ICNBME-2019, 2019, p. 727-730.

9. POTLOG, T., LUNGU, I., TIULEANU, P., ROBU, S. Photophysical Properties of Linked Zinc Phthalocyanine to Acryloyl Chloride:N-vinylpyrrolidone Copolymer In: *Polymers,* 2021, Nr. 13(24), p. 4428.
10. ПЕРШИН, Г. Методы экспериментальной химиотерапии. В: *Медцина,* 1971, p. 357-359.

Date despre autori:
Stefan ROBU, dr., cercetător științific superior în LCȘ Materiale Organice/Anorganice în Optoelectronică; Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: s.v.robu@mail.ru
ORCID: 0000-0002-9804-5543

Tamara POTLOG, dr., cercetător științific coordonator în LCȘ Materiale Organice/Anorganice în Optoelectronică; Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: tpotlog@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1243-9371

Ion LUNGU, doctorand, Școala doctorală Științe Fizice și Inginerești, cercetător științific stagiar în LCȘ Materiale Organice/Anorganice în Optoelectronică, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: ionlungu.usm@gmail.com
ORCID: 0000-0002-7117-672X

Petru BULMAGA, dr., cercetător științific superior în LCȘ Materiale Organice/Anorganice în Optoelectronică, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: pbulmaga@mail.ru
ORCID: 0000-0003-0141-4902

Pavel TIULEANU**,** doctorand, Departamentul Chimie Organică, Universitatea de Chimie Tehnologică „D. I. Mendeleev”, Moscova, Rusia.
E-mail: capitainvrungel@gmail.com
ORCID: 0000-0003-0811-8858

Viorel PRISACARI**,** dr. hab., Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițeanu”.
E-mail: viorel.prisacari@usmf.md
ORCID: 0000-0002-8694-2327

Veronica SAVA, dr., Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițeanu”.
e-mail: veronica.sava@usmf.md
ORCID: 0000-0002-9137-4205

Prezentat la 20.12.2022

CZU: 661.183.2:544.723.2

STUDIUL PROCESELOR DE ADSORBȚIE A VITAMINEI B6 PE ADSORBANȚI CARBONICI AUTOHTONI

Nina ȚÎMBALIUC, Oleg PETUHOV, Tudor LUPAȘCU, Nina BOLDURESCU
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

În lucrare sunt prezentate rezultatele studiului adsorbției vitaminei B6 pe două mostre de cărbune activ autohton: AC-C și CAN-8. Datele cineticii de adsorbție, determinate la trei valori ale concentrației inițiale, denotă că rata de imobilizare a adsorbatului crește odată cu creșterea timpului de contactare dintre cele două faze și este funcție de concentrația inițială. Izotermele de adsorbție a vitaminei B6 au fost prelucrate utilizând ecuațiile de adsorbție Langmuir și Freundlich. S-a stabilit că imobilizarea vitaminei B6 pe adsorbanții cercetați este mai bine descrisă de modelul Langmuir. Valorile adsorbției maximale înregistrate pentru cărbunii activi AC-C și CAN-8 sunt în concordanță cu parametrii de structură a cărbunilor cercetați. Cercetările realizate atestă **că** contaminanții emergenți, cu o masă moleculară și proprietăți chimice similare cu vitamina B6, pot fi eficient imobilizați și **îndepărtați** din soluții apoase folosind cărbunii activi autohtoni AC-C și CAN-8 în calitate de adsorbanți obținuți din materie primă locală.

Cuvinte-cheie: *adsorbție, vitamina B6, cărbuni activi, cinetica, izoterme.*

STUDY OF THE ADSORPTION PROCESSES OF VITAMIN B6 ON AUTOCHTHONOUS CARBON ADSORBENTS

The paper presents the results of the study of the adsorption of vitamin B6 on two samples of autochthonous activated carbon: AC-C and CAN-8. The adsorption kinetics data, determined at three values of initial concentration, show that the immobilization rate of vitamin B6 increases with increasing contact time between the two phases and is a function of the initial adsorbate concentration. The adsorption isotherms of vitamin B6 were processed using the equations of Langmuir and Freundlich adsorbtion, model. It was determined that the immobilization of vitamin B6 on the studied adsorbants is better described by the Langmuir model. The maximum adsorption values recorded for activated carbons AC-C and CAN-8 are in concordance with the structural parameters of the investigated carbons. The realized research shows that emergent contaminants, such as vitamin B6, can be effectively immobilized and removed from aqueous solutions using autochthones activated carbons AC-C and CAN-8 as adsorbents obtained from local raw material.

Keywords: *adsorption, vitamin B6, activated carbons, kinetic, isotherms*.

Introducere

Poluarea continuă și tot mai masivă a mediului ambiant este una dintre cele mai stringente probleme a contemporaneității [1-3]. În plus, în ultimii ani, ca urmare a gestionării defectuoase a deșeurilor toxice și a consumului excesiv de produse farmaceutice, poluanții emergenți sunt tot mai prezenți în bazinele acvatice, afectând mult calitatea vieții [4-8]. Principalele surse de emisie a contaminanților emergenți sunt agricultura, sectorul zootehnic, industria farmaceutică, produsele cosmetologice etc. Sistemele tradiționale de tratare a apei nu oferă soluții adecvate pentru eliminarea poluanților emergenți iar criteriile de limitare a acestora în apă încă nu au o reglementare universală. Respectiv, cercetările în domeniul studiului poluanților emergenți, a metodelor de diminuare a impactului acestora asupra calității apei, sunt actuale, utile și indispensabile exigențelor curente. Evident, este imperativ să se elaboreze și implementeze metode eficiente de eliminare a acestei categorii de poluanți. Una dintre cele mai eficiente și practice tehnici de îndepărtare a poluanților din apă este adsorbția, metodă utilizată pe scară largă și în cazul imobilizării produselor farmaceutice [9-12]. Cercetările recente atestă că folosirea adsorbanților carbonici in procesul de adsorbție permite imobilizarea a cel puțin 50% din concentrația inițială de contaminanții emergenți prezenți în apă [13-17]. Obținerea cărbunelui activ industrial este un procedeu destul de costisitor, iar folosirea biomaterialelor regenerabile autohtone la fabricarea acestora poate diminua semnificativ prețul lor. Utilizarea adsorbanților carbonici

în tehnologiile de epurare este justificată de faptul că cărbunii activi sunt capabili să îndepărteze un spectru foarte larg de poluanți, practic în totalitate [18-21]. Scopul acestei cercetări a fost modelarea și studiul proceselor de adsorbție a moleculelor biologic active pe cărbuni activi autohtoni. În calitate de adsorbat s-a utilizat vitamina B6 (Pyridoxine, 4,5-bis(hydroxymethyl)-2-methylpyridin-3-ol), o hidroximetilpiridină cu grupări hidroximetil în pozițiile 4 și 5, o grupare hidroxi în poziția 3 și o grupare metil în poziția 2.

Materiale și metode

În cercetările experimentale a studiului procesului de adsorbție pe post de adsorbanți s-au folosit două tipuri de cărbune activ autohton: AC-C (obținut din sâmburi de caise), CAN-8 (obținut din coji de nuci). Proba AC-C a fost obținută din sâmburi de caise în reactor vertical prin activare cu vapori de apă în strat fluidizant. Proba CAN-8 a fost obținută din coji de nuci în reactor orizontal prin activare cu vapori de apă prin metoda clasică.

Vitamina B_6 (Pyridoxine, $C_8H_{11}NO_3$, masa molară= 169,18 g/mol) a fost procurată de la Sigma-Aldrich, având gradul de puritate de minim 99.0%.

Metoda experimentală utilizată pentru studiul procesului de adsorbție constă în dozarea la cantități determinate de cărbune activ (0.05 g) a volumelor fixe (0,05 L) de soluții cu concentrații cunoscute. Contactarea/agitarea s-a efectuat în agitatorul termostatat (model ELPAN, water bath shaker type 357) la temperatura 25^{0}C cu o viteză de 150 rotații/min. până la stabilirea echilibrului procesului de adsorbție. Intervalul de timp suficient pentru stabilirea echilibrului s-a determinat din curbele cineticii de adsorbție, determinate după contactarea/agitarea probelor cu o concentrație constantă de adsorbat într-un interval de timp, cuprins între 15 și 300 minute.

Izotermele de adsorbție s-au determinat după stabilirea echilibrului procesului în funcție de natura adsorbantului. Măsurările spectrofotometrice s-au efectuat la spectrofotometrul UV-VIS, modelul JENWAY 6505. Valoarea adsorbției s-a determinat conform relației (1), unde: *a* - valoarea adsorbţiei, mmol/g; C_0 - concentrația inițială a soluției, mmol/L; Ce - concentrația de echilibru, mmol/L; V- volumul soluției, L; m – cantitatea de adsorbant, g.

Probele separate la filtrare prin hârtie de filtru cu bandă albastră au fost analizate spectrofotometric la lungimea de undă λ=324 nm. Izotermele de adsorbție determinate au fost prelucrate utilizând ecuațiile modelelor de adsorbție Langmuir (2) și Freundlich (3), unde: a_m-adsorbția maximală, mmol/g, K_L- constanta Langmuir, L/mmol, C_e-concentrația de echilibru, mmol/L, n și K_F- constante Freundlich.

$$a = \frac{(C_o - C_e)\,V}{m} \quad (1) \qquad a_e = \frac{a_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (2) \qquad a_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3)$$

Suprafața specifică și parametrii de structură a cărbunilor activi studiați s-au determinat din izotermele de adsorbție/desorbție a azotului, măsurate la 77 K la AUTOSORB-1MP de la Quantacrom [22]. Pentru calculul suprafeței specifice, S_{BET}, s-a utilizat ecuația Brunauer-Emmett-Teller, iar volumul total al porilor, V_t, s-a determinat prin conversia cantității de gaz N_2 adsorbit la presiunea relativă de 0,99 în volumul lichid echivalent al materialului adsorbit (N_2). La estimarea volumului microporilor, V_{mi}, s-a utilizat metoda „t” , iar volumul mezoporilor, V_{me} s-a calculat din diferența dintre V_t și V_{me}

Rezultate și discuții

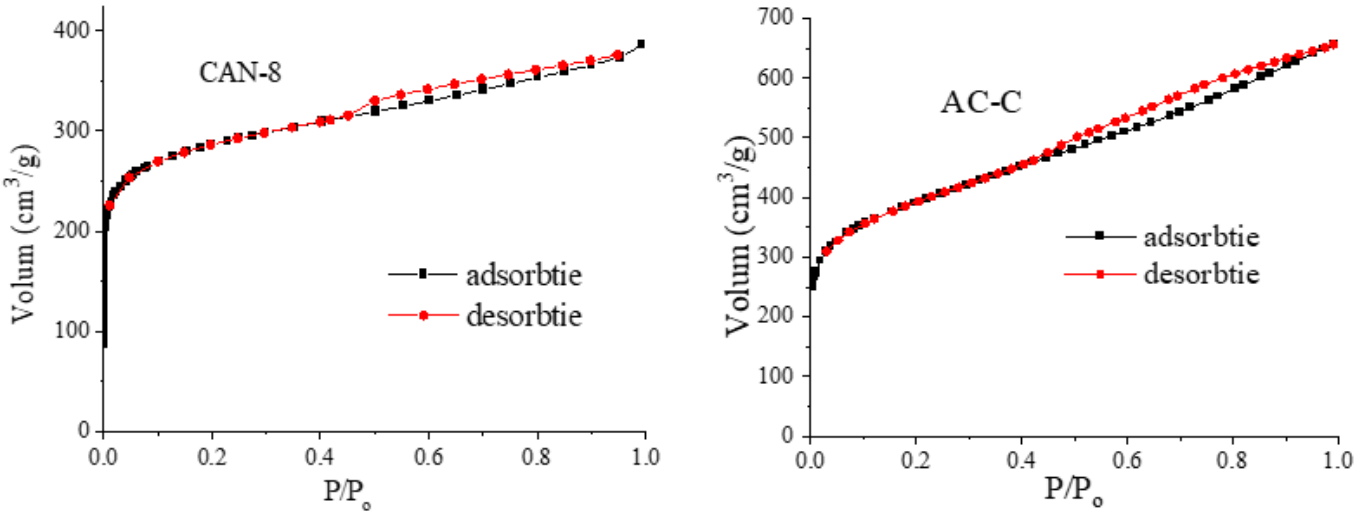
Parametrii de structură a cărbunilor activi AC-C și CAN-8, determinați din izotermele de adsorbție/desorbție a azotului (figura 1) sunt prezentați în tabelul 1.

Tabelul 1. **Parametrii de structură a cărbunilor activi AC-C si CAN-8.**

Proba	S_{BET} m^2/g	V_{mi} cm^3/g	V_{me} cm^3/g	V_t cm^3/g	V_{me} %	V_{mi} %
AC-C	1385	0,341	0,602	0,943	63,8	36,2
CAN-8	1071	0,413	0,185	0,598	30,93	69,1

S_{BET} - suprafața specifică, m^2/g; **V_t -** volumul total al porilor, cm^3/g; **V_{mi}-** volumul microporilor, cm^3/g; **V_{me}** – volumul mezoporilor, cm^3/g

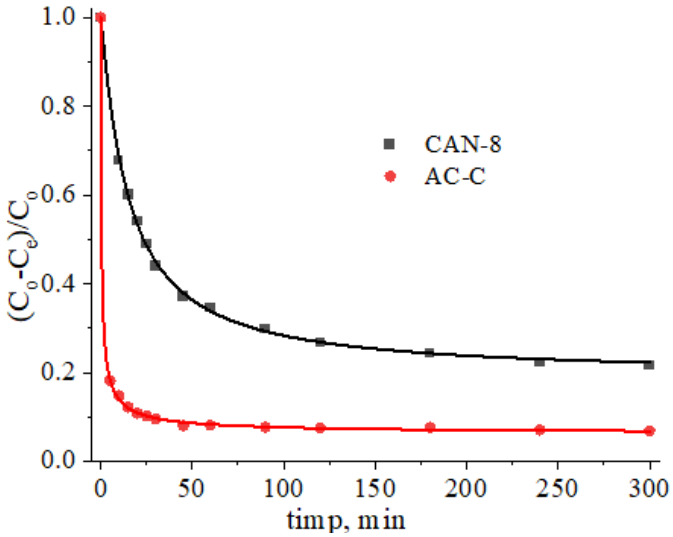
Fig. 1. Izotermele de adsorbţie - desorbţie a azotului (77 K) pentru cărbunii activi CAN-8 si AC-C.



Analiza datelor prezentate în tabelul 1 ne permite să constatăm că metoda de obținere a cărbunelui activ în strat fluidizat, aplicată în cazul probei AC-C, generează un adsorbant preponderent mezoporos (63,8%). Utilizarea metodei tradiționale de activare cu vapori de apă, folosită la obținerea cărbunelui activ CAN-8, a favorizat formarea microporilor (69,1%) a acestui adsorbant. Referitor la caracteristicile de suprafață a acestor adsorbanți este evidentă superioritatea cărbunelui AC-C, pentru care s-a înregistrat o valoare a suprafeței specifice cu cca 25% mai mare față de cărbunele CAN-8.

Parametrii de adsorbție a vitaminei B6 pe cărbunii activi AC-C și CAN-8 s-au studiat din soluții apoase la temperatura constantă de 25^{0}C. Timpul optim de contactare/agitare a soluției de adsorbat cu mostrele de cărbune cercetat, necesar pentru atingere echilibrului de adsorbție, a fost determinat din curbele cineticii de adsorbție prezentate în figura 2.

Fig. 2. Curbele cineticii de adsorbție a vitaminei B6 pe cărbunii activi AC-C și CAN-8.



Datele pentru gradul de adsorbție a vitaminei B6 de către probele de adsorbant cercetate, prezentate în tabelul 2, atestă că rata de eliminare a adsorbatului crește odată cu creșterea timpului de contact și apoi ajunge la o valoare constantă când se atinge echilibrul de adsorbție. La etapa inițială, imobilizarea adsorbatului decurge destul de rapid. Astfel, în primele 30 min se reține 90% din cantitatea totală de adsorbat pe mostra AC-C și 55 % pe cărbunele CAN-8. Ulterior, procesul de adsorbție devine mai lent, iar pentru stabilirea echilibrului procesului de adsorbție sunt suficiente cca 180-300 minute de contactare, funcție de natura adsorbantului. Pentru toate studiile ulterioare de adsorbție s-a decis că timpul optim de contactare/agitare să fie de cinci ore.

Tabelul 2. Gradul de imobilizare a vitaminei B6 (%) pe cărbunii AC-C şi CAN-8.

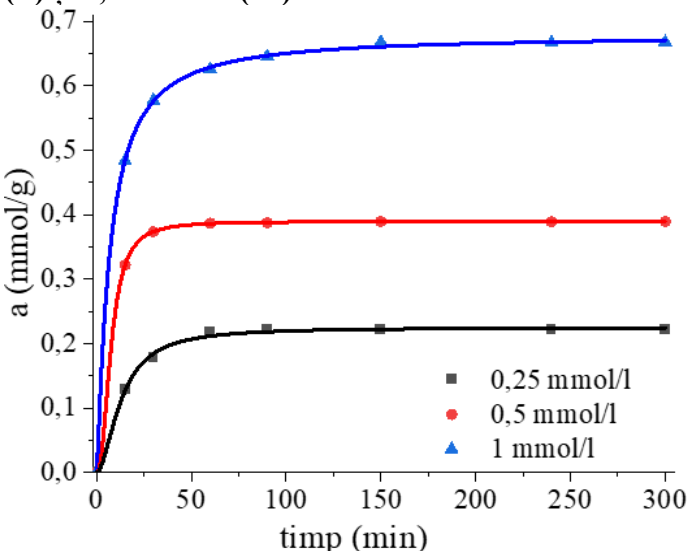
Proba	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	300 min
AC-C	87,5	89,7	91,7	92,2	92,3	92,7	92,8
CAN-8	39,88	54,72	64,01	68,65	71,72	75,14	76,63

Estimarea influenței factorului de concentrație asupra cineticii procesului de adsorbție s-a realizat la trei valori a concentrației inițiale. În figura 3 sunt prezentate curbele cineticii de adsorbție, determinate pentru adsorbantul AC-C, măsurate la concentrațiile 0,25, 0,5 și 1,0 mmol/L în intervalul de timp cuprins între 15-300 minute. Rezultatele experimentale obținute denotă că odată cu creșterea concentrației inițiale are loc o creștere considerabilă a cantității de adsorbat, reținută pe unitatea de masă de adsorbant. Referitor la rata de reținere a adsorbatului, aceasta descreşte de la 88,6% pentru C_o=0,25mmol/L până la 66,8% pentru C_o=1,0 mmol/L (tabelul 3).

Tabelul 3. Rata de imobilizare a vitaminei B6 (%) pe cărbunele AC-C în **funcție de concentrația inițială.**

Concentrația inițială, a vitaminei B6, mmol/L	15 min	30 min	60 min	90 min	150 min	300 min
0,25	47,7	79,48	87,48	88,41	88,52	88,61
0,5	67,5	74,74	77,38	77,54	77,82	77,88
1,0	49,88	57,78	62,58	64,56	66,67	66,82

Fig. 3. Curbele cineticii de adsorbţie a vitaminei B6 pe cărbunele activ AC-C la concentraţiile 0,25 mmol/L (■) , 0,5 mmol/L(●) şi 1,0 mmol/L(▲).



Valoarea concentrației inițiale influențează semnificativ și durata de contactare/agitare necesară pentru atingerea echilibrului procesului de adsorbție, diminuând acest parametru de la 180 min în cazul concentrației de 1,0 mmol/L până la 60 min pentru Co=0,25 mmol/L

Izotermele de adsorbție a vitaminei B6 pe cărbunii AC-C și CAN-8, prezentate in figura 4, au fost măsurate la menținerea sistemelor adsorbant/adsorbat (concentrația inițială cuprinsă în limitele 0,2-2,5 mmol/L) într-un agitator termostat la temperatura 25^{0}C (timp de contactare - agitare 300 minute) după stabilirea echilibrului de adsorbție.

Măsurarea izotermelor de adsorbție a vitaminei B6 pe adsorbanții cercetați a permis stabilirea valorilor adsorbţiei maximale ($\mathbf{a_m}$) pentru fiecare sistem adsorbat/adsorbant analizat și estimarea corelației între parametrii de structură a cărbunilor cercetați și capacitatea lor de adsorbție față de vitamina B6. Pentru cărbunele activ autohton AC-C valoarea ($\mathbf{a_m}$) înregistrată constituie 1,63 mmol/g iar în cazul probei CAN-

8 capacitatea de imobilizare a vitaminei B6 este de 1,08 mmol/g. Datele obținute sunt în concordanță cu parametrii de structură a cărbunilor cercetați (tabelul 2). Astfel, capacitatea de adsorbție a cărbunelui AC-C față de vitamina B6, practic dublă în raport cu cărbunele CAN-8, este determinată de valorile mai mari ale suprafeței geometrice, volumului total de pori, cotei de mezopori.

Fig. 4. Izotermele de adsorbție a vitaminei B6 pe cărbunii activi AC-C (●) și CAN-8 (■).

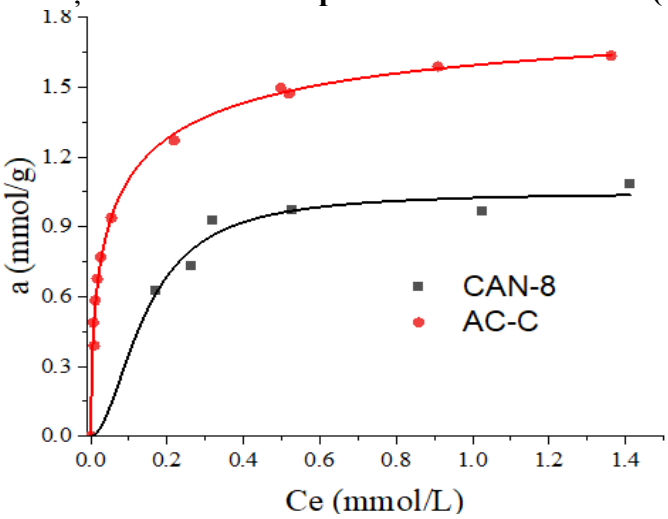
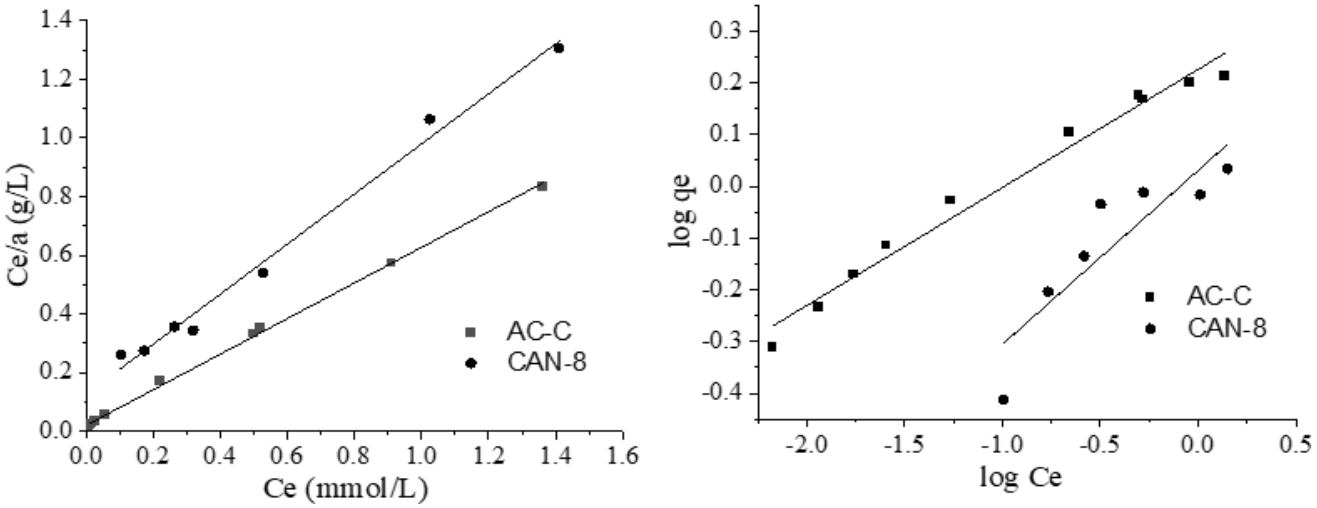


Fig. 5. Forma liniarizată conform ecuațiilor Langmuir (A) și Freundlich (B) a izotermelor de adsorbție a Vitaminei B6 pe cărbunii AC-C și CAN-8.



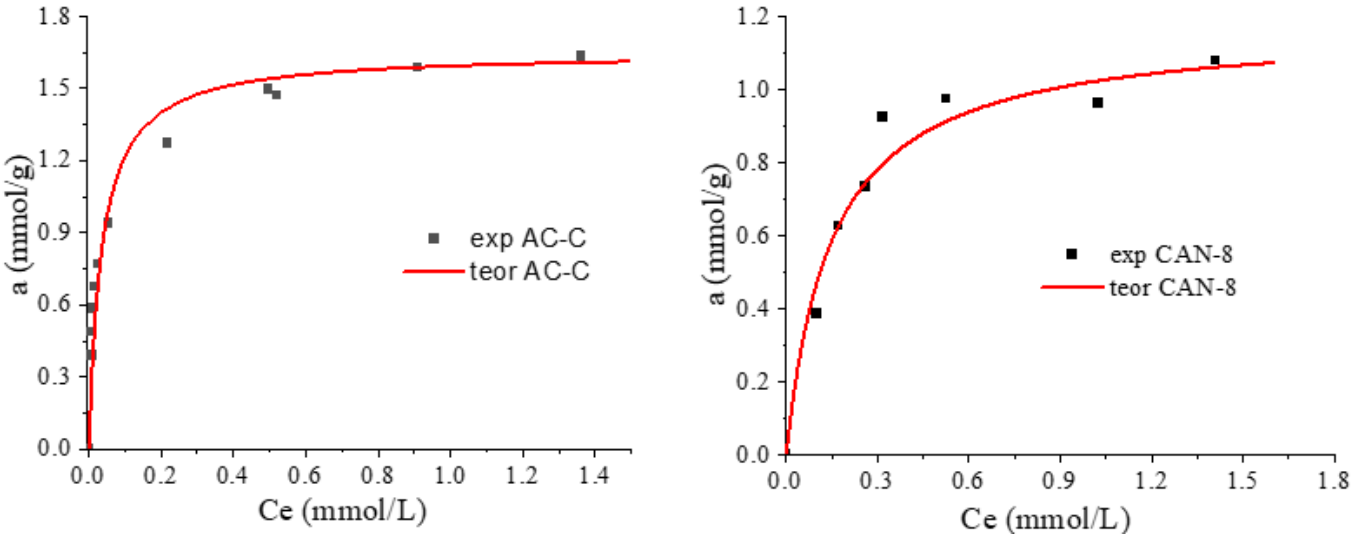
Datele experimentale ale izotermelor de adsorbție a vitaminei B6 pe cărbunii AC-C și CAN-8 au fost prelucrate utilizând ecuațiile modelelor de adsorbție Langmuir și Freundlich. În figura 5 este prezentată forma liniarizată a izotermelor de adsorbție, calculată conform ecuațiilor Langmuir (A) și Freundlich (B). Din graficele prezentate se observă că datele experimentale corelează cel mai bine cu modelul Langmuir, fapt confirmat și de valorile parametrilor de adsorbție a cărbunilor studiați, prezentați în tabelul 4.

Tabelul 4. Parametrii de adsorbție Langmuir și Freundlich, determinați pentru adsorbția vitaminei B 6 pe cărbunii AC- și CAN-8.

Proba	amax (exp), mmol/g	Langmuir			Freundlich		
		amax, mmol/g	KL, L/ mmol	R2	n	KF, L/g	R2
AC-C	1,63	1,65	28,04	0,998	4,38	1,68	0,979
CAN-8	1,08	1,17	6,65	0,989	2,98	1,07	0,786

După calcularea parametrilor de adsorbție, pentru cărbunii activi studiați, au fost construite izotermele de adsorbție în baza datelor experimentale și a celor calculate după modelul de adsorbție Langmuir (figura 6).

Fig. 6. Izotermele de adsorbție a vitaminei B6 pe cărbunii activi AC-C și CAN-8 obținute experimental (■) și calculate după modelul Langmuir (-).



Analiza valorilor adsorbției, obținute experimental, și celor calculate teoretic conform ecuațiilor Langmuir și Freundlich, denotă că datele experimentale, obținute la studiul procesului de imobilizare a vitaminei B6 pe cărbunii cercetați, sunt aproximate cel mai bine de modelul de adsorbție Langmuir.

Cercetările realizate arată că produsele farmaceutice, cum ar fi vitamina B6, pot fi eficient îndepărtate din soluțiile apoase folosind cărbunii activi autohton AC-C și CAN-8 în calitate de adsorbanți carbonici.

Concluzii

1. Parametrii de structura și suprafața specifică a adsorbanților carbonici AC-C și CAN-8 prezintă factorul determinant in procesul de imobilizare a vitaminei B6.
2. Datele experimentale, obținute în studiul procesului de imobilizare a vitaminei B6 pe cărbunii AC-C și CAN-8, sunt aproximate cel mai bine de modelul de adsorbție Langmuir.
3. Adsorbanții carbonici AC-C și CAN-8, obținuți din materie primă vegetală (sâmburi de caise, coji de nuci), pot fi eficient utilizași în tehnologiile de tratare a apelor pentru imobilizarea și îndepărtarea contaminanților emergenți de tipul vitaminei B6.

Referințe:

1. KELISHADI, R. Environmental Pollution: Health Effects and Operational Implications for Pollutants Removal. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012 (9). DOI: 10.1155/2012/341637
2. BINGHENG, C., HAIDONG, K. Air pollution and population health: a global challenge. *Environ Health Prev. Med*. 2008, 13(2), p. 94-101. DOI: 10.1007/s12199-007-0018-5
3. FERNÁNDEZ-NAVARRO, P., GARCÍA-PÉREZ, J., RAMIS, R., BOLDO, E., LÓPEZ-ABENTE, G. Industrial pollution and cancer in Spain: an important public health issue. *Environ Res*. 2017, 159, p.555–563. DOI:10.1016/j.envres.2017.08.049
4. PUCKOWSKI, A., ŁUKASZEWICZ, P., BORECK, M., CABAN, M. et al., Bioaccumulation and analytics of pharmaceutical residues in the environment. A review in *J. Pharm. Biomed. Anal* 2016, 127, p. 232-255. DOI:10.1016/j.jpba.2016.02.049
5. SARMAH, A.K., MEYER, M.T., BOXALL, A.B., A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 2006, 65, p. 725–759. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.026.
6. MOMPELAT, S., LE BOT, B., THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ. Int.* 2009, 35 (5), p. 803–814. DOI: 10.1016/j.envint.2008.10.008.

7. FEITOSA-FELIZZOLA, J., CHIRON, S. Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *Journal of Hydrology,* 2009, 364 (1), p. 50–57. DOI: 10.1016/j.jhydrol.2008.10.006
8. BATT, A. L., SNOW, D. D., AGA, D.S. Occurrence of sulfonamide antimicrobials in private water wells in Washington County, Idaho, USA. *Chemosphere*, 2006, 64 (11), p. 1963–1971. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.01.029.
9. LIAO, P., ZHAN. Z., DAI, J., ZHANG, K. WANG, S. YUAN, Y. Adsorption of tetracycline and chloramphenicol in aqueous solutions by bamboo charcoal: a batch and fixed-bed column study. *Chem. Eng. J.* 2013, 228, p. 496-505. DOI: 10.1016/j.cej.2013.04.118
10. RIVERA-UTRILLA, J., SÁNCHEZ-POLO, M., LÓPEZ-PEÑALVER, J., OCAMPO-PÉREZ R. Tetracycline removal from water by adsorption/bioadsorption on activated carbons and sludge-derived adsorbents. *J. Environ. Manage*, 2013, 131, p. pp. 16-24. DOI: 10.1016/j.jenvman.2013.09.024
11. CALISTO, V., FERREIRA, C. I., OLIVEIRA, J., OTERO, M., ESTEVES, V. Adsorptive removal of pharmaceuticals from water by commercial and waste-based carbons. *J. Environ. Manag*. 2015, 152, p. 83–90. DOI: 10.1016/j.jenvman.2015.01.019
12. MITCHELL, S. M., SUBBIAH, M., ULLMAN, J. L., FREAR, C., CALL, D.R. Evaluation of 27 different biochars for potential sequestration of antibiotic residues in food animal production environments. *J. Environ. Chem. Eng*. 2015, 3 (1), p. 162–169. DOI: 10.1016/j.jece.2014.11.012
13. SHENG, C., LIU, Y., VARGO, J., et al. Removal of Trace Pharmaceuticals from Water using coagulation and powdered activated carbon as pretreatment to ultrafiltration membrane system. *Science of The Total Environment*, 2016, 550, p. 1075-1083. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.179
14. SARICI-ÖZDEMIR, Ç., ÖNAL, Y. Study to observe the applicability of the adsorption isotherms used for the adsorption of medicine organics onto activated carbon. *Particul. Sci. Technol.* 2018, 36, p. 254–261. DOI: 10.1080/02726351.2016.1246497
15. De FRANCO, M.A., De CARVALHO, C.B., BONETTO, M.M., De PELEGRINI SOARES, R., FÉRIS, L. A. Diclofenac removal from water by adsorption using activated carbon in batch mode and fixed-bed column: Isotherms, thermodynamic study and breakthrough curves modeling. *J. Clean. Prod.* 2018, 181, p. 145–154. DOI:10.1016/j.jclepro.2018.01.138
16. MARQUES, S.C., et al., Pharmaceuticals removal by activated carbons: Role of morphology on cyclic thermal regeneration. *Chemical Engineering Journal*, 2017, v. 321, p. 233-244. DOI:10.1016/j.cej.2017.03.101
17. KÅRELID, V., LARSSON, G., BJÖRLENIUS, B. Effects of recirculation in a three-tank pilot-scale system for pharmaceutical removal with powdered activated carbon. *J. Environ. Manag.* 2017, 193, 163–171. DOI: 10.1016/j.jenvman.2017.01.078.
18. LUPAŞCU, T. Activated carbon from vegetal raw materials. Monograph/ In: *Romanian L.:* ÎEP: Ştiinţa, Chişinău, 2004, 224 p.
19. MUKHIN, V., LUPASCU, T., VOROPAEVA, N., et al. Activated carbons from vegetal raw materials to solve environmental problems. *Chem. J. Mold*. 2014, 9(1), p. 33-36. DOI: 10.19261/cjm.2014.09(1).03
20. RODRIGUEZ-REINOSO, F., MOLINA-SOBIA, M. and GONZALEZ, G. C. Preparation of activated carbon–sepiolite pellets. *Carbon*, 2001, 39, p. 771-785. DOI: 10.1016/S0008-6223(01)00011-2
21. DAGUERRE, E., GUILLOT, A. and STOECKLI, F. Activated carbons prepared from thermally and chemically treated petroleum and coal tar pitches. *Carbon*, 2001, 39(8): p. 1279-1285. DOI:10.1016/S0008-6223(00)00251-7
22. AUTOSORB AS-1. AS1Win. GAS SORPTION SYSTEM. Operation manual. In: *Firmware*: Ver 2.55. AS1Win Software: Ver 2.0 and Newer; Quantachrome Instruments*: Boynton Beach, FL, USA,* 2008.

Date despre autori:
Nina ŢÎMBALIUC, doctor în chimie, conferențiar cercetător, Institutul de Chimie al USM.
E-mail: timbaliuc_nina@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-5240-4651

Oleg PETUHOV, doctor în chimie, conferențiar cercetător, Institutul de Chimie al USM.
E-mail: petuhov.chem@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6428-9243

Tudor LUPAŞCU, academician, doctor habilitat în chimie, profesor cercetător, Institutul de Chimie al USM.
Email: lupascut@gmail.com
ORCID: 0000-0001-5913-7691

Nina BOLDURESCU, cercetător științific stagiar, Institutul de Chimie al USM.
E-mail: nina.boldurescu12@gmail.com

Notă*: Investigațiile au fost realizate în cadrul proiectului din Programul de Stat 2020-2023 cu titlul „Diminuarea impactului substanțelor chimice toxice asupra mediului și sănătății prin utilizarea adsorbanților și catalizatorilor obținuți din materie primă autohtonă”****, cifrul 20.80009.7007.21.*

Prezentat la 25.04.2023

STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE
Revista științifică a Universității de Stat din Moldova, 2023, nr. 1(161)

CZU: 542.943:615.33:546.22

DETERMINAREA CONSTANTELOR DE VITEZĂ K_{OH+S} CU UNELE ANTIBIOTICE PRIN METODA ACCEPTORILOR CONCURENȚI

Tatiana ISAC-GUȚUL, Elena TUTOVAN, Denis NICA

Universitatea de Stat din Moldova

Procesele de oxidare avansată (AOP) sunt utilizate pe scară largă pentru degradarea antibioticilor și altor micropoluanți din apele superficiale și reziduale. Gradul de degradare a unui medicament de către un AOP poate fi prezis reeșind din valoarea constantei de viteză de interacțiune a radicalilor hidroxilici cu substratul corespunzător - k_{OH+S} și, de asemenea, în baza altor proprietăți fizico-chimice care însoțesc procesul de degradare. Prin urmare, aceși factori sunt importanți pentru proiectarea schemelor tehnologice de tratare a apei poluate. Mai mult ca atât, un substrat cu valoarea k_{OH+S} cunoscută poate fi utilizat pentru a evalua aplicabilitatea și eficiența AOP și elucidarea cineticii și mecanismului de degradare a poluantului dat.

În lucrarea dată s-a urmărit viteza de oxidare a N,N –dimetil-p-nitrozoanilinei (PNDMA) în procesul de fotoliză a peroxidului de hidrogen în apă distilată și în apă poluată - soluții apoase care conțin diferite cantități ai unor sulfonamide (acetazolamidă (AC) și ftalilsulfatiazol (FL)) și fluorchinolone (moxifloxacină (MOX) și ciprofloxacină (CPF)) în sistemul UV - H_2O_2. Concentraţia mdicamentelor a variat între 2,5 mg/L şi 25 mg/L. În calitate de sursă de iradiere s-a utilizat lampa cu vapori de mercuri de înaltă presiune „ДРТ-1000". Folosind meoda acceptorilor concurenți în baza curbelor cinetice, au fost determinate constantele de interacțiune a radicalilor $^{\bullet}OH$ cu medicamentele menționate*:* k_{OH+AC} = 8.5×10^9 L/mol×s; k_{OH+FL} = 8.5×10^9 L/mol×s; k_{OH+MOX} = 1.42 ×10^9 L/mol×s.; k_{OH+CPF} = 6.3 ×10^9 L/mol×s. A fost calculată capacitatea de inhibiţie a apelor naturale $\Sigma\, k_i[S_i]$ în procesul de autopurificare în istemele-model utilizate. Valorile calculate ale constantelor respective variază între (5.4-17.7)×10^6 s^{-1}.

***Cuvinte-cheie**: AOP, fotoliză, UV/H_2O_2, constantele de interacțiune cu radicalii $^{\bullet}OH$, inhibitor specific.*

THE RATE CONSTANTS K_{OH+S} WITH SOME ANTIBIOTICS DETERMINATION BY THE COMPETETIVE INHIBITORS METHOD

Advanced oxidation processes (AOP) are widely used for the degradation of antibiotics and other micropollutants in surface and waste waters. The degree of degradation of a drug by an AOP can be predicted from the rate constant of the interaction of hydroxyl radicals with the substrate - k_{OH+S} value, as well as from other physicochemical properties accompanying the degradation processes, and therefore these factors are important for the design of technological schemes of treatment of polluted water. Moreover, a substrate with k_{OH+S} value known can be used to evaluate the applicability and efficiency of AOP and elucidate the kinetics and degradation mechanism of the given pollutant.

In this work, the rate of the oxidation of N,N-Dimethyl-p-nitrosoaniline (PNDMA) during the photolysis of hydrogen peroxide in distilled water and in the presence of different amounts of polluted water (aqueous solutions containing sulfonamides – acetazolamide (AC) and phthalylsulfathiazole (FL), fluoroquinilones - moxifloxacin (MOX) and ciprofloxacin (CPF) as pollutants) in the UV - H_2O_2 systems was studied. The concentration of the drugs varied between 2.5 mg/L and 25 mg/L. The „ДРТ-1000" high-pressure mercury vapor lamp as the irradiation source was used. Using competitive acceptors method and based on the kinetic curves, the interaction constants of $^{\bullet}OH$ radicals with the mentioned drugs were determined: k_{OH+AC} = 8.5 ×10^9 L/mol×s; k_{OH+FL} = 8.5×10^9 L/mol×s; k_{OH+MOX} = 1.42×10^9 L/mol×s; k_{OH+CPF} = 6.3×10^9 L/mol×s and the inhibiting capacity of natural waters $\Sigma\, k_i[S_i]$ in the self-purification process in the model systems used. The calculated values of the respective constants are varies between (5.4-17.7)×10^6 s^{-1}.

Keywords: *AOP, photolysis, UV/H_2O_2 process, $^{\bullet}OH$ radicals rate constants, specific inhibitors.*

Introducere

În ultimele decenii, comunitatea științifică a fost implicată în cercetarea noilor tipuri de contaminanți considerați drept contaminanții de îngrijorare emergentă (*CEC* - „contaminants of emerging concern"), un termen general care acoperă o clasă largă de compuși chimici de diferite tipuri: produse farmaceutice (medicamente, hormoni), pesticide și produse de îngrijire personală și de curățare pentru uz casnic, retardanți

de flacără, produse de îngrijire a gazonului și produse agricole care au fost găsiți frecvent în întreaga lume în efluenții apelor uzate, apele de suprafață și apele subterane [1-3]. Nocivitatea *CEC*, chiar și la concentrații mici, precum și proprietatea lor de bioacumulare și persistență, le face extrem de periculoase pentru sănătatea umană. Apele reziduale ale industriei farmaceutice sunt puternic poluate de diferite preparate medicinale, care pot nimeri în sol și apă, find o sursă puternică pe poluare. Procesele de oxidare avansată (AOP) sunt utilizate cu succes pentru degradarea antibioticilor și altor micropoluanți în sisteme-model, apele naturale și reziduale. Gradul de degradare a unui medicament de către un AOP poate fi prezis reeșind atât din valoarea k_{OH+S} cât din studiul cineticii reacției de degradare, și, prin urmare, reprezită un factor important pentru alegerea metodei portivite de generare a radicalilor $^{\cdot}OH$, selectarea și proiectarea schemelor tehnologice de tratare a apei poluate. Se cunoaște că radicalii hidroxilici sunt oxidanți foarte puternici, cu un potențial de oxidare de 2,8 V care reacţionează cu majoritatea compuşilor organici deoarece sunt oxidanți neselectivi [4]. În bibliografie sunt prezentate multiple exemple care demonstrează că radicalii $^{\cdot}OH$ reacţionează cu majotitatea fragmentelor organice. Acești radicali sunt responsabili pentru peroxidarea lipidelor și stresul oxidaiv *in vivo* [5]. Generarea radicalilor $^{\cdot}OH$ în sistemele AOP poate avea loc în instalații inzestrate cu lămpi de iradiere cu raze UV. Acestea paralel cu generarea speciilor reactive, au un aport major în degradarea micropoluanților. Degradarea substanțelor organice variază în funcție de tipul lămpii UV, datorită diferenței dintre lungimile de undă de emisie ale acestora. Cele mai frecvent utilizate sunt lămpile UV pe bază de mercur, care pot fi monocromatice (lămpi de presiune joasă care emit lumină cu lungimea de undă 254 nm) sau policromatice (lămpi de presiune medie care emit lumină de lungimi de undă în intervalul 200 - 400 nm) [6]. Fotoliza H_2O_2 de asemenea producătoare de radicali hidroxilici, este un proces dependent de pH și are loc conform reacției;

$$H_2O_2+hv \rightarrow 2^{\cdot}OH \quad (1)$$

În urma iradierii, moleculele de peroxid de hidrogen formează radicalii $^{\cdot}OH$. Această descompunere este atribuită mecanismului Haber-Weiss, care este inițiat prin scindarea legăturii O-O. Generarea ulterioară de radicali din punct de vedere chimic este inițiată de următoarele reacții:

$$H_2O_2+{}^{\cdot}OH \rightarrow H_2O+HO_2^{\cdot} \quad (2)$$

$$H_2O_2+HO_2^{\cdot} \rightarrow H_2O+O_2+{}^{\cdot}OH \quad (3)$$

Însă în unele cazuri, spre exemplu, la un exces de peroxid de hidrogen au loc următoarele reacții:

$$^{\cdot}OH+HO^{\cdot} \rightarrow H_2O_2 \quad (4)$$

$$^{\cdot}OH+HO_2^{\cdot} \rightarrow H_2O+O_2 \quad (5)$$

$$HO_2^{\cdot}+HO_2^{\cdot} \rightarrow H_2O_2+O_2 \quad (6)$$

Coeficientul molar de absorbție al H_2O_2 la 254 nm este egal cu 18,6 $L \times mol^{-1}cm^{-1}$. De regulă reacția de interacțiune a micropoluantului cu radicalii hidroxilici se supune cineticii de ordinul doi și reprezintă un bun indicator al susceptibilității micropoluantului la oxidarea de către radicalii hidroxilici, iar în majoritatea AOP-urilor contribuie la generarea radicalilor $^{\cdot}OH$. Constantele de viteză de interacțiune a micropoluanților cu radicalii hidroxilici pot fi determinate prin diferite metode [7], însă una dintre cele mai accesibile este metoda inhibitorilor specifici.

Metode şi materiale aplicate

Cercetările au fost realizate în cadrul Departamentului Chimie al Universităţii de Stat din Moldova. În studiu au fost utilizaţi următorii reactivi: *H_2O_2 (35%), H_2SO_4 (fixanal), PNDMA (97% Sigma -Aldrich);* **Moxifloxacina** (*acid 1-Ciclopropil-6-fluoro-7-((4aS,7aS)-hexahidro-1H-pirolo[3,4-piridin-6(2H)-il)-8-metoxi-4-oxo-1,4-dihidrochino line-3-carboxilic*); **Ciprofloxacina** (*CPF -acidul 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazil)-3-hinolincarboxilic* produsă de ÎM „RNP Pharmaceuticals”); **Acetazolamida** (*AC- N-(-5-sulfamil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamidei)* – comprimate 250 mg producator Balkan Pharmaceuticals SRL; **Ftalilsulfatiazol** (*FL- Acidul 2-[[4-(1,3-tiazol-2-ilsulfamoil)fenil]carbamoil] benzoic*) comprimate 500 mg, produs de către „Darniţa” SAP. Aceste preparate sunt frecvent prescrise pentru tratarea diferitor infecții bacteriene cu spectru larg de.... Formulele de structură ale antibioticilor și rezultatele studiilor degradării acestora sub influența razelor UV sunt prezentate în lucrările [8-9].

Pentru prepararea soluţiilor a fost utilizată apa distilată. Spectrele în domeniul *UV-VIS* au fost înregistrate la spectrofotometrele *Agilent technologies CARY 300 UV-Vis* și *„СФ-46”*. S-au folosit cuve de cuarţ de grosime 1cm (±0,01cm). Pentru inregistrarea valorii pH-ului s-a folosit pH-metrul *ISO LAB, Laborgerate Gmb.*

Ca sursă de iradiere s-a folosit lampa cu vapori de mercur de înaltă presiune *„ДРТ - 1000”*, spectrul de emisie a căreia este caracterizat prin lungimile de undă principale: 366 nm, 435,8 nm, 546,1 nm, 578 nm. Intensitatea de iradiere la distanţa de un metru de la suprafaţa lămpii este de 2800 mV/cm^2. În tabelul 1 este prezentată repartizarea intensitatății iradierii în dependenţă de lungimea de undă.

Tabelul 1. Intensitatea iradierii lămpii cu vapori de mercur de înaltă presiune „ДРТ -1000” la diferite lungimi de undă.

l, nm	< 280	280-315	315-400	400-700
Intensitatea iradierii, mV/cm^2	420	620	530	1246

Rezultate şi discuţii

Pentru determinarea constantei de viteză de interacţiune a substanțelor menționate cu radicalii hidroxilici s-a folosit metoda acceptorilor concurenţi. Metoda acceptorilor concurenţi se foloseşte pentru determinarea constantelor de interacţiune a radicalilor $^{\cdot}OH$ cu diferite substanţe - k_{S+OH}. Timpul în care viteza reacţiei se reduce sau reacţia frânează în prezenţa inhibitorului (In) poartă denumirea perioadei de inducţie. Apariţia perioadei de inducţie e cauzată de interacţiunea In cu radicalii liberi formaţi în mediul reactant, întreruperea lanţurilor de formare a compușilor intermediari şi inhibiţia procesului. Din bibliografie se cunoaşte că acceptorul specific al radicalilor $^{\cdot}OH$ este *PNDMA*. Astfel, în prezența *PNDMA*, al cărui maxim de absorbţie este situat în domeniul vizibil, la lungimea de undă 440 nm, în sistemele în care se generează radicalii hidroxilici, are loc decolorarea inhibitorului dat în timp. În mediul reactant în sistemul *PNDMA-S(MOX, CPF, FL, AC)-UV/H_2O_2* au loc următoarele reacţii concurente:

$^{\cdot}OH + H_2O_2 \rightarrow HO_2^{\cdot} + H_2O$ $\quad k_3 = 2{,}3\times10^7\ L\times mol^{-1}\times s^{-1}$

$^{\cdot}OH + PNDMA \rightarrow prod.oxid.PNDMA$ $\quad k_2 = 1{,}25\times10^{10}\ L\times mol^{-1}\times s^{-1}$

$^{\cdot}OH + S \rightarrow prod.oxid.$ $\quad k_1 = ?\ L\times mol^{-1}\times s^{-1}$

În condiţia că k_2 şi k_3 sunt cunoscute, ecuaţia pentru calculul k_1 poate fi prezentată sub forma:

$$1/\Delta C = B\left[1+\frac{k_2[In]+k_3[H_2O_2]}{k_1[S]}\right] \quad (7)$$

unde ΔC - variaţ1a concentraţiei substratului în timpul reacţiei în prezenţa *In* de concentraţia dată; *B* - coeficientul empiric constant pentru aceleaşi condiţii experimentale.

Dacă aceşti parametri sunt notaţi în felul următor:

$1/\Delta C = y$

$B/k_1 = b$

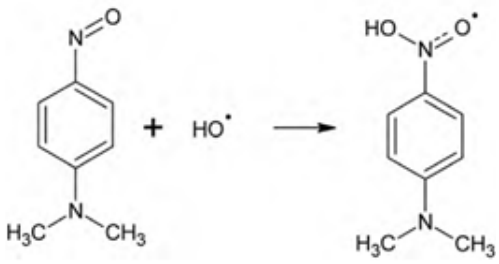
$$\frac{k_2[In]+k_3[H_2O_2]}{[S]} = x \quad (8)$$

atunci ecuaţia (7) se transformă în ecuaţia unei drepte:

$$y = B+bx \quad (9)$$

Valoarea coeficientului *B* se determină prin extrapolarea dreptei la $x = 0$, iar din valoarea pantei dreptei respective se obţine constanta de interacţiune a radicalilor hidroxilici cu substratul utilizat - k_1. Astfel, folosind datele experimentale şi ecuaţiile (8) şi (3) se determină valoarea constantei elementare de interacţiune a substratului (medicamentului) cu radicalii hidroxilici. De aici reiese că pentru determinarea constantelor k_1 prin această metodă este necesar de a determina experimental variaţia concentraţiei *S* pe parcursul reacţiei în prezenţa diferitor concentraţii ale *In* şi în absenţa lui la aceeaşi concentraţie de peroxid de hidrogen.

În figurile 1 și 2 sunt prezentate curbele cinetice de decolorare a *PNDMA* la iradiere cu raze UV în absenţa şi în prezenţa H_2O_2 și a medicamentelor, pe exemplul *AC* și *MOX*. Este evident că în prezenţa peroxidului de hidrogen - sursei de radicali $^{\cdot}OH$, decolorarea inhibitorului specific este mult mai pronunţată decât în absenţa oxidantului (curbele 1 și 2 din figurile 1,2) ceea ce este determinat de reacţia:



Acest fapt confirmă că radicalii hidroxilici sunt formaţi în sistem la descompunerea peroxidului de hidrogen sub influenţa luminii UV conform reacţiilor 1-3.

Fig. 1. Curbele cinetice de decolorare a PNDMA: 1- în sistemul PNDMA-UV: [PNDMA] = 3×10^{-5} M; 2 - în sistemul PNDMA-H_2O_2-UV: [PNDMA] = 3×10^{-5} M, [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; 3 - în sistemul PNDMA-H_2O_2- AC-UV: [PNDMA] = 3×10^{-5} M, [AC] = $4{,}5\times10^{-5}$ M, [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; λ = 440 nm; t = 25 ^{0}C

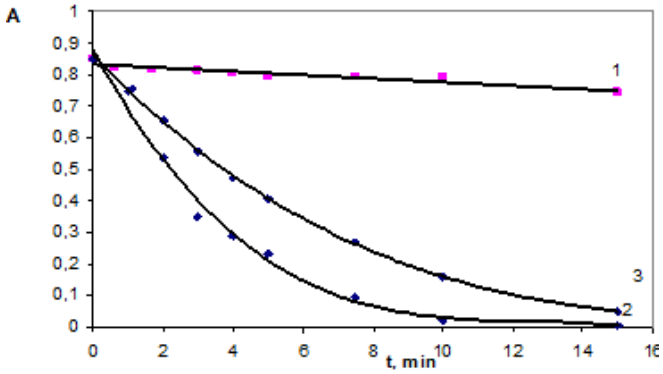
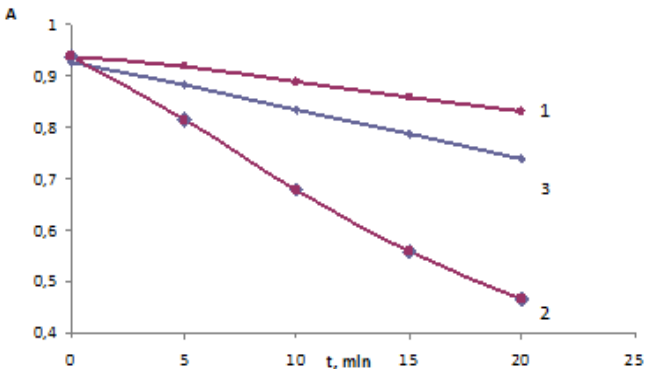
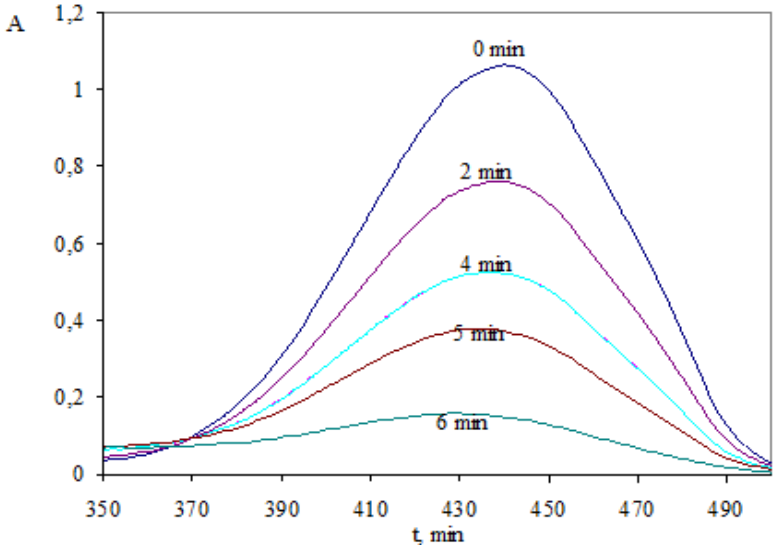


Fig. 2. Curbele cinetice de decolorare a PNDMA: 1 - în sistemul PNDMA-UV: [PNDMA)] = 4×10^{-5} M; 2 - în sistemul PNDMA-H_2O_2-UV: [PNDMA] = 4×10^{-5} M; [H_2O_2] = 1×10^{-4} M; 3 - în sistemul PNDMA-H_2O_2- MOX-UV: [MOX] = $2{,}29\times10^{-5}$ M; [H_2O_2] = 1×10^{-4} M; λ = 440 nm; t = 25 ^{0}C



Curbele cinetice de decolorare a In în sistemele *PNDMA-H_2O_2-UV* şi *PNDMA-H_2O_2-S-UV* sunt prezentate în figurile 1 şi 2 (curbele 3) pe exemplul *AC* şi *MOX*. Evident se observă că în prezenţa medicamentului viteza de decolorare a inhibitorului scade, ceea ce este cauzat de concurenţa între S şi *PNDMA* pentru radicalii ˙OH. În figura 3 este prezentată depedenţa aborbanţei soluţiei în funcţie de lungimea de undă la diferiţi timpi obţinută în cazul sistemului *PNDMA-H_2O_2-FL-UV*. Poate fi observat că decolorarea practic totală a inhibitorului are loc în 6 minute, ceea ce de asemenea confirmă prezenţa radicalilor hidroxilici în mediul de reacţie care oxidează nu numai *PNDMA*, dar şi medicamentele studiate în sistemele examinate.

Fig. 3. Dependenţa A = f(l) pentru sistemul PNDMA-H_2O_2-FL-UV: [PNDMA] = 3×10^{-5} M; [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; [FL] = $3{,}72\times10^{-5}$ M; t = 25 ^{0}C.



Din curbele cinetice de degradare a medicamentelor pe exemplu AC şi FL sunt prezentate în figurile 4, 5. Se observă că indiferent de concentraţia *S* panta curbelor este aceeasi, ceea ce demonstrează că la concentraţia constantă a PNDMA, inhibitorul dat are acelaşi impact asupra degradării preparatelor.

Fig. 4. Curbele cinetice de degradare a AC în sistemul PNDMA-H_2O_2- AC-UV: [AC]×10^5, M: 1 - 1,125; 2 - 4,5; 3 - 6,75. [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; [PNDMA] = 1×10^{-5} M; λ = 265 nm; t = 25 ^{0}C

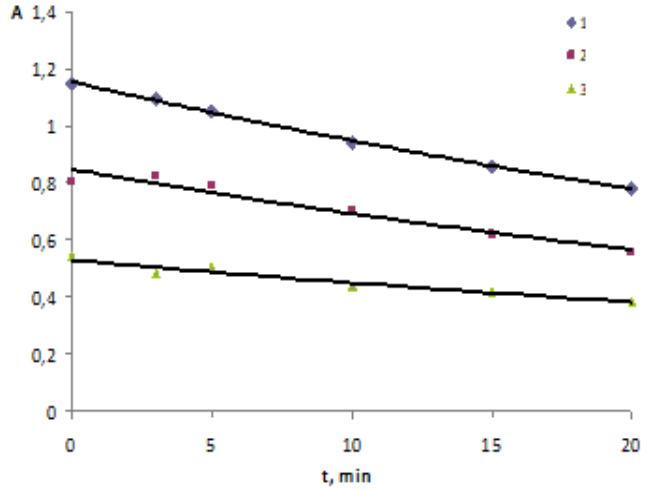
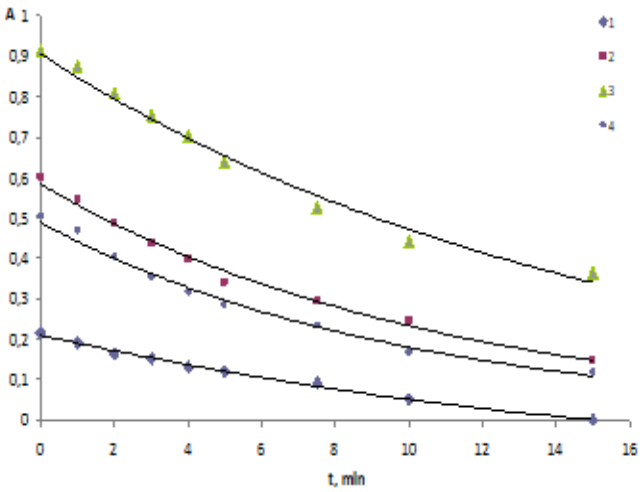


Fig. 5. Curbele cinetice de degradare a FL în sistemul PNDMA-H_2O_2- FL-UV: [FL]×10^5, M: 1 - 1,24; 2 - 3,72; 3 - 4,96; 4 - 6,2. [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; [PNDMA] = 3×10^{-5} M; λ=284 nm; t = 25 ^{0}C



S-au construit curbele cinetice de degradare a *PNDMA* în sistemele *PNDMA-H_2O_2- S-UV*, care pe exemplul *MOX* și *CPF* sunt prezentate în figurile 6 și 7.

Pentru determinarea constantei k_1 s-a determinat experimental variația concentrației S pe parcursul reacției în prezența diferitor concentrații ale Inhibitorului și în absența lui la aceeași concentrație de peroxid de hidrogen. În baza curbelor cinetice s-au trasat dependențele liniare (Fig. 8, 9).

Fig. 6. Curbele cinetice A= f (t) pentru sistemul PNDMA-H_2O_2-MOX-UV în dependență de concentrația inhibitorului: [PNDMA] = 4×10^{-5} M; [MOX] = 2,29×10^{-5} M; [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; [PNDMA],× 10^5 , M: 1 - 0,5 ; 2 - 1; 3 - 2; 4 - 4; λ = 290 nm; t = 25 ^{0}C

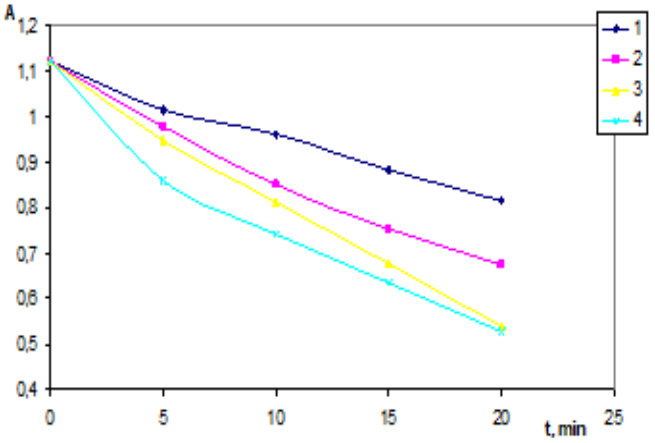
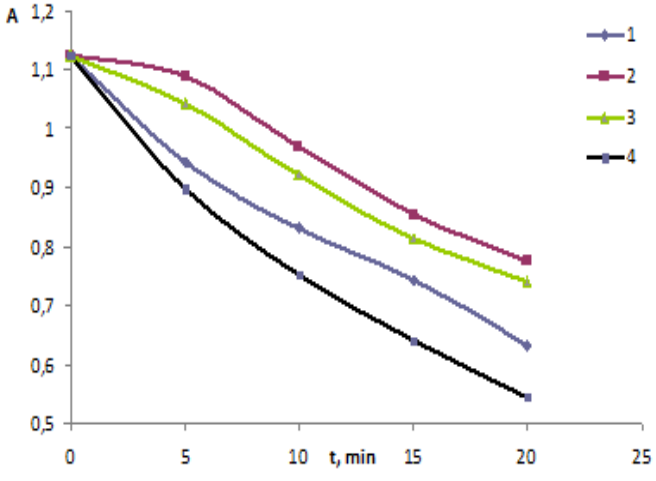


Fig. 7. Curbele cinetice A = f(t) pentru sistemul PNDMA-H_2O_2- CPF-UV în dependență de concentrația inhibitorului: [CPF] = 3,01×10^5 M; [H_2O_2] =2×10^{-4} M; [PNDMA],×10^5, M: 1 - 0,5; 2 - 1; 3 - 2; 4 - 4 ; λ = 275 nm; t = 25 ^{0}C



În baza figurilor 8, 9 cu ajutorul formulelor (7)-(9), s-au calculat valorile constantelor de interacțiune care sunt prezentate în tabelul 2:

Tabelul 2. Valorile K_{OH+S}

Medicament	AC	FL	MOX	CPF
$K_{OH+S,}$ L/mol×s	8.5 ×10^9	8.5 ×10^9	1.42 ×10^9	6.3 ×10^9

Fig. 8. Determinarea constantei de viteză k_{OH+MOX}: [MOX] = 2,29×10^{-5} M; [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; λ = 290 nm; t = 25 ^{0}C

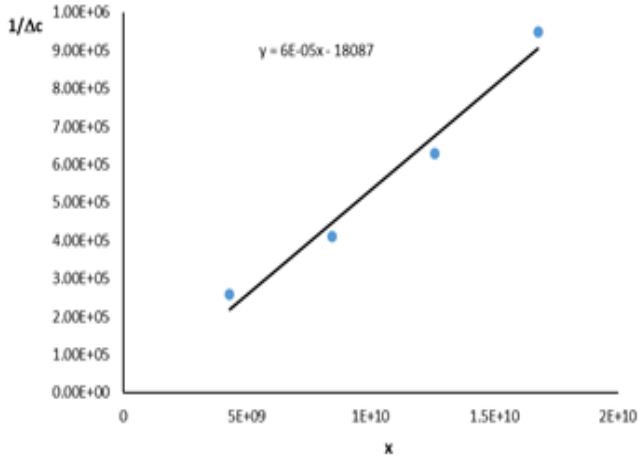
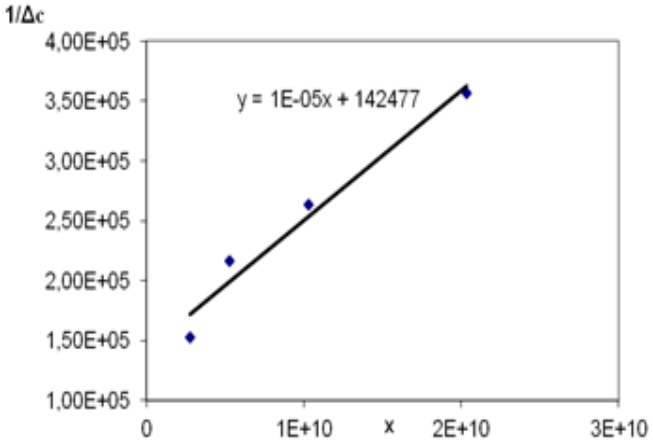


Fig. 9. Determinarea constantei de viteză k_{OH+MOX}: [CPF] = 3,01×10^{-5} M; [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; λ = 275 nm; t = 25 ^{0}C



Un rol foarte important în autopurificarea apelor naturale îl are peroxidul de hidrogen. Acest oxidant participă într-un şir de reacţii de oxidare peroxidazică a substanţelor organice de diferită natură sub influenţa luminii. În cadrul acestor transformări la rândul său se formează radicalii activi (inclusiv şi $^{\cdot}OH$ - radicali). Urmărind variaţia vitezei de oxidare a *PNDMA* în timp ce decurge în sistemul UV/H_2O_2 se pot face concluzii referitor la conţinutul acceptorilor radicalilor hidroxilici în apele naturale:

$w_i \rightarrow {}^{\cdot}OH$

1. $^{\cdot}OH + \Sigma S_i \xrightarrow{k_i}$ *captarea* $^{\cdot}OH$

2. $^{\cdot}OH + PNDMA \xrightarrow{k_A}$ *decolorarea PNDMA*

unde w_i - viteza de iniţiere în formarea $^{\cdot}OH$ - radicalilor.

La compararea vitezei de decolorare a PNDMA în procesul de fotoliză a H_2O_2 în apă distilată şi în soluţii în care se introduc cantităţi diferite de apă naturală (ce conţin substanţe organice în calitate de impurităţi) se pot determina constantele elementare de interacţiune a substanţelor poluante cu radicalii hidroxilici şi capacitatea inhibitoare a apei ($\Sigma k_i[S_i]$) în procesele de autopurificare cu participarea $^{\cdot}OH$ - radicalilor:

$$\Sigma K_i[S_i] = \frac{V}{V_S} \times K_{OH+PNDMA}\,[PNDMA]\,[\frac{Wa.d.}{Wa.n.} - 1] \quad (10)$$

unde V - volumul total al amestecului reactant; V_s - volumul apei naturale (poluate) în probă; $k_{OH+PNDMA}$ = 1,25×10^{10} L×mol^{-1}×s^{-1} - constanta de interacţiune a $OH^{\cdot}$ cu *PNDMA*; *Wa.d., Wa.n.* - viteza maximă de decolorare a PNDMA în procesul de fotoliză a peroxidului de hidrogen în apă distilată și, respectiv, in apă naturală.

Valoarea şi sensul fizic al capacităţii inhibitoare permite să elucidăm valoarea constantei efective de consum al radicalilor hidroxilici în apele naturale. Cu cât mai mică este valoarea constantei $\Sigma k_i[S_i]$ cu atât mai mare este aportul procesului radicalic în autopurificarea apelor naturale.

În calitate de poluanţi în experiment s-au utilizat medicamentele susnumite de diferite concentrații. Acești poluanți pătrund în hidrosferă în microcantităţi împreună cu apele reziduale ale industriei farmaceutice. Folosind curbele cinetice prezentate în figurile 4, 5 pe exemplul *AC* și *FL*, prin metoda spectrofotometrică la lungimea de undă maximă caracteristică s-a determinat viteza de reacție de degradare a *PNDMA*:

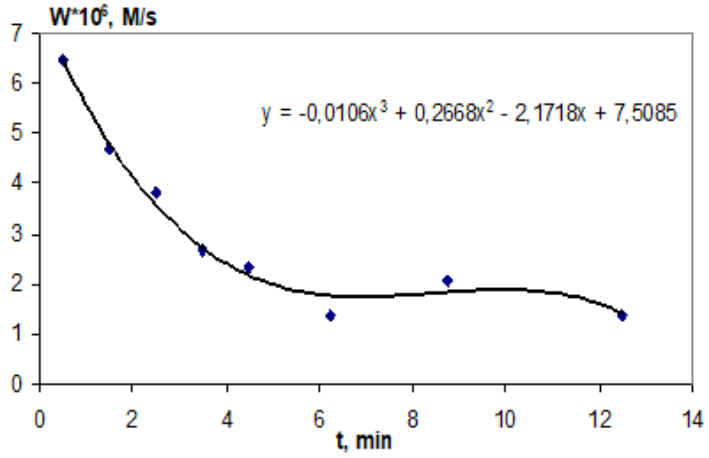
$$W_t(s) = \pm\frac{\Delta A}{\Delta t \times \varepsilon \times l} \quad (\text{mol/L}\times\text{min}) \qquad (11)$$

unde $\Delta A = A_2 - A_1$ este variația absorbanței a amestecului de reacție în intervalul de timp $\Delta t = t_2 - t_1(s)$; ε - coeficientul molar de absorbție (L×mol^{-1}×cm); l - grosimea cuvei (cm).

Vitezele inițiale au fost determinate din dependențele $W = f(t)$, utilizând aproximația polinomială de gradul 3-5 cu ajutorul progamului Microsoft Excel (unul din exemple - Fig. 10).

În baza ecuației (10) s-au calculat valorile capacității inhibitoare a apei $\Sigma k_i[S_i]$ în toate sistemele *PNDMA-H_2O_2-S-UV* studiate, care sunt cuprinse în diapazonul (5.4-17.7)×10^6 s^{-1}.

Fig. 10. Determinarea vitezei inițiale prin aproximație polinomială în sistemul PNDMA - H_2O_2 - AC - UV: [PNDMA] = 3×10^{-5} M; [H_2O_2] = 2×10^{-4} M; λ = 440 nm; t = 25 ^{0}C.



Concluzii

Cu ajutorul inhibitorului specific *PNDMA* a fost demonstrat că în sistemele *PNDMA-H_2O_2-S– UV* studiate are loc formarea radicalilor hidroxilici. Prin metoda acceptorilor specifici au fost determinate constantele de interacțiune a fluorchinolonelor și sulfonamidelor cu acești radicali. În baza curbelor cinetice au fost determinate constantele de interacțiune a radicalilor ·OH cu medicamentele menționate: k_{OH+AC} = 8.5×10^9 L/mol×s; k_{OH+FL} = 8.5×10^9 L/mol×s; k_{OH+MOX} = 1.42×10^9 L/mol×s.; k_{OH+CPF} = 6.3×10^9 L/mol×s.

A fost calculată capacitatea de inhibiție a apelor naturale în procesul de autopurificare în istemele-model utilizate. Valorile calculate ale constantelor respective variază între $(5.4\text{-}17.7)\times10^6$ s^{-1}.Pentru majoritatea apelor naturale $\Sigma\, k_i[S_i] \approx 10^5$ s^{-1}. În cazul în care $\Sigma\, k_i[S_i] < 10^4$ s^{-1}, apa se consideră foarte pură, iar dacă $\Sigma\, k_i[S_i] > 10^6$ s^{-1}, apa se consideră intens poluată. În baza datelor obținute putem concluziona că apa tratată (soluțiile apoase a medicamentelor) este foarte poluată și nu este posibilă autopurificarea apelor ce conțin poluanții menționați de concentrații utilizate în sistemele model descrise.

Referințe:

1. MORALES-PAREDES, C. A., RODRÍGUEZ-DÍAZ, J. M., BOLUDA-BOTELLA, N. Pharmaceutical compounds used in the COVID-19 pandemic: A review of their presence in water and treatment techniques for their elimination. In: Science of the Total Environment, 2022, V. 814, p. 152-691. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152691
2. ANTONELLA DE LUCA Fenton and Photo-Fenton like at neutral pH for the removal of emerging contaminants in water and wastewater effluents/ Teza de doctor în științe, Barselona, 2016, 198 p. https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/399786/Antonella%20De%20Luca_THESIS.pdf?sequence=1.
3. Z. SHU, A. SINGH, N. KLAMERTH, at al. Application of the UV/H2O2 advanced oxidation process for municipal reuse water:bench- and pilot-scale studies. În: International th Conference on Modelling, Monitoring and Management of Water Pollution (WP 2016). Vol 209, WIT Press www.witpress.com, ISSN 1743-3541 (on-line) p. 233-244.
4. NAGARAJAN, S., SKILLEN, N. C., FINA, F., ZHANG, G., RANDORN, C., LAWTON, L. A.; IRVINE, J. T. S.; ROBERTSON, P. K. Comparative assessment of visible light and UV active photocatalysts by hydroxyl radical quantification. In: J. Photochem.Photobiol. A Chem. 2017, N. 334, p. 13-19.
5. 5. LEE, Y., VON GUNTEN, U. Oxidative transformation of micropollutants during municipal wastewater treatment: comparison of kinetic aspects of selective (chlorine, chlorine dioxide, ferrate VI, and ozone) and non-selective oxidants (hydroxyl radical). In: Water Res. 2010, 44 (2), p. 555-566. DOI: 10.1016/j.watres.2009.11.045
6. CHEN, P. J., KULLMAN, S.W, HINTON DE, LINDEN KG.. Comparisons of Low- and Medium- Pressure UV Lamps on the Removal of Bisphenol A Estrogenic Activity in Water Following Direct Photolysis and UV/H2O2 Oxidation Processes. In: Chemosphere, 2007, 68. p. 1041-1049. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.02.020.

7. LASZLO WOJNAROVITS Critical evaluation of rate coefficients for hydroxyl radical reactions with antibiotics: A review July In: Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2018, 48(6), p 1-37. DOI:10.1080/10643389.2018.1463066.
8. ISAC-GUŢUL, T., TUTOVAN, E. Studiul oxidării unor sulfonamide în sistemul SN-H2O2-UV. Chișinău. În: Studia Universitatis Moldaviae-Științe Reale și ale Naturii, 2020, 6(136), p. 150-156. ISSN 1814-3237.
9. ISAC-GUŢUL, T., TUTOVAN, E. JEMNA, V., MOLCEAN, D., ARTEMENKO A. Kinetics of some fluorquinolones oxidation by the systems UV and UV-H2O2 Conferința ,,International Conference ,,Achievements and perspectives of modern chemistry” Chişinău, Moldova, 9-11 octombrie, 2019, p. 115-115. ISBN 978-9975-62-428-2.

Date despre autori:
Tatiana ISAC-GUŢUL, doctor, conferențiar universitar, Facultatea de Chimie şi Tehnologie Chimică, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail:
ORCID: 000-0003-1448-0722

Elena TUTOVAN, doctor, conferențiar universitar, Facultatea de Chimie şi Tehnologie Chimică, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail:
ORCID:0000-0002-1731-4992

Denis NICA, doctor habilitat, profesor, Facultatea de Fizică și Inginerie, Șef Departament Fizică Teoretică „Iu. Perlin”, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: dlnika@yahoo.com

Prezentat la 01.04.2023

CZU: 544.142.3:546.56

SINTEZA ȘI ANALIZA FIZICO-CHIMICĂ A COMPUȘILOR COORDINATIVI AI Cu(II) ÎN BAZA 4-CICLOHEXIL-TIOSEMICARBAZONEI 3-ETOXISALICILICE

Roman RUSNAC, Andrei CIURSIN, Sergiu ȘOVA, Angela SÎRBU, Aurelian GULEA
Universitatea de Stat din Moldova

În acest articol sunt descrise metode de sinteză și analiza fizico-chimică a **5** compuși coordinativi în baza ionului de *Cu(II)* și *4-ciclohexil-tiosemicarbazona aldehidei 3-etoxisalicilice*. În primul pas a fost efectuată sinteza ligandului prin intermediul a două metode clasice cu perfecționarea ulterioară, obținându-se astfel H_2L în calitate de chelator al ionilor de cupru(II). Pentru cercetarea structuri și geometria 4-ciclohexil-tiosemicarbazonei aldehidei 3-etoxisalicilice a fost aplicată spectroscopia ^{1}H, ^{13}C și ^{15}N-*RMN*, ^{13}C- *DEPT-135 RMN* și ^{15}N *HSQC-RMN*. Substanțele sintetizate au fost analizate prin intermediul metodelor moderne de cercetare precum: spectroscopia FTIR, UV-*vis* și analizei elementale, difracția razelor X pe monocristal; activitatea biologică este în proces de studiu.

Cuvinte-cheie: *compuși coordinativi, 4-ciclohexil-tiosemicarbazone, aldehida 3-etoxisalicilică.*

SYNTHESIS AND PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS OF THE COORDINATION COMPOUNDS OF Cu(II) BASED ON 3-ETHOXYSALICYLALDEHYDE 4-CYCLOHEXYL-THIOSEMICARBAZONE

In this article, methods of synthesis and physicochemical analysis of 5 coordination compounds based on *Cu(II)* ion and *3-ethoxysalicylic aldehyde 4-cyclohexyl-thiosemicarbazone* are described. In the first step, the synthesis of the ligand was carried out by means of two classical methods with subsequent refinement, thus obtaining the H_2L as a chelator of copper(II) ions. ^{1}H, ^{13}C and ^{15}N-*NMR* spectroscopy, ^{13}C-*DEPT-135 NMR* and ^{15}N *HSQC-NMR* spectroscopy were applied to investigate the structure and geometry of the 3-ethoxysalicylic aldehyde 4-cyclohexyl-thiosemicarbazone. The synthesized substances were analyzed by means of modern research methods such as: FTIR spectroscopy, UV-*vis* and elemental analysis, single crystal X-ray diffraction; the biological activity is under study.

Keywords: *coordination compounds, 4-cyclohexyl-thiosemicarbazone, 3-etoxysalicylic aldehyde.*

Introducere

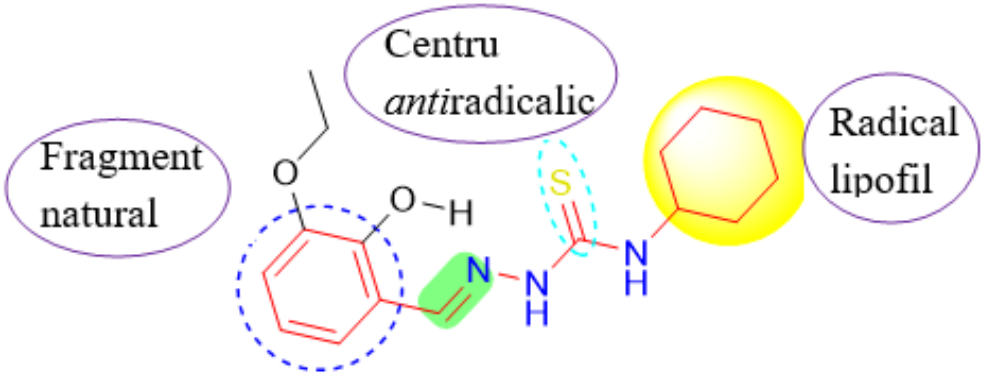
Cancerul rămâne a fi una dintre cele mai răspândite cauze de deces. În fiecare an rata deceselor de la această maladie crește. Primii compuși descoperiți, care au arătat efectul antitumoral [1], anticancer [2-6] au fost compușii cordinativi a platinei, anume *cis*-platina și unii derivații ai ei - carboplatin și oxaliplatin. Aceasta a impulsionat cercetarea activă în acest domeniu, ca rezultat au fost efectuate sinteze a mii de compuși coordinativi noi în baza platinei cu diferiți liganzi organici. În ciuda eforturilor depuse, activitatea biologică multor din ei nu era pe nivelul așteptărilor. Testările clinice au arătat un anumit efect citotoxic fără efectul terapeutic semnifiicativ [4]. Pe de altă parte, s-a început studiul compușilor cordinativi cu alte metale tranziționale, în special metale 3*d* [5]. Majoritatea ionilor de metale 3*d* întră în compoziția metaloproteinelor, cofactorilor și formează destul de ușor compuși cordinativi. De obicei, din structura metaloproteinelor se observă că atomul central este coordinat prin intermediul atomilor de sulf, oxigen și azot [2, 7]. Acest set de atomi se întâlnește și la tiosemicarbazone – o clasă de compuși organici, cu interes științific ridicat în ultimele două decenii [8-12]. Datorită proprietăților sale biologice tiosemicarbazone tind să-și găsească utilizare în calitate de agenții: anticancer, antivirali, antibiotice, antitumorale, antimalerice, antioxidative și antifungice [6-13]. Structura chimică a tiosemicarbazonelor determină capabilitatea de formare

a compușilor coordinativi, unde tiosemicarbazonele servesc în calitate de liganzi polidentați, prin intermediul atomilor de azot, sulf și în unele cazuri oxigen [8-10]. Utilizarea tiosemicarbazonelor în calitatea de liganzi cu ionii metalelor 3*d* permit sintetizarea a mii de compuși noi, dar trebuie luate în considerare unele proprități biologice a complexilor sintetizați că ei vor depinde în mare parte de structura ligandului inițial [13]. O mulțime de compuși cordinativi a tiosemicarbazonelor au pe lângă efectului dorit, toxicitate înaltă sau nu sunt toxici, dar nici biologic activi nu sunt. Aceasta determină necesitatea de alegere selectivă a substituenților, care vor intra în compoziția finală a ligandului. La fel acest lucru poate să ducă la elaborarea în perspectivă a medicamentelor farmacofor selective. O perspectivă deosebită au tiosemicarbazonele în baza substanțelor de proveniență naturală sau derivații lor. Sunt cunoscute multe substanțe naturale care manifestă o anumită activitate biologică, fiind puțin toxici pentru oameni, spre exemplu citral, aldehida cinamică sau *orto*-vanilina.

Pentru lucrarea dată în calitate de substituent în poziția 1 a tiosemicarbazidei a fost utilizată 3-etoxisalicilaldehida, care este drept derivat al *orto*-vanilinei – substanța, ce se întâlnește în uleiurile multor plante. În calitate de atom central a fost ales cupru(II). Fiind un biometal, cuprul întră în compoziția multor enzime și cofactori și este des întâlnit în metabolismul fierului, producerea melaninei, formării țesuturilor.

Scopul lucrării: determinarea condițiilor optime pentru sinteza compușilor coordinativi ai cuprului(II) în baza *N*-ciclohexil-tiosemicarbazonei 3-etoxisalicilice și analiza fizico-chimică.

Fig. 1. Formula de structură pentru (E)-N-ciclohexil-2-(3-etoxi-2-hidroxibenziliden)hidrazin-1-carbotioamida notat prin H_2L.



Materiale şi metode

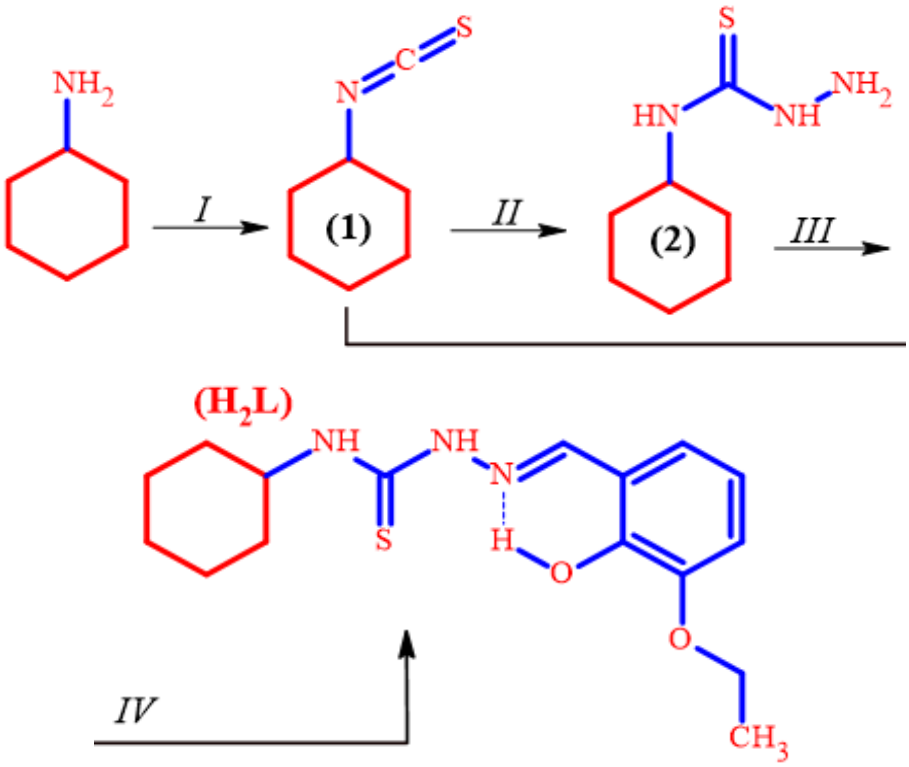
Reactivi şi metode de cercetare

Cercetările științifice au avut loc în cadrul Laboratorului de cercetări științifice ,,Materiale Avansate în Biofamaceutică și Tehnică” a Universităţii de Stat din Moldova. Sintezele au fost efectuate cu reagenți procurați de la companiile „Sigma-Aldrich”, „Acros Organics” sau „Alfa Aesar”, fiind folosiţi în sinteză fără o purificare prealabilă. Analiza titrimetrică la metal a fost efectuată conform metodicii [12]. Spectrele FTIR au fost înregistrate pe probe în formă de pulbere la aparatul Bruker ALPHA, în diapazonul numerelor de undă 4000-400 cm^{-1}. Spectrele de Rezonanţă Magnetică Nucleară (RMN) ^{1}H şi ^{13}C şi ^{15}N au fost efectuate la temperatura camerei utilizând spectrometrul Bruker DRX-400. În calitate de solvent a fost utilizat DMSO-d_6. Analiza cu difracția razelor X pe monocristal a fost efectuată la difractometrul Xcalibur-Gemini „Oxford Diffraction”, cu monocromator de grafit înzestrat cu sursă de raze X de tip Mo-Kα. Cristalele au fost plasate la o distanţă de 40 mm faţă de detectorul CCD. Procedeele de determinare a parametrilor celulei elementare şi de integrare a datelor experimentale au fost efectuate cu ajutorul setului de programe „Crys Alis package Oxford Diffraction”. Pentru compușii coordinativi [Cu(HL)Cl] (1) și [Cu(HL)(H_2O)]NO_3 (5) soluțiile au fost determinate prin metoda directă cu ajutorul programului SHELXS-97 şi fitate prin metoda pătratelor minimale pe bază de Fo^2 în cadrul programului SHELXL-97 în varianta anizotropică pentru toţi atomii cu masă molară mai mare decât a atomului de hidrogen.

Procedee de sinteză

N-Ciclohexil-2-(3-etoxi-2-hidroxibenziliden)hidrazin-1-carbotioamida {denumirea IUPAC, (H_2L)} a fost obţinută în urma reacţiei de condensare dintre N-ciclohexilhidrazincarbotioamida cu 3-etoxi-2-hidroxibenzaldehida în alcool etilic conform metodici [2, 5], (Fig. 2).

Fig. 2. Schema de sinteză a 4-ciclohexil-tiosemicarbazonei 3-etoxisalicil aldehidei (H_2L).



Sinteza precursorilor inițiali a decurs prin intermediul a patru etape. Astfel, în etapele I-II are loc sinteza ciclohexil izotiocianatului (CAS: 1122-82-3) și 4-ciclohexil-3-tiosemicarbazidei (CAS:21198-18-5) conform metodelor descrise în literatura de specialitate [1, 18], etapa IV de sinteză a tiosemicarbazonei H_2L [18], a fost efectuată prin intermediul ciclohexil izotiocianatului [14], și etoxi-6-(hidrazonometil)fenol (hidrazona aldehidei 3-etoxisalicilice - denumirea preferabilă).

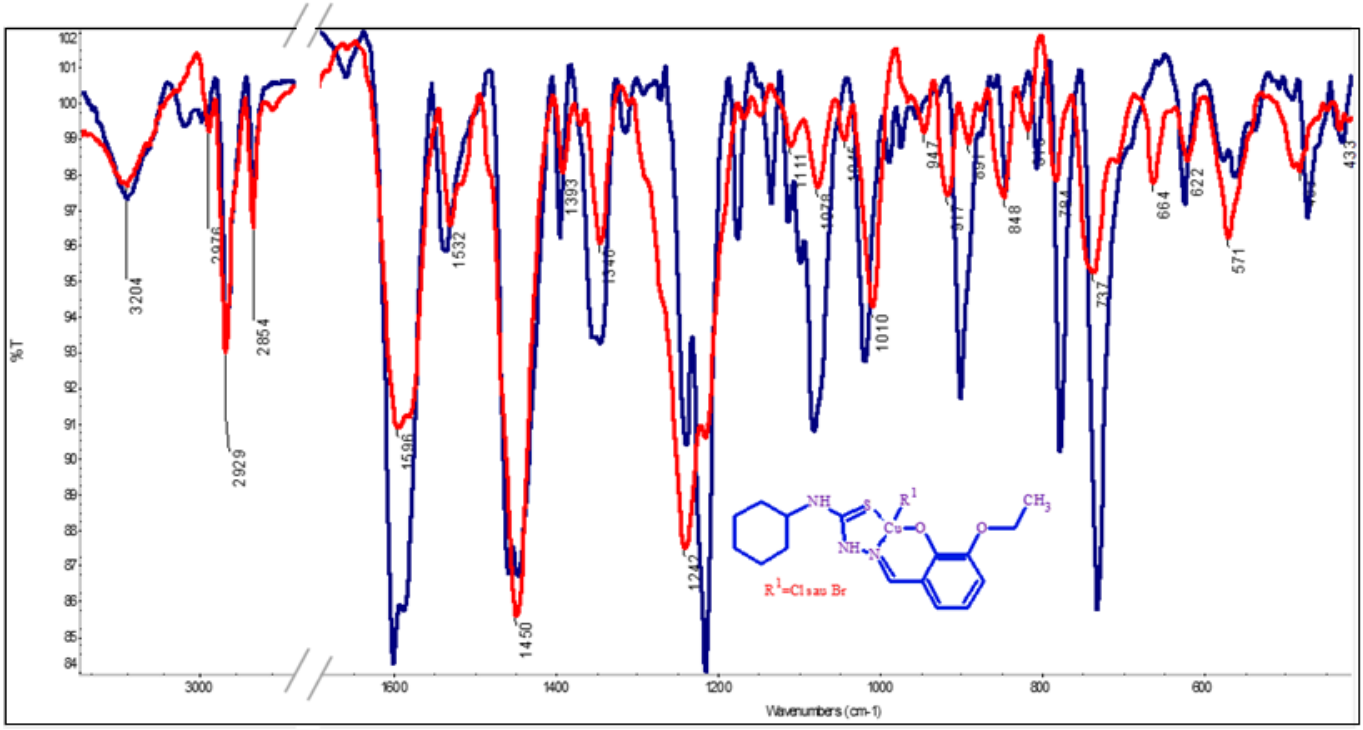
Hidrazona aldehidei 3-etoxisalicilice. Monohidratul de hidrazină cum asa de 1.12 g, (22.4 mmol) se dizolvă în 10 mL de etanol într-un balon conic. La soluția obținută, se adaugă prin picurare aldehida 3-etoxisalicilică 0.93 g, (5.6 mmol) dizolvată în 10 mL de etanol, la agitare permanentă. Amestecul se agită 1.5 ore la 45-50 °C. Soluția obținută se concentrează prin distilare și se răcește la temperatura camerei. Se depune un solid cristalin, care este filtrat, spălat cu etanol rece și uscat la temepratura camerei. Produsul obținut este de culoare galben deschhisă, se obține un η= 88-90%, punctul de topire= 106-108 °C.

Sinteza* N-ciclohexil-2-(3-etoxi-2-hidroxibenziliden)hidrazin-1-carbotioamida *(H_2L)

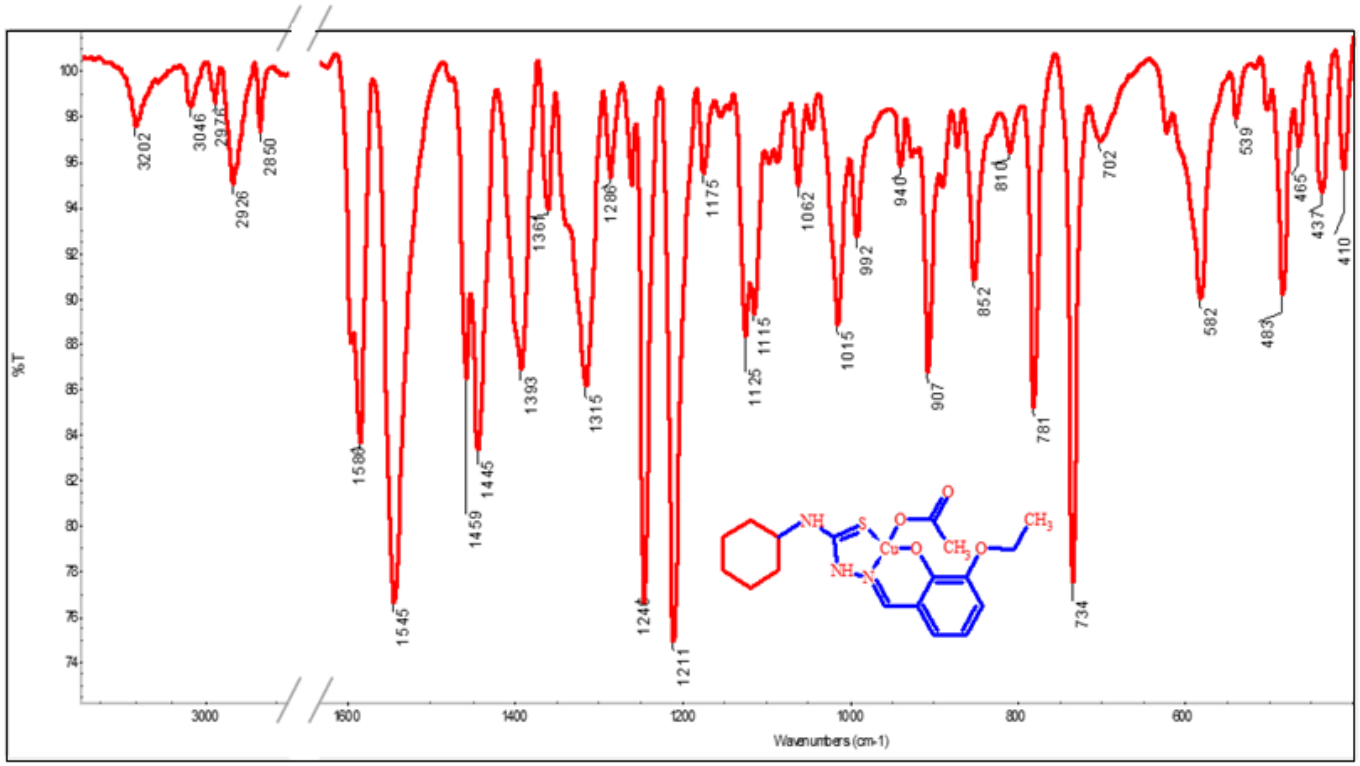
- Într-un balon pentru sinteză (Fig. 2) se adaugă aldehida 3-etoxisalicilică 6.64 g, (40 mmol), și 6.92 g, (40 mmol) de 4-ciclohexil-3-tiosemicarbazida în 20 mL etanol și 2-3 picături de acid acetic glacial. Amestecul obținut se refluxează 6 ore (control cromatografic). După răcire se observă apariția unui sediment cristalin, se filtrează, se spală cu etanol rece și se usucă la temperatura camerei. Produsul obținut se recristalizează din etialcetat-etanol (1:1), se obține un solid alb cu η= 97%, punctul de topire= 241-243 °C.

- Într-un balon conic (Fig. 2) se dizolvă 2-etoxi-6-(hidrazonometil)fenol 0.85 g, (4.7 mmol) în 8 mL de etanol și se adaugă 7 mL soluție alcoolică care conține 0.66 g, (4.7 mmol) ciclohexilizotiocianat. Amestecul se agită 4 ore la temperatura camerei (control cromatografic-cromatografia în strat subțiere). Se observă depunerea unui solid alb. Sinteza se răcește, până la temperatura camerei, solidul obținut se filtrează, se spală cu etanol rece și se usucă la temperatura camerei. Produsul obținut este solid alb cu un η= 80%, punctul de topire= 241-243 °C.

Fig. 3. Spectrele FTIR pentru compușii coordinativi 1-3.

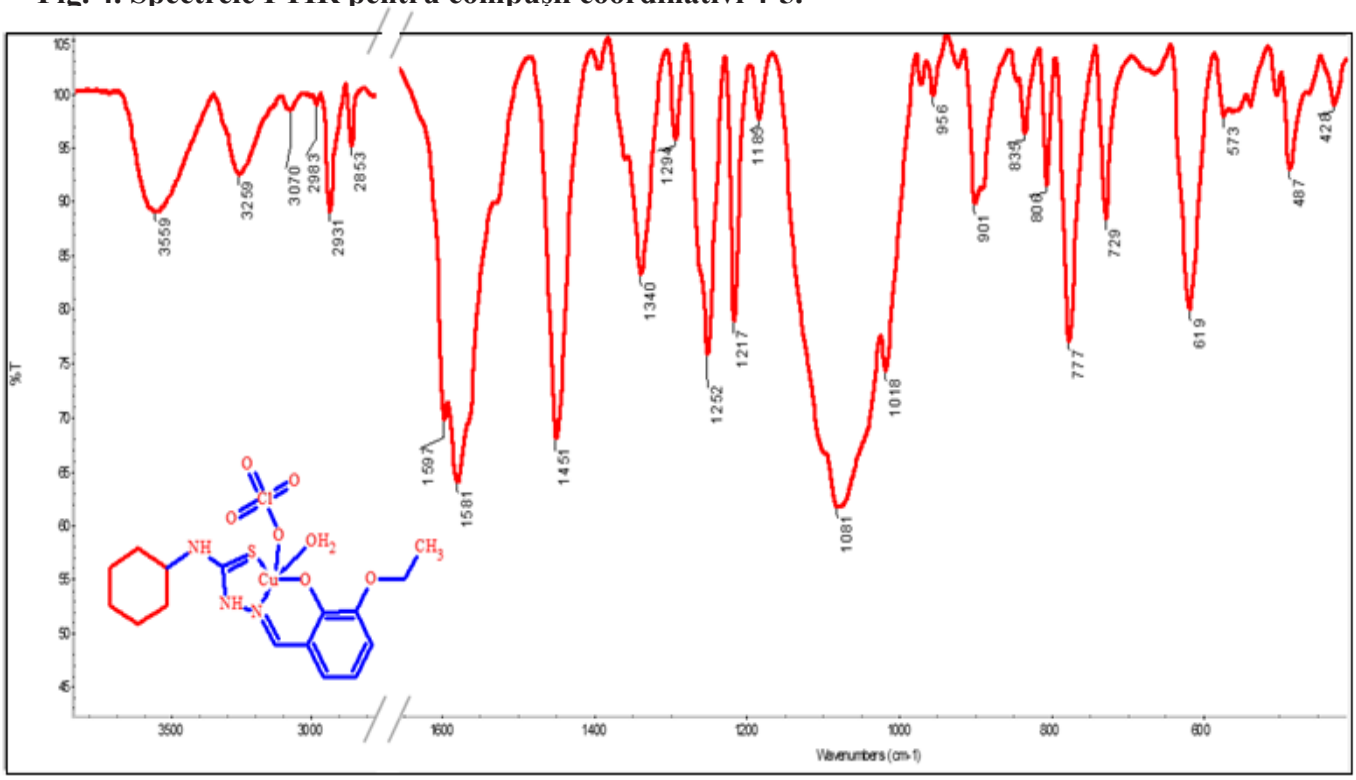


FT-IR (Bruker ALPHA),(ν_{max}, cm^{-1}): [Cu(HL)Cl] (1) 430; 473; 563; 625; 732; 779; 807; 846; 901; 975; 990; 1019; 1083; 1100; 1114; 1135; 1177; 1216; 1240; 1316; 1346; 1396; 1448; 1460; 1537; 1602; 1660; 2852; 2928; 2979; 3000; 3042; 3204. [Cu(HL)Br] (2) 433; 483; 571; 622; 664; 737; 784; 818; 848; 891; 917; 947; 1010; 1045; 1078; 1111; 1242; 1346; 1393; 1450; 1532; 1596; 2854; 2929; 2976; 3204.

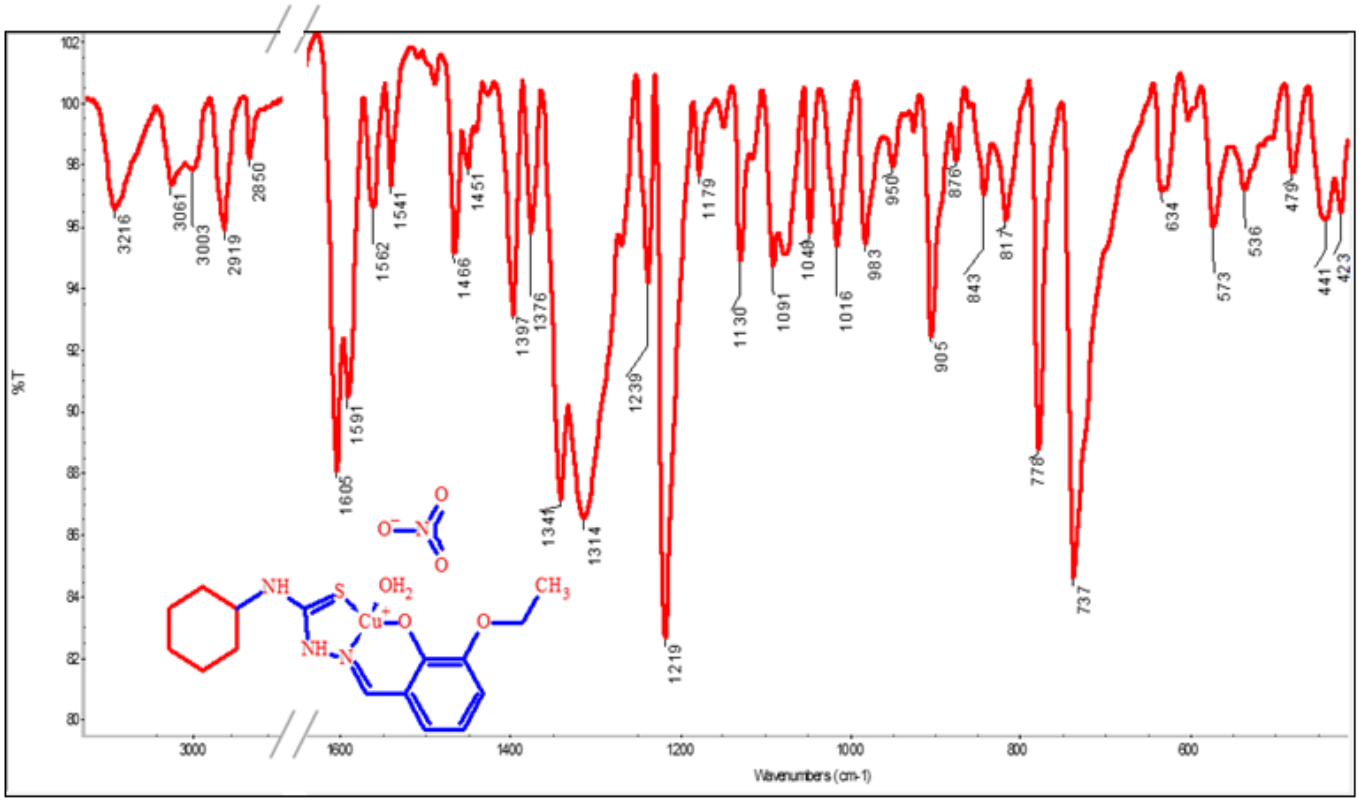


FT-IR (Bruker ALPHA),(ν_{max}, cm^{-1}): [Cu(HL)CH_3COO] (3) 437; 465; 483; 582; 734; 781; 852; 907; 940; 992; 1015; 1063; 1114; 1125; 1176; 1211; 1246; 1261; 1287; 1315; 1361; 1393; 1444; 1459; 1545; 1585; 2850; 2925; 2976; 3045; 3202.

Fig. 4. Spectrele FTIR pentru compușii coordinativi 4-5.

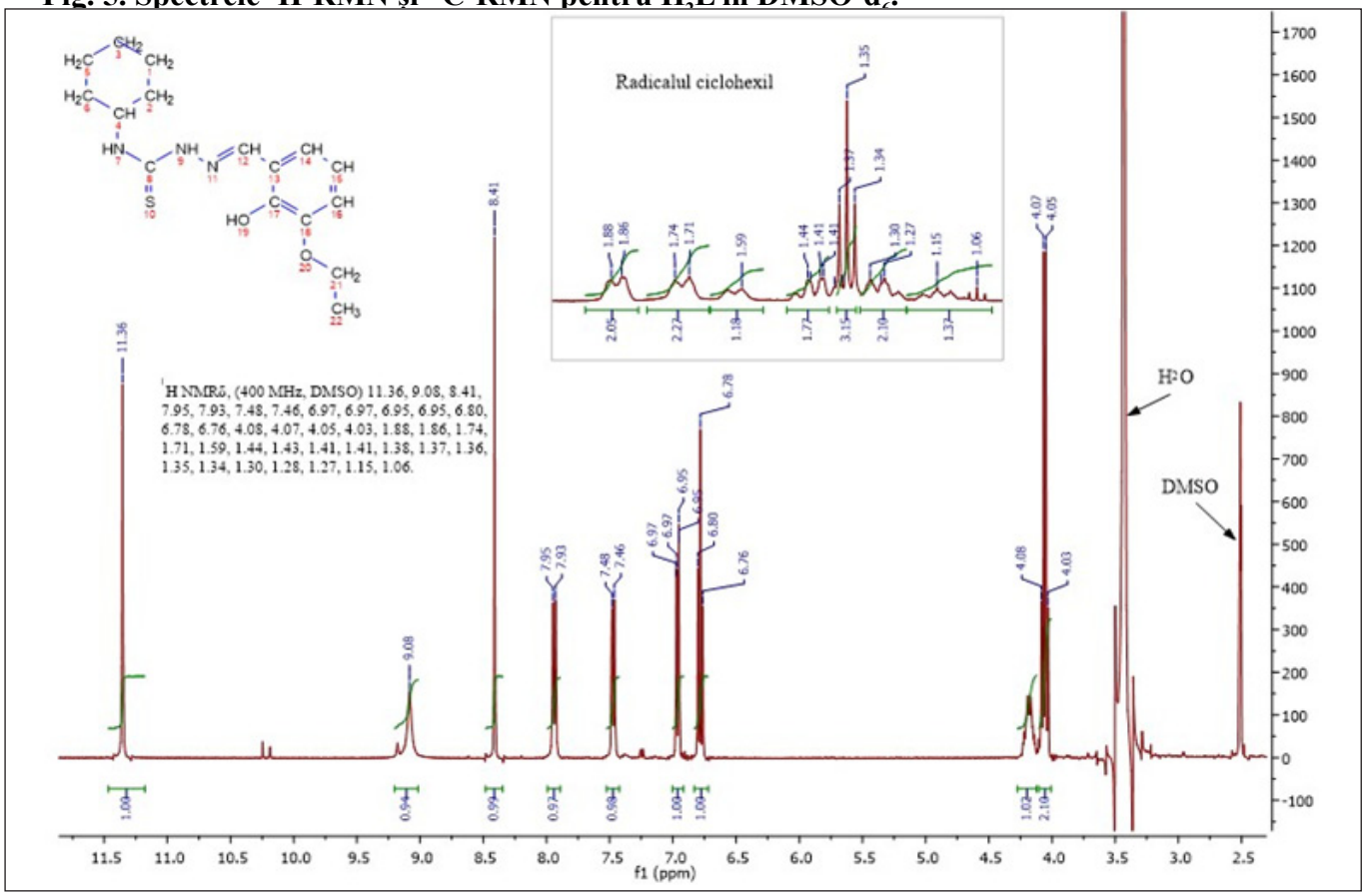


FT-IR (Bruker ALPHA),(ν_{max}, cm^{-1}): $[Cu(HL)(H_2O)ClO_4]$ (4) 428; 487; 573; 619; 729; 777; 806; 835; 901; 956; 1018; 1081; 1185; 1217; 1252; 1294; 1340; 1451; 1581; 1597; 2853; 2931; 2983; 3070; 3259; 3559.

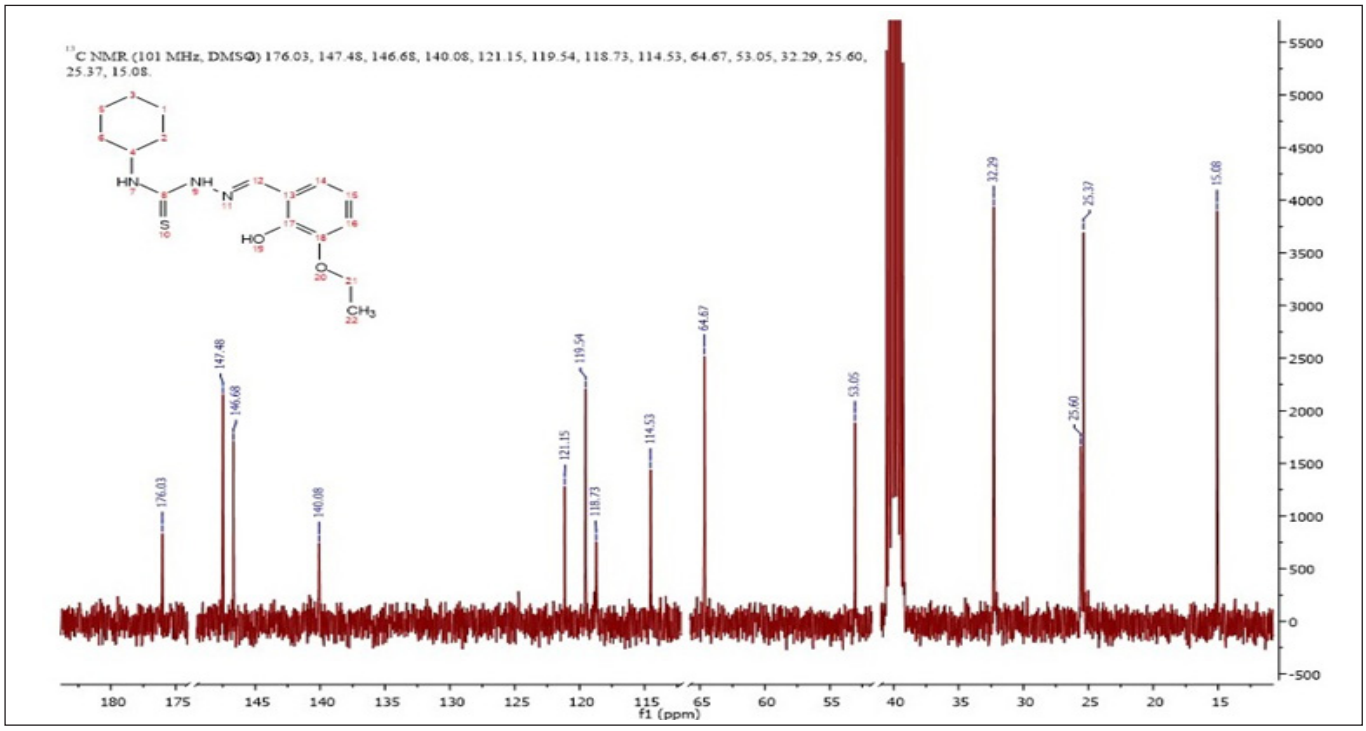


FT-IR (Bruker ALPHA),(ν_{max}, cm^{-1}): $[Cu(HL)(H_2O)]NO_3$ (5) 423; 441; 479; 536; 573; 634; 737; 778; 817; 843; 876; 905; 950; 983; 1016; 1048; 1091; 1130; 1179; 1219; 1239; 1314, 1341; 1376; 1397; 1451; 1466; 1541; 1562; 1591; 1605; 2850; 2919; 3003; 3061; 3216; 3441

Fig. 5. Spectrele ^{1}H-RMN şi ^{13}C-RMN pentru H$_2$L în DMSO-d$_6$.

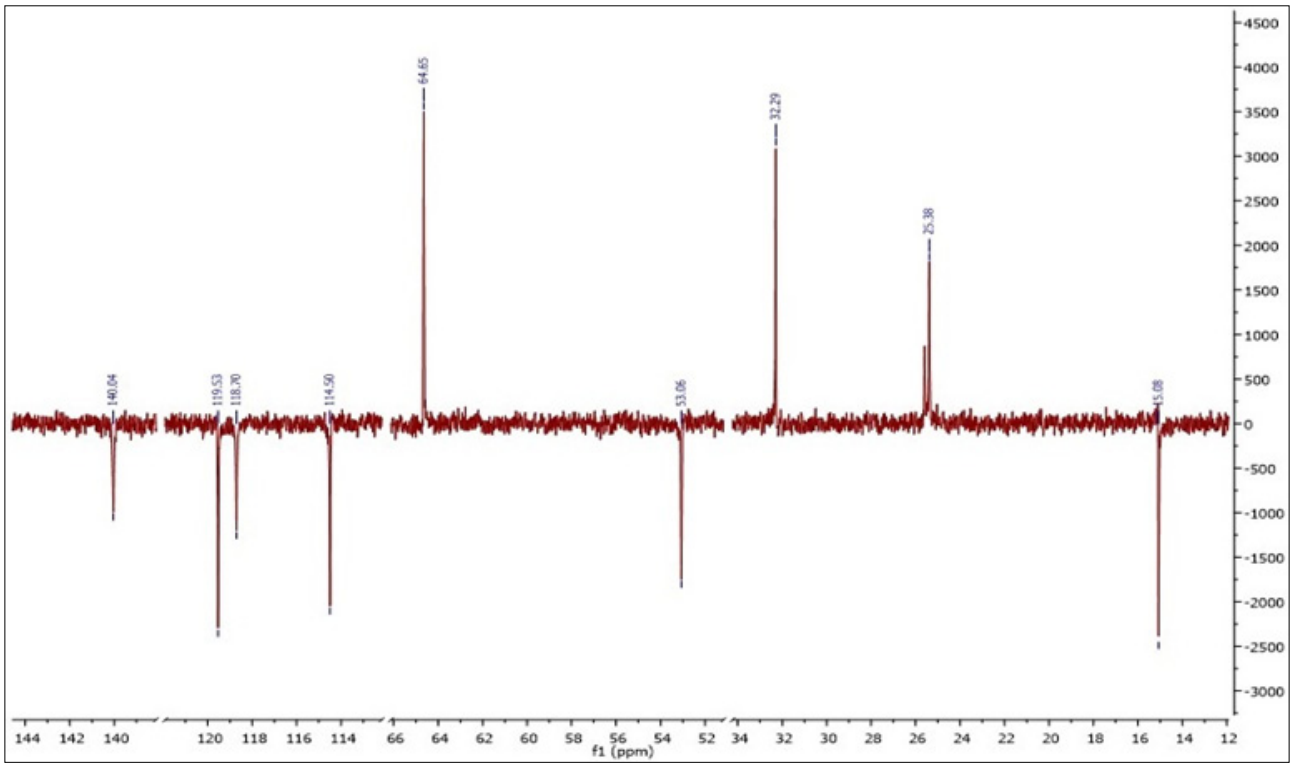


^{1}H-RMN (DMSO-d$_6$, ppm) δ: 11.36, 9.08, 8.41, 7.95, 7.93, 7.48, 7.46, 6.97, 6.97, 6.95, 6.95, 6.80, 6.78, 6.76, 4.08, 4.07, 4.05, 4.03, 1.88, 1.86, 1.74, 1.71, 1.59, 1.44, 1.43, 1.41, 1.41, 1.38, 1.37, 1.36, 1.35, 1.34, 1.30, 1.28, 1.27, 1.15, 1.06.

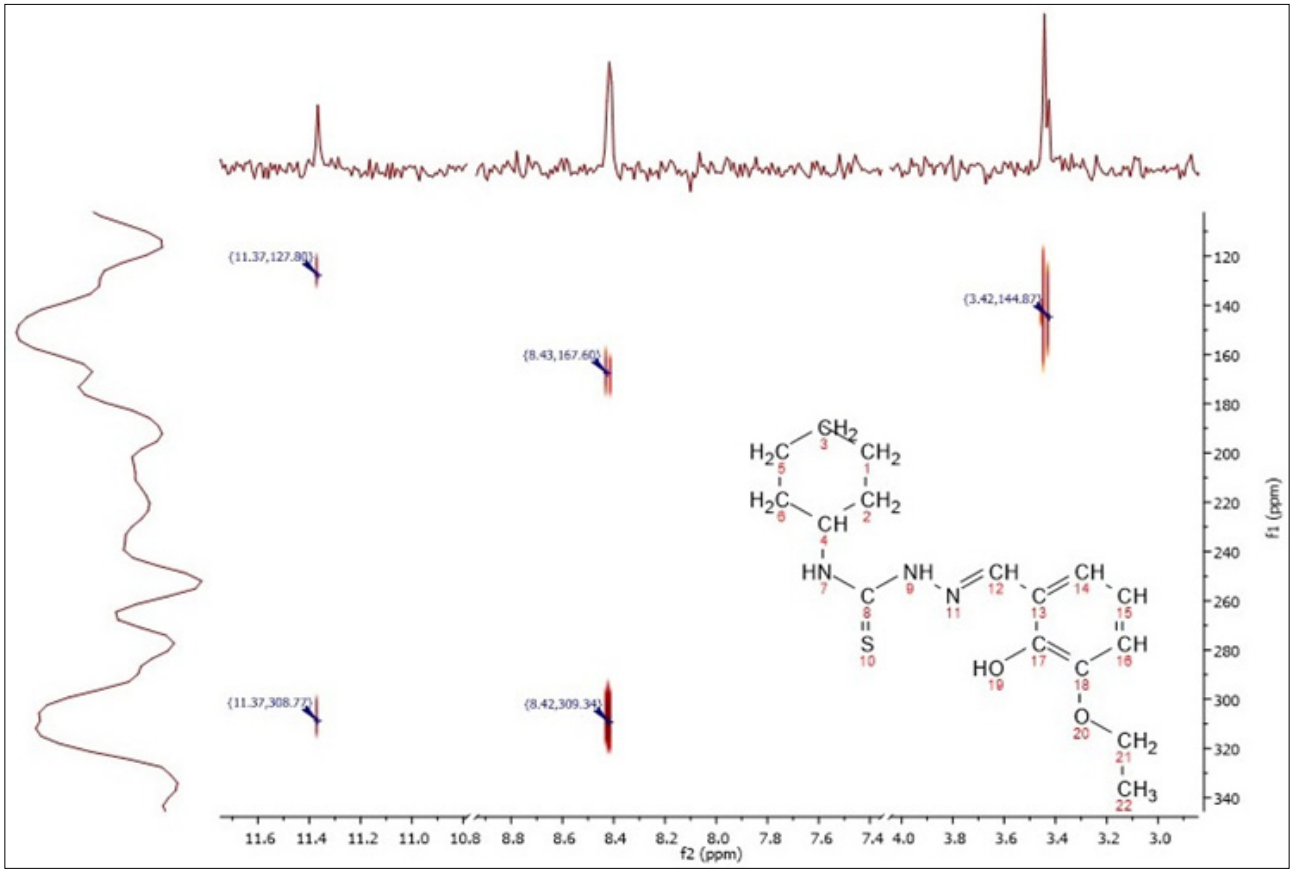


^{13}C-RMN (DMSO-d$_6$, ppm) δ: 176.03, 147.48, 146.68, 140.08, 121.15, 119.54, 118.73, 114.53, 64.67, 53.05, 32.29, 25.60, 25.37, 15.08.

Fig. 6. Spectrele ^{13}C- DEPT-135 RMN și ^{15}N HSQC-RMN pentru H_2L în DMSO-d_6.

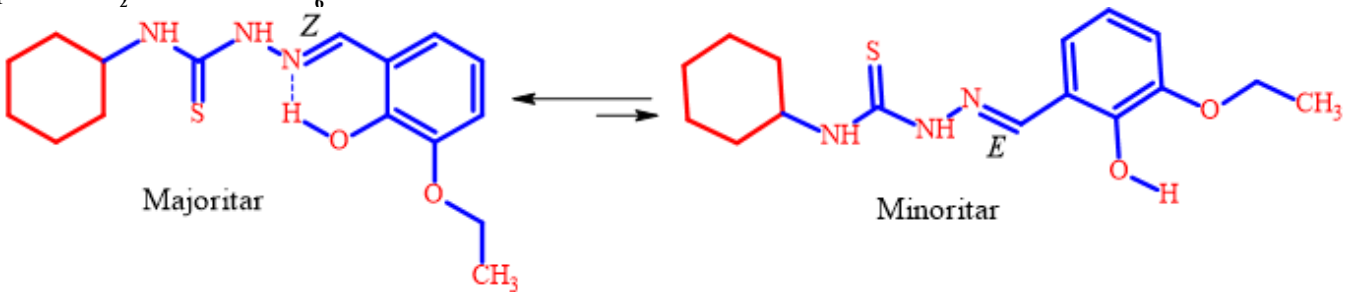


^{13}C-RMN - DEPT-135 (DMSO-d_6, ppm) δ: 140.04, 119.53, 118.70, 114.50, 64.65, 53.06, 32.29, 25.38, 15.08.



^{15}N HSQC-RMN δ, (400 MHz, DMSO-d_6) 11.37(127.80), 11.37(308.77), 8.43(167.60), 8.42(309.34), 3.42(144.87).

Fig. 7. Forme tautomere în soluţie confirmate prin inermediul spectroscopiei ^{15}N HSQC-RMN pentru H_2L în DMSO-d_6.



Procedura de sinteză a combinaţiilor coordinative ale Cu(II).

Sinteza compuşilor coordinativi **1-5**. Într-un balon conic termorezistent înzestrat cu un deflegmator, se adaugă 0.3214 g (1 mmol) de H_2L care se dizolvă la fierbere în 10 mL alcool etilic. Se trece în soluţie tot H_2L, după care se picură soluţia etanolică de (1 mmol) sare de cupru(II). Conţinutul balonului se refluxează la o agitare magnetică timp de 1.5 h. Solidul obţinut se filtrează prin pâlnia Buchner cu disc fritat, se recristalizează din etanol (96 %), apoi uscarea are loc într-un exicator cu vid în prezenţa P_2O_5, până la o masa constantă (analiza elementală şi parametrii fizici sunt indicaţi în Tabelul 1 şi Tabelul 2).

Tabelul 1. Analiza elementară a compuşilor coordinativi sintetizaţi.

Codul	Formula brută	ω (Cu), % teoretic/practic	ω (S), % teoretic/practic	ω(N), % teoretic/practic
[Cu(HL)Cl] (1)	$C_{16}H_{22}ClCuN_3O_2S$	15.15/14.96	7.64/7.80	10.02/10.15
[Cu(HL)Br] (2)	$C_{16}H_{22}BrCuN_3O_2S$	13.70/13.56	6.91/6.56	9.06/9.30
[Cu(HL)CH_3COO] (3)	$C_{18}H_{25}CuN_3O_4S$	14.34/14.00	7.24/7.00	9.48/9.23
[Cu(HL)(H_2O)ClO_4] (4)	$C_{16}H_{24}ClCuN_3O_7S$	12.67/12.82	6.39/6.23	8.38/8.15
[Cu(HL)(H_2O)]NO_3 (5)	$C_{16}H_{24}CuN_4O_6S$	13.70/13.61	6.91/6.79	12.07/11.92

Tabelul 2. Date fizice despre compuşii coordinativi sintetizaţi.

Codul	Mr	Conductivitatea, μS/cm	Punctul de topire, °C	Culoarea	η, %
[Cu(HL)Cl] (1)	419	7.4	179-180	verde deschis	88
[Cu(HL)Br] (2)	464	7.3	175-176	brun	86
[Cu(HL)CH_3COO] (3)	443	6.4	240-241	verde briliant	92
[Cu(HL)(H_2O)ClO_4] (4)	501	10.1	se descompune	verde mat	75
[Cu(HL)(H_2O)]NO_3 (5)	464	60.3	221-222	verde închis	70

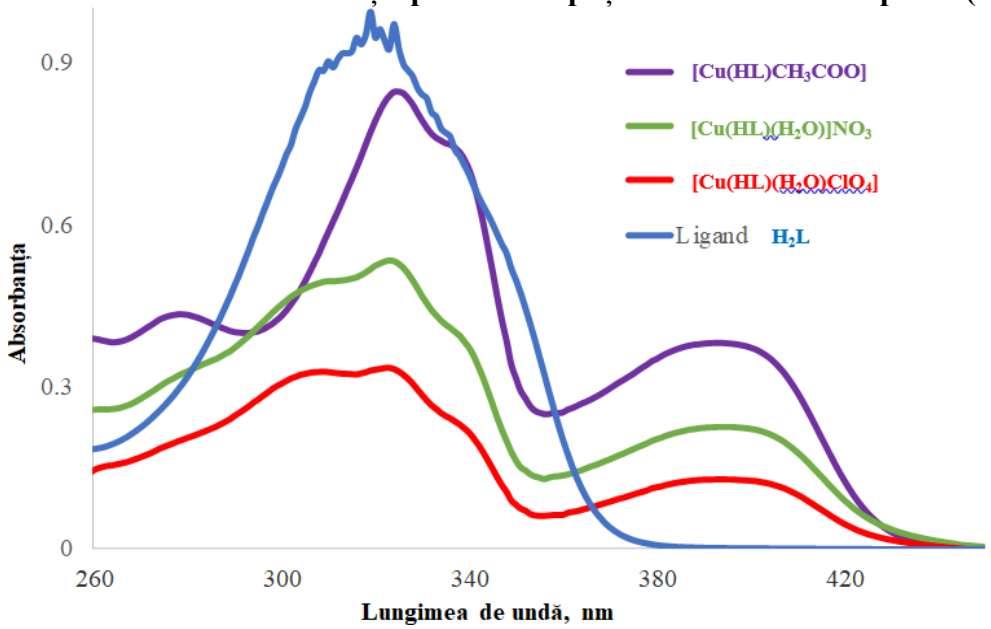
În spectrele UV-vis tiosemicarbazona (H_2L) apare sub forma unui pic cu mai multe vârfuri în domeniu 310-330 nm, cu maximum la 320 nm. În spectrele electronice ale compuşilor coordinativi sunt prezente două picuri, cu maxime la 325 nm şi 393 nm. Se observă diferenţa bruscă în absorbanţa compuşilor coordinativi unul faţă de altul, ce poate fi datorită anionului diferit în compoziţia lor, poate fi considerat factorul care generează geometria atomului central.

Substanţa	λ^1_{max}, (nm)	A^1	ξ^1 ($M^{-1}cm^{-1}$)	λ^2_{max}, (nm)	A^2	ξ^2 ($M^{-1}cm^{-1}$)
Ligand H_2L	320	0.945	**94500**	-	-	-
[Cu(HL)CH_3COO] (3)	325	0.847	**84700**	393	0.382	**38200**
[Cu(HL)(H_2O)ClO_4] (4)	323	0.334	**33400**	393	0.128	**12800**

[Cu(HL)(H$_2$O)]NO$_3$ (5)	323	0.534	**53400**	393	0.226	**22600**

l = 1cm, C = 1·10^{-5} M.

Fig. 8. Spectrele electronice de absorbție pentru compușii coordinativi ai cuprului(II) (în EtOH).

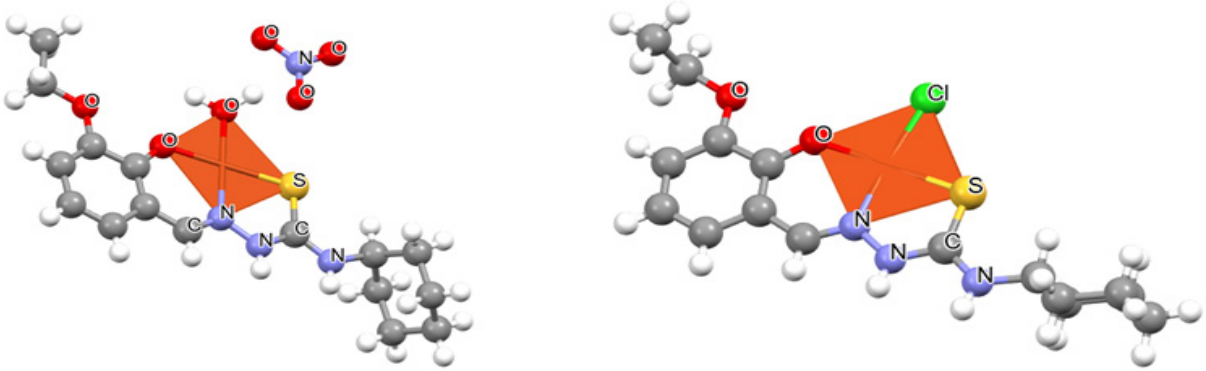


Rezultate şi discuţii

În spectrele RMN se pot observa picuri caracteristice structurii H_2L. Astfel la deplasarea chimică de 176.03 ppm este caracteristic pentru grupa funcțională tionică (C=S). Datorită faptului că ligandul H_2L manifestă aciditate fenolică forma tautomeră regăsită în spectrele ^{1}H-RMN și ^{15}N-RMN este cea tionică stabilizată prin legături de hidrogen (Fig.7).

Sinteza compușilor coordinativi **1-5**, a fost realizată după metode clasice de sinteză. Prin intermediul metodelor moderne de studiu a structurii compușilor sintetizați atât organici cât și coordinativi denotă faptul că toți au prezentat o puritate de 90% a formelor descrise în lucrare, cele 10 % reprezintă forme izomere și compuși organici modificați în urma coordinări pe matrice de Cu(II). Astfel la recristalizarea complecșilor **1** și **5** din soluția etanolică s-au obținut monocristale de culoare verde sub formă de plăci paralelipipedice, care au fost analizate cu ajutorul difracției razelor X pe monocristal, confirmând următoarea structură moleculară: [Cu(HL)Cl] (1) și [Cu(HL)(H$_2$O)]NO$_3$ (5). Ionul central are numărul de coordinare patru, poliedrul de coordinare fiind un plan-pătrat. Pentru [Cu(HL)(H$_2$O)]NO$_3$ (5) în sfera exterioară se găsește anionul nitrat. În ambele cazuri la complecșii **1** și **5** ligandul este monodeprotonat prin intermediul oxigenului fenolic, formând legături coordinative prin intermediul atomului de N azometinic și S tionic la atomul central (Fig. 9).

Fig. 9. Structura moleculară a compușilor coordinativi și [Cu(HL)Cl] (1) și [Cu(HL)(H$_2$O)]NO$_3$ (5).



Concluzii

1. A fost sintetizat ligandul nou *(E)*-N-ciclohexil-2-(3-etoxi-2-hidroxibenziliden)hidrazin-1-carbotioamida, puritatea căruia a fost confirmată cu ajutorul cromatografiei în strat subțire, spectroscopiei FTIR precum și cu ajutorul spectrelor ^{1}H-RMN, ^{13}C-RMN și ^{15}N-RMN.

2. Au fost obținuți cinci compuși coordinativi noi în baza sărurilor de Cu(II) și ligandul N-ciclohexil-2-(3-etoxi-2-hidroxibenziliden)hidrazin-1-carbotioamida. Structura și repartizarea legăturilor chimice în compuși coordinativi **1-5** au fost confirmată cu ajutorul analizei titrimetrice la metal și gravimetrice la sulf și metodei Dumas de analiză a azotului, spectroscopiei FTIR, conductivității în soluție (EtOH).

3. Structurile moleculare ale compușilor coordinativi [Cu(HL)Cl] (1) și [Cu(HL)(H_2O)]NO_3 (5) au fost stabilite cu ajutorul difracției razelor X pe monocristal. În ambele cazuri ionul central are numărul de coordinare patru, poliedrul de coordinare fiind plan-pătrat.

Referinţe:

1. ARCADIE FUIOR, DIANA CEBOTARI, MOHAMED HAOUAS, JÉRÔME MARROT, GUILLERMO MINGUEZ ESPALLARGAS, VINCENT GUÉRINEAU, DAVID TOUBOUL, ROMAN RUSNAC, AURELIAN GULEA, AND SÉBASTIEN FLOQUET. Synthesis, structures, and solution studies of a new class of [$Mo_2O_2S_2$]-based thiosemicarbazone coordination complexes. ACS omega, 2022, 7.19: 16547-16560. https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.2c00705
2. ARCADIE FUIOR, DIANA CEBOTARI, OLGA GARBUZ, SERGIU CALANCEA, AURELIAN GULEA, SÉBASTIEN FLOQUET. Biological properties of a new class of [$Mo_2O_2S_2$]-based thiosemicarbazone coordination complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 2023, 548: 121372. https://doi.org/10.1016/j.ica.2022.121372
3. ELENA PAHONTU, FELICIA JULEA, TUDOR ROSU, VICTOR PURCAREA, YURIE CHUMAKOV, PETRU PETRENCO, AURELIAN GULEA. *Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones.* Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2015, 19(4), pp. 865-78. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.12508
4. MICHAEL A. JAKUPEC, MATHEA S. GALANSKI, VLADIMIR B. ARION, CHRISTIAN G. HARTINGER AND BERNHARD K. KEPPLER. Antitumour metal compounds: more than theme and variations. *Dalton transactions*, 2008, 2: 183-194. https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2008/dt/b712656p/unauth
5. MAHENDIRAN DHARMASIVAM, BUSRA KAYA, THARUSHI WIJESINGHE, MAHAN GHOLAM AZAD, MIGUEL A. GONZÁLVEZ, MOHAMMAD HUSSAINI, JASON CHEKMAREV, PAUL V. BERNHARDT, and DES R. RICHARDSON. Designing Tailored Thiosemicarbazones with Bespoke Properties: The Styrene Moiety Imparts Potent Activity, Inhibits Heme Center Oxidation, and Results in a Novel „Stealth Zinc (II) Complex”. In: *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66, 2, pp. 1426–1453. https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.2c01600
6. LIBERTA, A. E., WEST, D. X. Antifungal and antitumor activity of heterocyclic thiosemicarbazones and their metal complexes: current status. Biometals 5, 121–126(1992). https://doi.org/10.1007/BF01062223
7. M. BELICCHI FERRARI, S CAPACCHI, G PELOSI, G REFFO, P TARASCONI, R ALBERTINI, S PINELLI, P LUNGHI. Synthesis, structural characterization and biological activity of helicin thiosemicarbazone monohydrate and a copper(II) complex of salicylaldehyde thiosemicarbazone. Inorganica Chimica Acta. Volume 286, Issue 2, 1999, pages 134-141, ISSN 0020-1693. https://doi.org/10.1016/S0020-1693(98)00383-1.
8. DIANA CEBOTARI, SERGIU CALANCEA, JERÔME MARROT, RÉGIS GUILLOT, CLÉMENT FALAISE, VINCENT GUÉRINEAU, DAVID TOUBOUL, MOHAMED HAOUAS, AURELIAN GULEA and SÉBASTIEN FLOQUET. Tuning the nuclearity of [$Mo_2O_2S_2$]$^{2+}$-based assemblies by playing with the degree of flexibility of bis-thiosemicarbazone ligands. *Dalton Transactions*, 2023, 52.10: 3059-3071. https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2023/dt/d2dt03760b/unauth
9. VASILII GRAUR, IRINA USATAIA, OLGA GARBUZ, and AURELIAN GULEA. Novel copper (II) complexes with S-substituted isothiosemicarbazone as highly selective anticancer compounds against BxPC-3 Cell Line. In: *Medical Sciences Forum*. MDPI, 2022, p. 33. https://www.mdpi.com/2673-9992/14/1/33

10. SCOVILL, JOHN P., DANIEL L., KLAYMAN, CHRIS, LAMBROS, GEORGE, E. CHILDS, and JOHN, D. NOTSCH. *,,2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 9. Derivatives of 2-acetylpyridine 1-oxide as potential antimalarial agents".* Journal of Medicinal Chemistry 27, no. 1(1984), pp. 87-91. https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jm00367a019
11. GULEA, A. P., MITKEVICH, N. L., CHUMAKOV, Y. M., PETRENKO, P. A., BALAN, G. G., BURDUNIUC, O. S. and TSAPKOV, V. I., *Synthesis, structure, and biological activity of coordination compounds of cobalt (II), nickel (II), and copper (II) with N-(methoxyphenyl)-2-[(5-nitrofuryl)methylene]hydrazinecarbothioamides.* Russian Journal of General Chemistry, 2019, 89(7), pp. 1415-1423. https://link.springer.com/article/10.1134/S1070363219070119
12. RUSNAC, ROMAN, ANNA RUSNAC, OLGA GARBUZ, and AURELIAN GULEA. *,,Synthesis and structure of copper (II) coordination compounds with 4-N-substitute-thiosemicarbazone of 4-benzoil-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihidro-3H-pyrazol-3-one. Antioxidant, antimicrobial and antitumor properties".* Economy Transdisciplinarity Cognition, 2019, 22, no. 2 pp. 5-14. http://www.ugb.ro/Downloads/Info%20Studenti/20192020/etc2019no2/03_Rusnac,_Rusnac,_Garbuz,_Gulea.pdf
13. RUSNAC, R., NICOLENCO, N., ZAROVNAIA, A., RUSU, V., BÎRCĂ, M., GULEA A., *Metode de sinteză a unor izotiocianați alifatici, aromatici, heterociclici.* Conferinţa ştiinţifică naţională cu participare internaţională integrare prin cercetare şi inovare 7-8 noiembrie 2019. Științe ale Naturii și Exacte. Rezumate ale comunicărilor, 2019, p. 202-206. ISBN 978-9975-149-47-1. http://usm.md/wp-content/uploads/Rezumate-St_NaturiiExacte.pdf
14. RUSNAC, R. *Designul și sinteza compușilor biologic activi ai unor metale 3d cu tiosemicarbazone N(4)-substituite ale derivaților 2-formilpiridinei*: rezumatul tz. de doct. în șt. chimice. Chișinău, 2022, 31 p. http://www.cnaa.md/files/theses/20222/58084/roman_rusnac_abstract.pdf
15. GULEA A. Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer. In: *Akademos*, vol. 1, no. 28, pp. 102–107, 2013. http://www.akademos.asm.md/files/Noi inhibitori de proliferare a celulelor de cancer.pdf.
16. DANIEL L. KLAYMAN, JOSEPH F. BARTOSEVICH, T. SCOTT GRIFFIN, CARL J. MASON, and JOHN P. SCOVILL. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 1. A new class of potential antimalarial agents. In: *J. Med. Chem.*, vol. 22, no. 7, pp. 855–862, Jul. 1979. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm00193a020.
17. ROMAN RUSNAC, ANNA RUSNAC, OLGA GARBUZ, NICANOR BARBĂ, AURELIAN GULEA. Sinteza unor tiosemicarbazone în baza *N*-{4-[(hidrazinilcarbonotioil)amino]fenil}acetamidei. In: *Stud. Univ. Mold. - Științe R. și ale Nat.*, vol. 6, no. 96, pp. 189–194, 2016. https://natural.studiamsu.md/wp-content/uploads/2022/01/29.-p.189-194..pdf
18. ANDREI CIURSIN. Sinteza N-ciclohexiltiosemicarbazonei 3-etoxisalicilice prin metoda de: adiție, substituție și condensare. Sesiunea ,,Sesiunea naţională cu participare internaţională de comunicări ştiinţifice studenţeşti dedicată aniversării a 75-a a USM", Chişinău, Moldova, 22-23 aprilie 2021. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/47-48_24.pdf .
19. LYČKA, ANTONÍN. ^{15}N NMR study of (*E*) and (*Z*)-2-(2-(2-hydroxy-4-nitrophenyl) hydrazono)-1-phenylbutane-1,3-diones. A suitable method for analysis of hydrazone isomers. *Dyes and Pigments*, 2018, 150: 181-184. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143720817318429?via%3Dihub

Date despre autori:
Roman RUSNAC, doctor în științe chimice, lector universitar; cercetător științific în LCȘ" Materiale Avansate în Biofarmceutică și Tehnică" Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: roman.rusnac@usm.md
ORCID: 0000-0002-5713-5251

Andrei CIURSIN, student, Departamentul Chimie, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: andrei.ciursin@gmail.com
ORCID: 0000-0002-3160-4582

Angela SÎRBU, doctor, conferențiar universitar; cercetător științific superior, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: angela.sirbu@usm.md
ORCID: 0000-0003-3173-5176

***Sergiu ŞOVA**,* doctor, conferenţiar universitar; cercetător ştiinţific superior, Universitatea de Stat din Moldova; Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni», România.
E-mail: shova@icmpp.ro
ORCID: 0000-0002-1222-4373

***Aurelian GULEA**,* doctor habilitat, profesor universitar, academician, cercetător ştiinţific principal, şef. LCŞ” Materiale Avansate în Biofarmceutică şi Tehnică” Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail: aurelian.gulea@usm.md
ORCID: 0000-0003-2010-7959

***Notă:** Articol elaborat în cadrul proiectului: ,,Produse noi, inovative cu performanţe remarcabile în medicină (biofarmaceutică). Elucidarea mecanismelor moleculare şi celulare ale acţiunii acestor produse noi şi argumentarea folosirii lor la eficientizarea tratamentului unor patologii”. Cifrul: 20.80009.5007.10.*

Prezentat la 10.05.2023

CZU: 544.142.3:546.562:547.497.1

COPPER(II) COORDINATION COMPOUNDS WITH 2-ACETYLPYRIDINE N^4-(BICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-YL)THIOSEMICARBAZONE AS POTENTIAL ANTIBACTERIAL AGENTS

Vasilii GRAUR , Ianina GRAUR, Aurelian GULEA
Laboratory of Advanced Materials in Biopharmaceutics, State University of Moldova

Iulia TELEUCĂ
,,Orizont" High School, Durleşti, Chişinău

Carolina LOZAN-TÎRȘU, Greta BĂLAN
Department of Preventive Medicine, ,,Nicolae Testemitanu"
State University of Medicine and Pharmacy

The paper presents the synthesis of the new 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone (HL) and its three copper(II) coordination compounds: [Cu(L)X] (X = NO_3^- (I), Cl^- (II), $CHCl_2COO^-$ (III)). The obtained compounds were studied by NMR and FTIR spectroscopies, elemental analysis, and molar electric conductibility. The antibacterial activity towards Gram-positive (Staphylococcus aureus, Bacillus cereus) and Gram-negative (Escherichia coli, Acinetobacter baumannii) standard strains was studied for the HL and complexes I-III. The coordination of the HL to the copper(II) atom leads to the increase of activity against almost all microorganisms. Complex I is the most active one towards Gram-positive microorganisms, while complex III is the most active one towards Gram-negative microorganisms. They in many cases surpass the activity of Furacillinum and are practically on the same level as Tetracycline towards Gram-positive microorganisms.

Keywords: *thiosemicarbazones, coordination compounds, copper, antibacterial activity.*

COMPUȘI COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CU N4-(BICICLO[2.2.1]HEPTAN-2-IL)TIOSEMICARBAZONA 2-ACETILPIRIDINEI CA POTENȚIALI AGENȚI ANTIBACTERIENI

Lucrarea conține descrierea sintezei N^4-(biciclo[2.2.1]hept-2-il)tiosemicarbazonei 2-acetilpiridinei (HL) şi a trei compuşi coordinativi ai cuprului cu acest ligand: [Cu(L)X] (X = NO_3^- (I), Cl^- (II), $CHCl_2COO^-$ (III)). Compușii obținuți au fost studiați cu ajutorul spectroscopiei RMN și FTIR, analizei elementale şi conductivității molare. Pentru HL și compușii coordinativi I-III a fost studiată activitatea antibacteriană față de microorganisme Gram-pozitive (Staphylococcus aureus, Bacillus cereus) și Gram-negative (Escherichia coli, Acinetobacter baumannii). Coordinarea HL la ion de cupru(II) duce la creșterea activității antimicrobiene practic asupra tuturor microorganismelor studiate. Complexul I este cel mai activ față de microorganismele Gram-pozitive, iar complexul III este cel mai activ față de microorganismele Gram-negative. Activitatea antimicrobiană a acestor complecși în multe cazuri depășește activitatea Furacilinei și este practic la același nivel cu Tetraciclina față de microorganismele Gram-pozitive.

Cuvinte-cheie: *tiosemicarbazone, compuși coordinativi; cupru; activitate antibacteriană*

Introduction

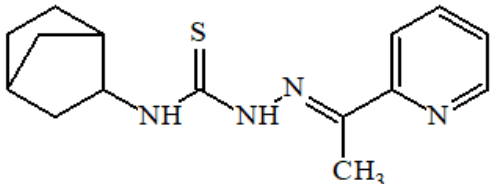
Bacterial resistance to antibiotics is a global threat for public health [1]. The resistant forms of pathogenic microorganisms develop due to the uncontrolled use of antibiotics. The resistance is outpacing new drug development now. Nearly 1.3 million people die every year because of antibiotic resistance. To stay ahead of this natural evolution, we must constantly innovate new drugs. Half of all antibiotics used today were discovered between the 1950s and 1970s [2]. Since the end of the 20th century, research and development

in this field have slowed down. Therefore, the synthesis of new substances with increased antibacterial properties remains an actual problem.

Thiosemicarbazones represent a class of organic substances which in many cases manifest biological properties such as antibacterial [3], antifungal [4], antiviral [5], and antimalarial [6]. The complexes of thiosemicarbazones with metal ions may be considered as the potential biological agents. Many studies have shown that copper(II) coordination compounds with thiosemicarbazones often display better selectivity than the initial thiosemicarbazones [7]. The substitution of the thiosemicarbazone moiety in the N^4 position leads to the increase of the different types of biological activity both in the initial thiosemicarbazone and in its complexes [8].

The aim of this work is the synthesis of 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone (HL, Fig. 1), that contains a bicyclic fragment which is present in the natural biological active substance Camphor, as well as Cu(II) complexes with this thiosemicarbazone as ligand, and the determination of their antibacterial properties.

Fig. 1. 2-Acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone.



Materials and methods

N^4-(bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)thiosemicarbazide was synthesized by the reaction between 2-isothiocyanatobicyclo[2.2.1]heptane and hydrazine hydrate as described in [9]. 2-Acetylpyridine (Sigma-Aldrich) and copper salts were used as received.

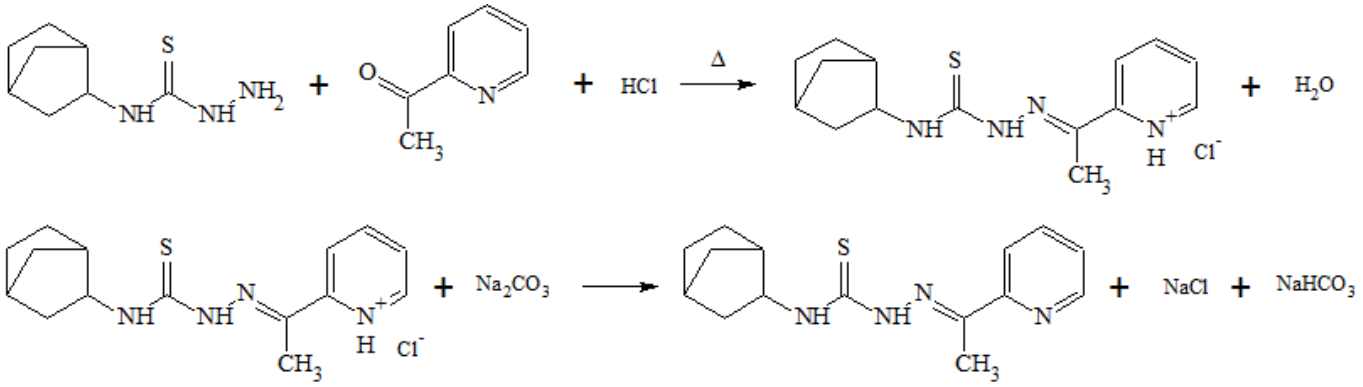
Infrared spectra of the compounds were recorded on a Bruker ALPHA FTIR spectrophotometer at room temperature in the range of 4000-400 cm^{-1}.

The determination of copper content in the synthesized coordination compounds, using titration methods, was performed similarly to the literature procedures [10, 11]. Melting point of the thiosemicarbazone was measured using capillary method [12]. Molar conductivity values of the 1 mM methanol solutions were measured using portable conductivity meter.

Synthesis of the 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)thiosemicarbazone (HL)

2-Acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)thiosemicarbazone (HL) was prepared using a two-step process (Fig. 2).

Fig. 2. Synthesis of the 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone.



At first step N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazide (0.500 g, 2.70 mmol) was dissolved in 20 mL of ethanol with the constant steering. After that, the solution of 2-acetylpyridine (0.327 g, 2.70 mmol) in 20 mL of ethanol was added. Concentrated hydrochloric acid (0.274 g, 2.70 mmol) was added to the obtained

solution. This mixture was steered and heated for 30 minutes. After cooling of the solution, the yellow precipitate of 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone hydrochloride was formed. The precipitate was filtered and washed with small amounts of cold ethanol.

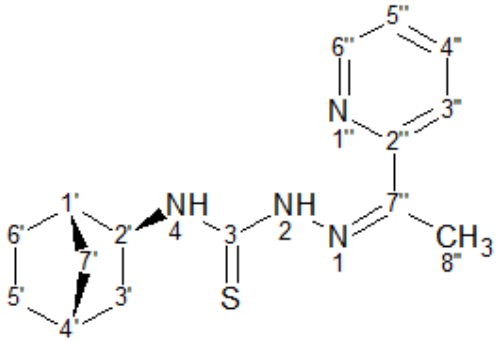
On the second step, the obtained 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone hydrochloride was dissolved in 20 mL ethanol with the constant steering and heating. The obtained solution was neutralized with an aqueous solution of Na_2CO_3. The resulting thiosemicarbazone was extracted with chloroform.

White solid. Yield: 89%; m.p.: 154-156 °C; FW: 288.41 g/mol.

Main IR peaks (cm^{-1}): ν(NH) 3329, 3185; ν(C=N) 1581, 1516; ν(C=S) 1302.

NMR spectroscopy (Fig. 3)

Fig. 3. Numbering of atoms in NMR spectra



^{1}H NMR ($CDCl_3$; δ, ppm): 8.64, 8.59 (br, 2×1H, NH(2,4)); 7.88 (d, 1H, CH(6'')); 7.72 (t, 1H, CH(4'')); 7.46 (d, 1H, CH(3'')); 7.28 (t, 1H, CH(5'')); 4.21 (t, 1H, CH(2')); 2.46 (m, 1H, CH(1')); 2.38 (s, 3H, CH_3); 2.36 (m, 1H, CH(4')); 2.0-1.1 (m, 8H, CH_2 (3', 5', 6', 7'));.

^{13}C NMR ($CDCl_3$; δ, ppm): 176.72 (C(3)=S); 154.57, 148.89, 147.32, 123.95, 120.08 (C from pyridine fragment); 136.34 (C(7'')=N); 57.66, 42.35, 40.47, 36.02, 35.90, 28.08, 26.37 (C from bicycle fragment), 11.41 (CH_3(8'')).

Synthesis of Cu(II) coordination compounds

The complexes [Cu(L)X] (X = NO_3^- (I), Cl^- (II), $CHCl_2COO^-$ (III)) were obtained by reaction between hot ethanolic solution of HL and corresponding copper salt (copper(II) nitrate trihydrate, copper(II) chloride dihydrate, and copper(II) dicloroacetate, correspondingly) in 1:1 molar ratio. The green precipitates have formed during stirring. They were filtered, washed with a small amount of ethanol and allowed to dry at room temperature.

Antibacterial bioassay

The antimicrobial activities of the pro-ligand and complexes were evaluated *in vitro* against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Escherichia coli* (ATCC 25922), and *Acinetobacter baumannii* (BAA-747) standard strains. Determination of the MICs (minimum inhibitory concentrations) and MBCs (minimum bactericidal concentrations) was done using the serial dilutions in liquid broth method [13].

Results and discussion

The process of condensation of thiosemicarbazides with ketones usually requires 5-8 hours of heating in presence of the catalytic amount of acetic acid [14, 15]. So, a modified two-step mechanism was developed in order to obtained the required thiosemicarbazone. As a result of reaction between N^4-(bicyclo[2.2.1] heptan-2-yl)thiosemicarbazide, 2-acetylpyridine, and hydrochloric acid in molar ration 1:1:1 hydrochloride of 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone (HL·HCl) was easily obtained in 30 minutes Reaction between ethanol solution of HL·HCl and aqua solution of sodium carbonate was used to obtained 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)thiosemicarbazone (HL) which was extracted from the reaction mixture with chloroform and then purified by recrystallization from ethanol. Its structure was proven using NMR spectroscopy (Fig. 4 and 5).

Fig. 4. ^{1}H NMR spectrum of HL

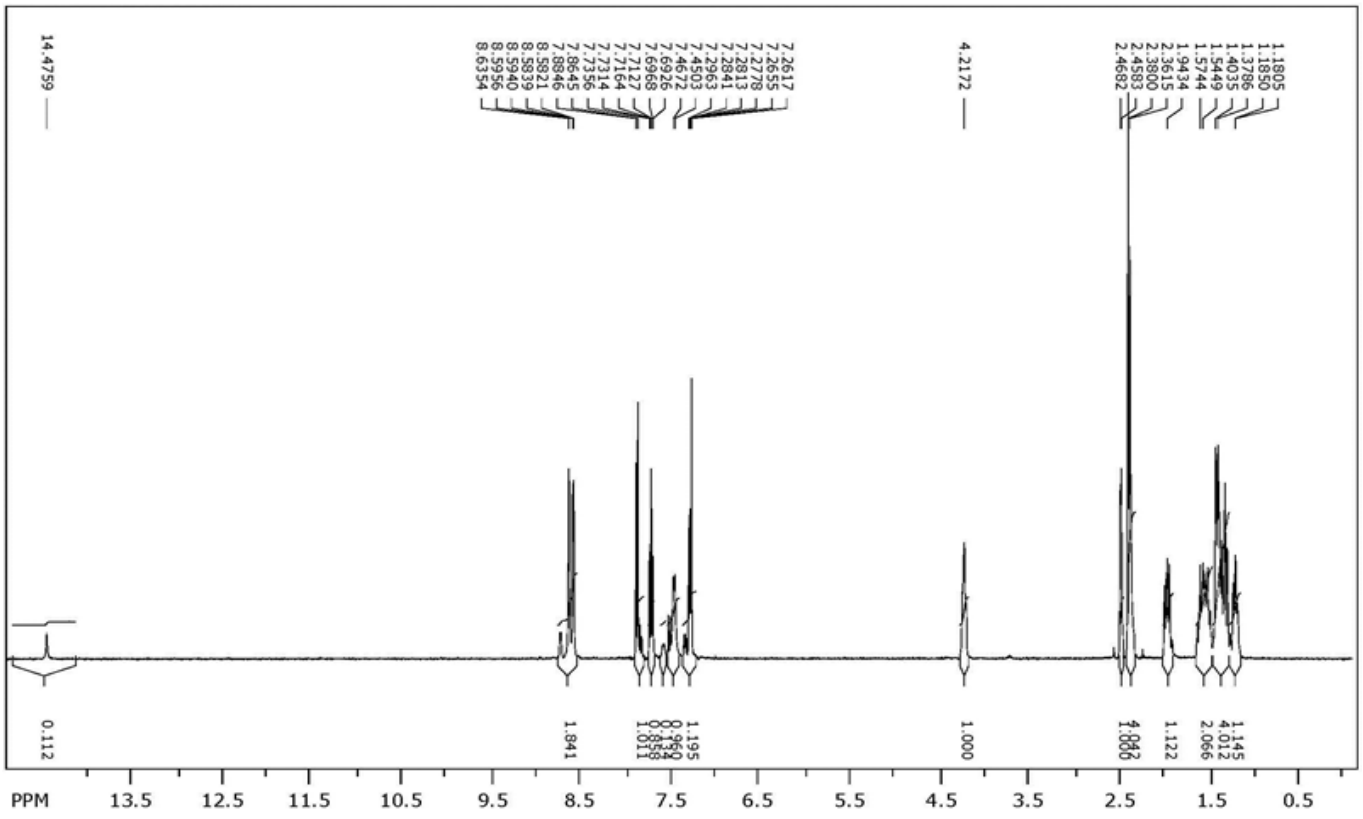
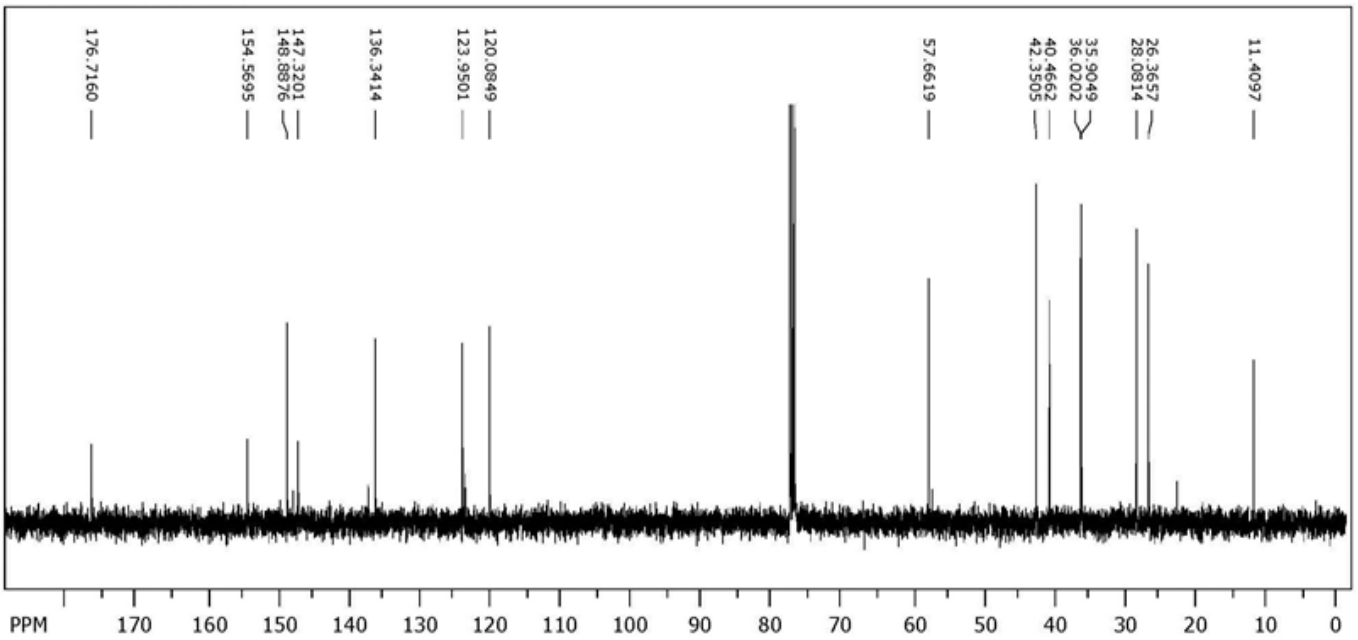


Fig. 5. ^{13}C NMR spectrum of HL



^{1}H NMR spectrum contains corresponding peaks of hydrogen atoms from bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl fragment (1.18-4.21 ppm), methyl group (2.38 ppm), pyridine moiety and NH-groups (7.26-8.63 ppm). Also there is a small peak at 14.48 ppm which corresponds to the hydrogen of the SH-group. It indicates the presence of an equilibrium between thion and thiol tautomeric forms of this thiosemicarbazone in the chloroform solution.

^{13}C NMR also contains all the characteristic peaks of sp^3-hybrid carbon atoms from bicyclic fragment (26.37-57.66 ppm), methyl group (11.41 ppm), and sp^2-hybrid carbon atoms (120.08-176.72 ppm) including characteristic peak at 176.72 ppm of the C=S carbon atom.

Three new copper coordination compounds were obtained as a result of interaction between $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ and $Cu(CHCl_2COO)_2$ with ethanol solution of thiosemicarbazone HL. The obtained coordination compounds are green microcrystalline solids and are stable in air. The elemental analysis on copper suggest the general formula Cu(L)X (X = NO_3^- (I), Cl^-(II), $CHCl_2COO^-$ (III)) (Table 1).

Table 1. Physical and analytical data of the metal complexes (I-III).

#	Compound	Formula	η[a], %	Found/calculated, metal %	λ[b]
I	[Cu(L)NO_3]	$C_{15}H_{19}CuN_5O_3S$	78	16.01/15.39	86
II	[Cu(L)Cl]	$C_{15}H_{19}ClCuN_4S$	87	16.94/16.45	108
III	[Cu(L)($CHCl_2COO$)]	$C_{17}H_{20}Cl_2CuN_4O_2S$	82	13.06/13.27	60

a – yield; b – molar conductivity in methanol at room temperature, $\Omega^{-1} \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$.

The molar conductivity values of the synthesized complexes I-III are in the range 60 - 108 $\Omega^{-1} \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$ that indicates that these complexes are 1:1 type of electrolytes.

The FTIR spectrum of HL contains the absorption bands at 3329 and 3185 cm^{-1} that correspond to two NH groups, ν(C=N) absorption bands at 1581 and 1516 cm^{-1} and ν(C=S) absorption band at 1302 cm^{-1}. One of the ν(N-H) absorption bands disappears from the FTIR spectra of the complexes I-III, which points to deprotonation of the HL in the process of coordination (Fig. 6, Table 2).

Fig. 6. FTIR spectra of HL (blue) and [Cu(L)Cl] (II) (green).

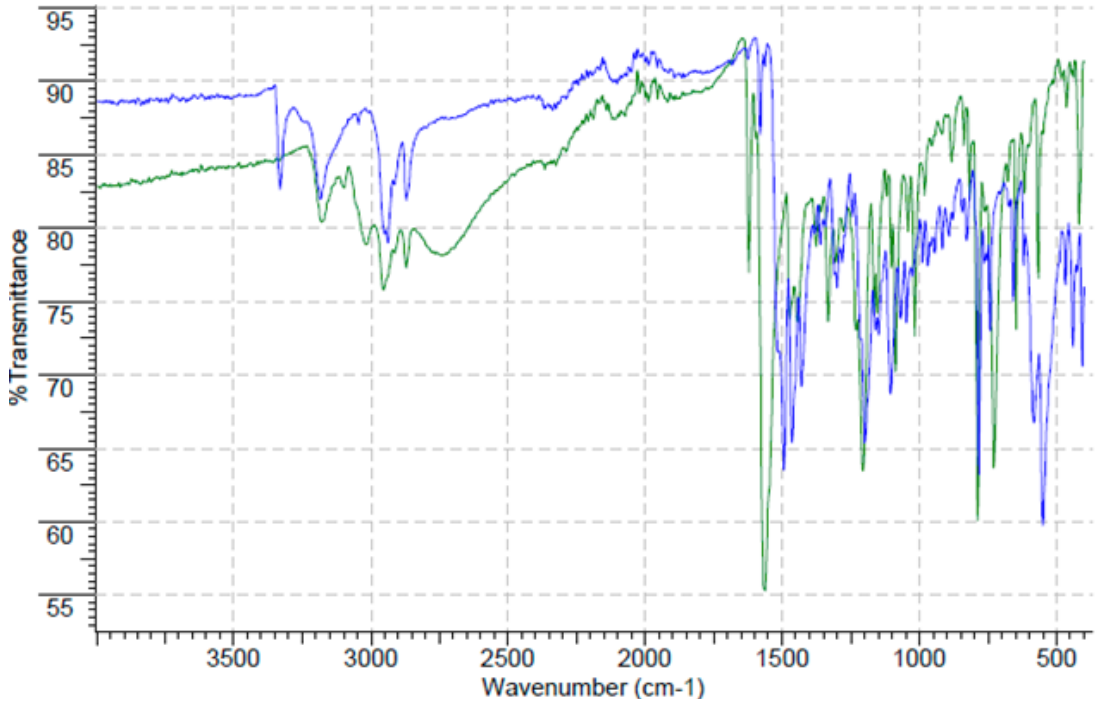


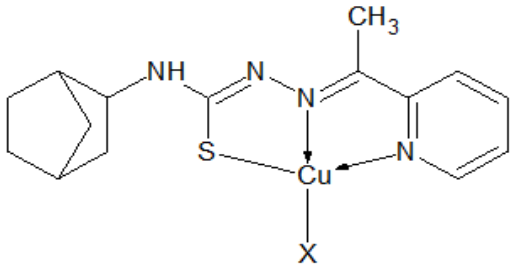
Table 2. Some frequencies (cm^{-1}) of the FTIR spectra of the thiosemicarbazone HL and complexes I-III.

Compound	ν(NH)	ν(C=N)	ν(C=S)	ν(C-S)
HL	3329 3185	1581 1516	1302	-
[Cu(L)NO_3] (**I**)	3350	1601 1499,1475	-	777

[Cu(L)Cl] (**II**)	3180	1621 1563,1546	-	787
[Cu(L)($CHCl_2COO$)] (**III**)	3321	1599 1505, 1495	-	787

The results showed the appearance of new ν(C = N) absorption band, and the disappearance of ν(C = S) absorption band from all the spectra of copper(II) coordination compounds. The new absorption band appears in the spectra at 777-787 cm^{-1} that correspond to ν(C-S). All these results confirm that HL acts as a mono-deprotonated tridentate ligand, that coordinates to the copper(II) atom by pyridine nitrogen atom, azomethine nitrogen atom, and sulfur atom in the thiol form. The proposed distribution of chemical bonds in the coordination compounds is shown in Figure 7.

Fig. 7. Proposed distribution of chemical bonds in the complexes. (X = NO_3^- (I), Cl^- (II), $CHCl_2COO^-$ (III)).



For the synthesized compounds the antibacterial activity was studied *in vitro* on a series of standard strains. The obtained results in terms of minimal inhibitory concentrations (MICs) and minimal bactericidal concentrations (MBCs) are presented in Table 2.

Table 2. Antibacterial activity of thiosemicarbazone HL and copper(II) complexes I-III.

Compound	Staphylococcus aureus ATCC 25923		Bacillus cereus ATCC 11778		Escherichia coli ATCC 25922		Acinetobacter baumannii BAA-747	
	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL	MIC, μg/mL	MBC, μg/mL
HL	0.244	0.244	0.122	0.244	>1000	>1000	500.0	>1000
I	0.244	0.488	0.031	0.061	31.25	62.50	1.953	7.813
II	0.488	0.977	0.061	0.061	62.50	250.0	3.906	15.63
III	0.977	1.953	0.244	0.244	125.0	500.0	1.953	3.906
Furacillinum [16, 17]	9.3	9.3	4.7	4.7	18.5	37.5	4.7	9.4
Tetracycline [18-21]	0.25	1.96	0.06	-	0.98	3.91	0.5	-

The HL and its copper(II) coordination compounds manifest antibacterial activity towards a series of Gram-positive (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 11778)) and Gram-negative (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Acinetobacter baumannii* (BAA-747)) standard strains in the range of concentrations 0.031-1000 μg/mL. The HL is active only towars Gram-positive microorganisms, but towards Gram-negative microorganisms it is inactive. The coordination of the HL to the copper(II) ion does not lead to the increase of antibacterial activity only in the case of *Staphylococcus aureus*. Nevertheless, in the case of others microorganisms the results showed the significant increase of the activity. Complex I is the most active one towards Gram-positive microorganisms, its activity is up to 150 times greater than the activity of Furacillinum, and is on the same level of activity with Tetracycline, that are used in medicine as an antibiotic. Complex III is the most active one towards Acinetobacter baumannii and it exceeds the activity of Furacillinum in 2.4 times.

Conclusions

The new 2-acetylpyridine N^4-(bicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)thiosemicarbazone (HL) and its 3 copper(II) coordination compounds were prepared and characterized using such methods as NMR and FTIR spectroscopies, elemental analysis and molar conductivity. The antimicrobial activity towards Gram-positive and Gram-negative microorganisms was studied for all the obtained substances. The results showed that in almost all cases the coordination of the HL to the copper atom leads to the increase of such type of activity. Complex I is the most active one towards Gram-positive microorganisms and complex III is the most active one towards Gram-negative Acinetobacter baumannii. The most active complexes surpass in many cases the activity of Furacillinum and are practically on the same level as Tetracycline towards Gram-positive microorganisms.

References:

1. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: World Health Organization, 2022.
2. AMINOV, RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. In: *Front Microbiol,* 2010, Vol.1, p.134.
3. PAREKH, A. K., DESAI, K. K. Synthesis and antibacterial activity of thiosemicarbazones. In: *Indian Journal of Chemistry*, 2006, Vol. 45B, p. 1072-1075.
4. BENNS, B. G., GINGRAS, B. A., BAYLEY, C. H. Antifungal activity of some thiosemicarbazones and their copper complexes. In: *Applied Microbiology*, 1960, Vol. 8(6), p. 353-356.
5. SHIPMAN JR, C., SMITH, S. H., DRACH, J. C., KLAYMAN, D. L. Antiviral activity of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones against herpes simplex virus. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1981, Vol. 19(4), p. 682-685.
6. DE OLIVEIRA, R. B., DE SOUZA-FAGUNDES, E. M., SOARES, R. P., ANDRADE, A. A., KRETTLI, A. U., ZANI, C. L. Synthesis and antimalarial activity of semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives. In: *European journal of medicinal chemistry,* 2008, Vol. 43(9), p. 1983-1988.
7. WEST, D. X., LIBERTA, A. E., PADHYE, S. B., CHIKATE, R. C., SONAWANE, P. B., KUMBHAR, A. S., YERANDE, R. G. Thiosemicarbazone complexes of copper(II): structural and biological studies. In: *Coord. Chem. Rev.* 1993, Vol. 123, p. 49−71.
8. LIBERTA, A. E., WEST, D. X. Antifungal and antitumor activity of heterocyclic thiosemicarbazones and their metal complexes: current status. In: *Biometals,* 1992, Vol. 5(2), p. 121–126.
9. BÖYÜKATA, M. BSW2019 (Eighth Bozok Science Workshop). In: Electronic Letters on Science and Engineering, Vol. 15(2), p. 1-39.
10. ПОДЧАЙНОВА, В. Н., СИМОНОВА, Л. Н. *Медь. Аналитическая химия элементов*. Москва: Наука, 1990, с. 78-80.
11. БЕЛЯВСКАЯ, Т. А. *Практическое руководство по гравиметрии и титриметрии*. Москва: Издательство Московского Университета, 1986, с. 123.
12. Межгосударственный стандарт. ГОСТ 18995.4-73. Методы определения интервала температуры плавления, 1973.
13. GRAUR, V., USATAIA, I., GRAUR, I., GARBUZ, O., BOUROSH, P., KRAVTSOV, V., LOZAN-TIRSU, C., BALAN, G., FALA, V., GULEA, A. Novel Copper (II) Complexes with N^4,*S*-Diallylisothiosemicarbazones as Potential Antibacterial/Anticancer Drugs. In: *Inorganics*, 2023, Vol. 11(5), p. 195.
14. DIMMOCK, J. R., PANDEYA, S. N., QUAIL, J. W., PUGAZHENTHI, U., ALLEN, T. M., KAO, G. Y., DECLERCQ, E. Evaluation of the semicarbazones, thiosemicarbazones and bis-carbohydrazones of some aryl alicycylic ketones for anticonvulsant and other biological propertie. In: *European journal of medicinal chemistry*, 1995, Vol. 30(4), p. 303-314.
15. LI, M. X., CHEN, C. L., LING, C. S., ZHOU, J., JI, B. S., WU, Y. J., NIU, J. Y. Cytotoxicity and structure–activity relationships of four α-N-heterocyclic thiosemicarbazone derivatives crystal structure of 2-acetylpyrazine thiosemicarbazone. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2009, Vol. 19(10), p. 2704-2706.

16. PAHONTU, E., USATAIA, I., GRAUR, V., CHUMAKOV, Y., PETRENKO, P., GUDUMAC, V., GULEA, A. Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu(II), Co(III), Fe(III) and Cr(III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-*S*-methylisothiosemicarbazone: Antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity. In: *Appl. Organomet. Chem.* 2018, Vol. 32, p. e4544.
17. PAHONȚU, E., PROKS, M., SHOVA, S., LUPAȘCU, G., ILIEȘ, D.C., BĂRBUCEANU, Ș.F., SOCEA, L., BADEA, M., PĂUNESCU, V., ISTRATI, D., GULEA, A. Synthesis, characterization, molecular docking studies and in vitro screening of new metal complexes with Schiff base as antimicrobial and antiproliferative agents. In: *Appl. Organomet. Chem.* 2019, Vol.3 3, p.e5185.
18.18. MASADEH, M.M., HUSSEIN, E.I., ALZOUBI, K.H., KHABOUR, O., SHAKHATREH, M.A.K., GHARAIBEH, M. Identification, characterization and antibiotic resistance of bacterial isolates obtained from waterpipe device hoses. In: *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2015, Vol. 12, p. 5108–5115.
19. KHALEDI, A., ESMAEILI, D., JAMEHDAR, S.A., ESMAEILI, S.A., NESHANI, A., BAHADOR, A. Expression of MFS efflux pumps among multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. In: *Pharm. Lett.* 2016, Vol. 8, p. 262–267.
20. NIKOLIĆ, M., VASIĆ, S., ĐURĐEVIĆ, J., STEFANOVIĆ, O., ČOMIĆ, L. Antibacterial and anti-biofilm activity of ginger (Zingiber officinale (Roscoe)) ethanolic extract. In: *Kragujev. J. Sci.* 2014, Vol. 36, p. 129–136.
21. SABO, V.A., GAVRIC, D., PEJIC, J., KNEZEVIC, P. Acinetobacter calcoaceticus-*A. baumannii* complex: Isolation, identification and characterisation of environmental and clinical strains. In: *Biol. Serb.* 2022, Vol.44, p. 3–17.

Date despre autori:
Vasilii GRAUR, doctor în ştiinţe chimice, cercetător ştiinţific superior, USM.
E-mail: vgraur@gmail.com
ORCID: 0000-0001-8153-2153

Ianina GRAUR, doctorandă, Şcoala doctorală *Ştiinţe Biologice, Geonomice, Chimice şi Tehnologice*, USM.
E-mail: yanaulk@mail.ru
ORCID: 0000-0002-3345-7539

Aurelian GULEA, doctor habilitat în chimie, profesor universitar, academician al AŞM.
E-mail: guleaaurelian@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2010-7959

Iulia TELEUCĂ, liceană, IPÎLT ,,Orizont”, filiala Durleşti.
E-mail: yuliateleuca@mail.ru
ORCID: 0009-0001-0514-2003

Carolina LOZAN-TÎRŞU, doctor în ştiinţe medicale, conferenţiar universitar, USMF.
E-mail: carolina.lozan@usmf.md
ORCID: 0000-0003-3831-2758

Greta BĂLAN, doctor habilitat în ştiinţe medicale, conferenţiar universitar, USMF.
E-mail: greta.balan@usmf.md
ORCID: 0000-0003-3704-3584

Notă: *Lucrarea a fost efectuată în cadrul Programului de Stat, Proiectul 20.80009.5007.10*

Presented on 05.04.2023

CUPRINS **SUMMARY**

Ştiinţe biologice ***Biological sciences***

Nicolae CRISTEA
HERITABILITATEA REZISTENŢEI GRÂULUI COMUN LA FUNGUL FUSARIUM AVENACEUM (FR.) SACC. ÎN GENERAŢIA F_1 3 HERITABILITY OF COMMON WHEAT RESISTANCE TO THE FUSARIUM AVENACEUM (FR.) SACC. FUNGUS IN THE F_1 GENERATION

Renata CIOBANU
EVALUAREA VARIAŢIEI SOMACLONALE LA PLANTELE DE TRITICALE REGENERATE DIN EMBRIONI MATURI PRIN CULTURA IN VITRO ŞI IRADIERE CU RAZE GAMA 11 EVALUATION OF SOMACLONAL VARIATION IN TRITICALE PLANTS REGENERATED FROM MATURE EMBRYOS BY IN VITROCULTURE AND TREATMENT WITH GAMMA-RAYS

Татьяна САЛТАНОВИЧ, Лариса АНДРОНИК, Людмила АНТОЧ, Ана БУЛДУМАК
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАРАТУРЫ НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПРИЗНАКОВ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ПОТОМСТВ ВИРУСИНФИЦИРОВАННЫХ ГЕНОТИПОВ ТОМАТА 21 THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON VARIABILITY OF MALE GAMETOPHYT TRAITS IN THE PROGENY OF VIRUS-INFECTED TOMATO GENOTYPES

Nina CIOCÂRLAN
DIVERSITATEA TAXONOMICĂ A COLECŢIEI DE PLANTE MEDICINALE DIN GRĂDINA BOTANICĂ NAŢIONALĂ (INSTITUT) „AL. CIUBOTARU” 29 TAXONOMIC DIVERSITY OF MEDICINAL PLANT COLLECTION FROM NATIONAL BOTANICAL GARDEN (INSTITUTE) „AL. CIUBOTARU”

Maricica COLŢUN, Alina BOGDAN, Elvira GILLE
ASPECTS OF THE STUDY ON SOME AROMATIC SPECIES OF THE GENUS AGASTACHE GRONOV 37 ASPECTE PRIVIND STUDIUL UNOR SPECII AROMATICE DIN GENUL AGASTACHE GRONOV

Dumitru BULAT, Nicolae ŞAPTEFRAŢI, Denis BULAT, Gheorghe AVORNIC
EVOLUŢIA REGLEMENTĂRILOR ÎN DOMENIUL PESCUITULUI, PROTECŢIEI ŞI FOLOSIRII RESURSELOR BIOLOGICE ACVATICE NATURALE 43 EVOLUTION OF REGULATIONS IN THE FIELD OF FISHERIES, PROTECTION AND USE OF NATURAL AQUATIC BIOLOGICAL RESOURCES

Ana BÎRSAN, Veaceslav SPRINCEAN, Ion GANEA
OPORTUNITĂŢI DE UTILIZARE ÎN PRACTICĂ A TEHNOLOGIILOR INTELIGENTE ÎN EVALUAREA UNOR VARIABILE BIOLOGICE 53 OPPORTUNITIES FOR USE IN PRACTICE OF INTELLIGENT TECHNOLOGIES IN THE EVALUATION OF SOME BIOLOGICAL VARIABLES

Liudmila CORLĂTEANU, Victoria MIHĂILĂ, Lolita MELIAN, Anatolie GANEA
PROGNOZAREA LONGEVITĂŢII MOSTRELOR DIN COLECŢIA DE TOMATE (SOLANUM LYCOPERSICUM L.) PRIN UTILIZAREA TESTULUI DE ÎMBĂTRÂNIRE ACCELERATĂ A SEMINŢELOR ŞI DETERMINAREA POTENŢIALULUI LOR DE PĂSTRARE PENTRU CONSERVAREA EX SITU 65 DETERMINATION OF THE LONGEVITY OF COLLECTION SAMPLES OF TOMATO (SOLANUM LYCOPERSICUM L.) USING THE ACCELERATED SEEDAGEING TEST AND ASSESSMENT OF THEIR STORAGE POTENTIAL FOR EX SITU COSERVATION

Dumitru BULAT, Nina FULGA, Denis BULAT
DEZVOLTAREA GONADELOR LA FEMELELE BIBANULUI COMUN PERCA FLUVIATILIS DIN NISTRUL INFERIOR ÎN PERIOADA VEGETATIVĂ 71 THE DEVELOPMENT OF GONADS IN FEMALES OF THE COMMON PERCH PERCA FLUVIATILIS FROM THE LOWER DNISTERIN THE VEGETATIVE PERIOD

Maria ZAMORNEA, Dumitru ERHAN, Ștefan RUSU, Oleg CHIHAI, Olesea GLIGA, Nicolai BOTNARU
POLIPARAZITISMUL LA FAZANI (PHASIANUS COLCHICUS L.) DIN DIVERSE ECOSISTEME NATURALE ȘI ANTROPIZATE ALE REPUBLICII MOLDOVA 77 POLYPARASITISM IN PHEASANTS (PHASIANUS COLCHICUS L.) FROM VARIOUS NATURAL AND ANTHROPOIZED ECOSYSTEMS IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA

Mihail MUSTEA, Serghei FILIPENCO, Dumitru BULAT
PARTICULARITĂȚILE BIOLOGICE ALE BIBANULUI-SOARE – LEPOMIS GIBBOSUS (LINNAEUS, 1758) DIN LACUL REFRIGERENT CUCIURGAN 83 BIOLOGICAL PARTICULARS OF THE SUN PERCH – LEPOMIS GIBBOSUS (LINNAEUS, 1758) FROM THE CUCIURGAN RESERVOIR-COOLER

Михаил МУСТЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АТЕРИНЫ ЮЖНОЕВРОПЕЙСКОЙ МАЛОЙ (ATHERINA BOYERI) КУЧУРГАНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА 91 BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ATHERINA BOYERI OF THE KUCCHURGAN RESERVOIR LAKE

Iurie BACALOV, Adriana DRUŢA, Elena CHIRIŢA, Aurelia CRIVOI, Sergiu DOBROJA
IMPACTUL SPIRULINEI CRESCUTE PE APE REZIDUALE ASUPRA STĂRII FUNCŢIONALE A GLANDEI TIROIDE PE FONDALUL DIABETULUI EXPERIMENTAL 99 THE IMPACT OF SPIRULINA GROWN ON WASTEWATER ON THE FUNCTIONAL STATUS OF THE THYROID GLAND ON THE BACKGROUND EXPERIMENTAL DIABETES

Cristina GRAJDIERU, Elena BILICI
DINAMICA PATOGENILOR AI PORUMBULUI DIN GENURILE FUSARIUM, ASPERGILLUS ȘI PENICILLIUM ÎN SOL SUB ACȚIUNEA FACTORILOR CLIMATICI AI REPUBLUCII MOLDOVA 105 DYNAMICS OF MAIZE PATHOGENS FROM FUSARIUM, ASPERGILLUS AND PENICILLIUM GENERA IN SOIL UNDER WEATHER CONDITIONS OF REPUBLIC OF MOLDOVA

Ina BIVOL, Ion BURCOVSCHII, Maria DUCA, Mihail MACHIDON
UNELE ASPECTE ALE STUDIULUI POTENȚIALULUI GENETIC LA HIBRIZI DE FLOAREA SOARELUI ÎN CONDIȚIILE REPUBLICII MOLDOVA 113 SOME ASPECTS OF THE GENETIC POTENTIAL STUDY OF SUNFLOWER HYBRIDS UNDER REPUBLIC OF MOLDOVA CONDITIONS

Doina CUȚITARU
VARIABILITATEA CARACTERELOR CANTITATIVE ALE PLANTELOR DE INOBȚINUTE PRIN MUTAGENEZA INDUSĂ 126 THE VARIABILITY OF THE QUANTITATIVE TRAITS OF FLAX PLANTS OBTAINED BY INDUCED MUTAGENESIS

Lidia TUMANOVA, Cristina GRAJDIERU, Valentin MITIN, Irina MITINA
EVALUAREA REZISTENȚEI A PLANTELOR DE PORUMB LA SPECIILE DE FUSARIUM PRIN METODA PCR — 133 — EVALUATION OF MAIZE PLANT RESISTANCE TO FUSARIUM SPECIES BY PCR

Sergiu DOBROJAN, Gheorghe JIGĂU, Galina DOBROJAN, Cristin MELNIC, Tatiana CIOLACU, Eugeniu CIOBANU
PERSPECTIVA UTILIZĂRII ALGELOR ÎN TRATAREA SEMINŢELOR DE PLANTE — 139 — PERSPECTIVE OF THE USE OF ALGAE IN THE TREATMENT OF PLANT SEEDS

Polina CASSIR, Tatiana IZVERSCAIA, Veaceslav GHENDOV
ECLIPTA PROSTRATA (L.) L. (ASTERACEAE) – NEW SPECIES FOR THE FLORA OF REPUBLIC OF MOLDOVA — 146 — ECLIPTA PROSTRATA (L.) L. (ASTERACEAE) – SPECIE NOUĂ PENTRU FLORA REPUBLICII MOLDOVA

Vladimir ŞEPTIȚCHI, Ana LEORDA, Viorica RAISCHI, Olesea GROSUL-RAILEANU
ABORDĂRI MODERNE PRIVIND DINAMISMUL MORFOFUNCŢIONAL AL PROCESULUI DE SPERMATOGENEZĂ — 151 — MODERN APPROACHES TO MORPHOFUNCTIONAL DYNAMICS OF SPERMATOGENESIS PROCESS

Aurelia CRIVOI, Gheorghe JIGĂU, Iurie BACALOV, Elena CHIRIȚA, Adriana DRUȚA
INFLUENȚA TOXICOLOGICĂ A PESTICIDULUI DECIS ASUPRA SĂNĂTĂȚII SOLULUI ȘI A SĂNĂTĂȚII UMANE — 159 — TOXICOLOGICAL INFLUENCE OF DECIS PESTICIDE ON SOIL AND HUMAN HEALTH

Gheorghe JIGĂU, Sergiu DOBROJAN, Galina DOBROJAN, Boris TURCHIN, Elena CHIRIŢĂ, Andriana DRUŢĂ, Valentin GABERI, Nistor BOLOCAN
SĂNĂTATEA SOLULUI ŞI CRITERII DE EVALUARE PRIN PRISMA CONCEPTULUI BIOFIZIC AL PEDOGENEZEI — 164 — SOIL HEALTH AND EVALUATION CRITERIA THROUGH THE PRISM OF THE BIOPHYSICAL CONCEPT OF PEDOGENESIS

Ştiinţe chimice — ***Chemical sciences***

Stefan ROBU, Tamara POTLOG, Ion LUNGU, Petru BULMAGA, Pavel TIULEANU, Viorel PRISACARI, Veronica SAVA
POLIMERI ANALOGI DIN COPOLIMERI DE N-VINILPIROLIDONĂ GREFAT CU FTALOCIANINĂ DE ZINC — 173 — SYNTHESIS OF WATER-SOLUBLE ANALOGS-POLYMERS OF POLY-N-VINYLPYROLIDONE GRAFTED WITH ZINC PHTHALOCYANINE

Nina ŢÎMBALIUC, Oleg PETUHOV, Tudor LUPAŞCU, Nina BOLDURESCU
STUDIUL PROCESELOR DE ADSORBȚIE A VITAMINEI B6 PE ADSORBANȚI CARBONICI AUTOHTONI — 178 — STUDY OF THE ADSORPTION PROCESSES OF VITAMIN B6 ON AUTOCHTHONOUS CARBON ADSORBENTS

Tatiana ISAC-GUŢUL, Elena TUTOVAN, Denis NICA
DETERMINAREA CONSTANTELOR DE VITEZĂ K_{OH+S} CU UNELE ANTIBIOTICE PRIN METODA ACCEPTORILOR CONCURENȚI 186 THE RATE CONSTANTS K_{OH+S} WITH SOME ANTIBIOTICS DETERMINATION BY THE COMPETETIVE INHIBITORS METHOD

Roman RUSNAC, Andrei CIURSIN, Sergiu ȘOVA, Angela SÎRBU, Aurelian GULEA
SINTEZA ȘI ANALIZA FIZICO-CHIMICĂ A COMPUȘILOR COORDINATIVI AI Cu(II) ÎN BAZA 4-CICLOHEXIL-TIOSEMICARBAZONEI 3-ETOXISALICILICE 194 SYNTHESIS AND PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS OF THE COORDINATION COMPOUNDS OF Cu(II) BASED ON 3-ETHOXYSALICYLALDEHYDE 4-CYCLOHEXYL-THIOSEMICARBAZONE

Vasilii GRAUR, Ianina GRAUR, Aurelian GULEA, Iulia TELEUCĂ, Carolina LOZAN-TÎRȘU, Greta BĂLAN
COMPUȘI COORDINATIVI AI CUPRULUI(II) CU N4-(BICICLO[2.2.1] HEPTAN-2-IL)TIOSEMICARBAZONA 2-ACETILPIRIDINEI CA POTENȚIALI AGENȚI ANTIBACTERIENI 206 COPPER(II) COORDINATION COMPOUNDS WITH 2-ACETYLPYRIDINE N4-(BICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-YL) THIOSEMICARBAZONE AS POTENTIAL ANTIBACTERIAL AGENTS

Adresa redacţiei:
str. A.Mateevici, 60
MD 2009, Chişinău, Republica Moldova
Tel. (37322) 24 22 53;
e-mail: studia.universitatis@usm.md
web: https://studiamsu.md/

Formatul 60x84 1/8.
Coli de tipar 26,3. Coli editoriale 21,0.
Comanda 160. Tirajul 100 ex.
Centrul Editorial-Poligrafic al USM
str. Al.Mateevici, 60. Chişinău, MD 2009

CZU:

DEOSEBIRILE ÎNTRE PROVENIENŢELE ŞI ARBORII DE STEJAR PEDUNCULAT (QUERCUS ROBUR) DUPĂ DOZA LETALĂ (DL50) DE SCURGERE A ELECTROLIŢILOR

Petru CUZA
Universitatea de Stat din Moldova

Studiul realizat în culturile de stejar pedunculat de proveniență diferită din Rezervaţia Ştiinţifică „Plaiul Fagului” a evaluat nivelul de scurgere a electroliților din frunze după aplicarea unui șoc termic letal (DL50). Rezultatele indică o variație fiziologică semnificativă în răspunsul arborilor la stresul termic. Analiza variației a evidențiat diferențe semnificative între provenienţele de stejar pedunculat, indicând o rezistență mai sporită la șocul termic a descendenților arborilor de origini mai îndepărtate (Edineț și Baimaclia) față de cele din zona de centru (Plaiul Fagului și Hâncești), unde este instalat arboretul comun. Se poate presupune că există o variație semnificativă în răspunsul fiziologic al arborilor de proveniență diferită la stresul termic, iar descendenții proveniți din zonele mai îndepărtate au prezentat o reacţie adaptivă mai accentuată decât cei din zonele mai apropiate de arboretul comun, care au condiții de mediu similare cu zona de cultivare. Rezultatele preliminare ale studiului sugerează că selecția celor mai buni arbori și provenienţe pentru împăduriri poate fi realizată în funcție de rezistența stejarilor la stresul termic. În plus, adaptarea arborilor la condițiile de mediu specifice poate fi îmbunătățită prin selecția acestor provenienţe, în special pentru împăduririle viitoare în contextul schimbărilor climatice.

Cuvinte-cheie*: Quercus robur, frunze, şoc termic, doză letală, scurgerea electroliţilor, rezistenţă.*

DIFFERENCES BETWEEN PROVENANCES AND PEDUNCULATE OAK (*QUERCUS ROBUR*) TREES AFTER THE LETHAL DOSE (LD50) OF ELECTROLYTE LEAKAGE

The study conducted on pedunculate oak cultures of different provenances from the „Plaiul Fagului” Scientific Reserve evaluated the level of electrolyte leakage from leaves after the application of a lethal heat shock (DL50). The results indicate a significant physiological variation in the response of trees to heat stress. Analysis of variance revealed significant differences between pedunculate oak provenances, indicating a greater resistance to heat shock in the descendants of trees from more distant origins (Edineț and Baimaclia) compared to those from the central area (Plaiul Fagului and Hâncești), where the common arboretum is installed. It can be assumed that there is a significant variation in the physiological response of trees from different provenances to thermal stress, and descendants from more distant areas have exhibited a more pronounced adaptive response than those from areas closer to the common arboretum, which have similar environmental conditions to the cultivation area. The preliminary results of the study suggest that the selection of the best trees and provenances for afforestation can be made based on the resistance of oak trees to heat stress. In addition, the adaptation of trees to specific environmental conditions can be improved through the selection of these provenances, especially for future afforestation in the context of climate change.

Keywords*:* Quercus robur, leaves, thermal shock, lethal dose, electrolyte leakage, resistance.

Introducere

Schimbările climatice determină creșterea temperaturii medii la suprafața Pământului, ceea ce poate fi un factor stresant pentru toate fazele de creștere și dezvoltare a plantelor, mai ales în zonele tropicale și subtropicale [1, 2]. Dintre stresurile abiotice, stresul termic este unul dintre factorii majori care perturbă performanța de creștere și vitalitatea plantelor. Fiecare specie de plante are propriile sale temperaturi maxime, minime și optime, cunoscute sub numele de temperaturi cardinale. Temperaturile sub sau peste aceste praguri pot provoca stres plantelor [3].

Temperaturile ridicate care depășesc optimul ecologic afectează trăsăturile morfologice, fiziologice, biochimice și moleculare ale plantei, ceea ce duce în cele din urmă la o creștere și productivitate slabe [4].

Influenţa stresului termic este determinată specific de valoarea temperaturii (*factorul intensiv*) şi durata de expoziţie (*factorul extensiv*), precum și de specia de plante [5, 6].

Deși toate etapele dezvoltării plantelor pot fi afectate negativ de stresul termic, etapele reproductive sunt relativ mai sensibile decât cele vegetative [7, 8]. În fazele vegetative, stresul termic afectează negativ fotosinteza și dezvoltarea frunzelor, ducând la o producție mai scăzută de biomasă; în timp ce stresul în timpul stadiilor reproductive de dezvoltare poate duce la un număr mai mic de semințe și la o scădere a dimensiunii acestora, ceea ce duce la recolte scăzute [8, 9]. Diferite culturi și genotipuri ale lor variază în ceea ce privește sensibilitatea la căldură, răspunsul fiind în general specific de etapă și trăsătură, ceea ce poate dezvălui mecanisme legate de toleranța la căldură [8, 9].

Sensibilitatea plantelor la stresul termic variază în funcție de specie și genotip, pe parcursul desfășurării fazelor fenologice. Stresul termic afectează în primul rând stabilitatea membranelor plasmatice, mai multe proteine și eficiența reacțiilor enzimatice celulare, creând perturbări metabolice [10]. Diverse leziuni ale țesuturilor plantelor au fost observate sub acțiunea stresului termic, cum ar fi înroșirea frunzelor și ramurilor, cloroza și necroza frunzelor, ramurilor și tulpinilor, senescența și căderea frunzelor, inhibarea creșterii rădăcinilor și a tulpinilor, căderea florilor și a fructelor, care reduc în mod consecvent productivitatea plantelor [11]. În condiții de stres termic, arborii pot diminua sau chiar înceta creșterea, ceea ce duce la reducerea acumulării de masă lemnoasă. De asemenea, stresul termic înrăutățește structura lemnului, reducând calitatea și durabilitatea acestuia și, implicit, afectând valoarea economică a arboretelor [11]. Arborii stresați termic sunt mai vulnerabili la infestarea cu dăunători și boli, ceea ce poate agrava și mai mult impactul negativ asupra sănătății lor.

În acest studiu, s-a estimat influența dozei letale (DL50) asupra nivelului de scurgere a electroliților din țesuturile frunzelor la arborii și proveniențele de stejar pedunculat care cresc într-un arboret comun din Rezervația „Plaiul Fagului”. S-a arătat că există diferențe semnificative între nivelul de scurgere a electroliților la arbori, care depind de răspunsurile fiziologice ale acestora după aplicarea șocului termic. De asemenea, s-au observat deosebiri statistice semnificative între grupurile de arbori din proveniențele studiate, ceea ce sugerează existența unor caracteristici specifice de adaptare ale descendenților proveniți din zone cu condiții de mediu particulare.

Material şi metode

În culturile comparative amplasate în Rezervația Științifică „Plaiul Fagului”, ce includ diferite proveniențe de stejar pedunculat (*Quercus robur* L.), au fost selectați câte 10 arbori dominanți de origine ecologică distinctă. Din partea de sud și de jos a coroanelor fiecărui arbore au fost colectate ramuri cu frunze. Fiecare arbore și proveniență au fost reprezentați prin pachete separate de hârtie conținând frunzele recoltate, care au fost păstrate în condiții optime într-o cameră frigorifică pe durata transportului către laborator.

În laborator, frunzele de la fiecare proveniență și arbore au fost spălate cu apă distilată pentru a îndepărta electroliții exogeni de pe suprafața lor și apoi au fost lăsate să se zvânteze. Din partea apicală a frunzelor fiecărui arbore, s-au decupat cu ajutorul unei ștanțe porțiuni circulare de limb foliat cu diametrul de 9 mm. Pentru fiecare arbore, s-au pregătit câte trei eprubete, în fiecare dintre acestea turnându-se câte 3 ml de apă deionizată. Apoi, în fiecare eprubetă, au fost introduse câte șase porțiuni circulare de limb foliat. Eprubetele în care au fost imersate probele de frunze au fost trecute într-un ultratermostat cu apă (Universal ultrathermostat „UTU-4”, Ungaria) la temperatura de 59°C, timp de 10 minute. Doza respectivă a șocului termic este comparabilă cu cea care determină 50% de scurgere a electroliților din țesuturile frunzelor în raport cu proba martor [12]. Această doză este cunoscută și sub denumirea de doza letală, DL50 [13]. În studiile noastre au fost utilizate două probe martor. Prima probă martor a fost compusă din trei eprubete, fiecare conținând 6 porțiuni circulare de limb foliat, care au fost agitate timp de 2 ore la temperatura camerei, adică 25°C. Probele din cea de-a doua probă martor, cu același număr de eprubete și discuri foliate, au fost expuse la o temperatură de 100°C în decurs de 10 minute, ceea ce a dus la deteriorarea completă a țesuturilor de frunze.

După două ore de scurgere a electroliților pentru toate variantele (martor și experimentale), conductivitatea mediului apos a fost determinată cu ajutorul unui conductometru de tip N 5721 (Polonia). Impactul șocului termic asupra țesuturilor frunzelor a fost evaluat la arborii și proveniențele investigate prin compararea conductivității mediului apos din variantele experimentale cu cele ale probelor martor, utilizând doza letală DL50. A fost calculată scurgerea relativă (Sc. rel.) a electroliților din ecuația:

Sc. rel. = $(\mu_{DL50} - \mu_{25}) / (\mu_{100} - \mu_{25})$

în care: μ_{DL50} – conductibilitatea variantei experimentale (expusă şocului termic cu doza letală, DL50), în mS/m; μ_{25} – conductibilitatea variantei martor (eprubete cu segmentele frunzelor incubate la temperatura camerei), în mS/m; μ_{100} – conductibilitatea totală (măsurată după incubarea finală la 100°C), în mS/m.

Rezultate şi discuţii

Datele prezentate în figura 1 includ valorile minime, maxime, ale primei şi a treia cuartilă, precum şi valoarea medianei şi a mediei în distribuţia datelor referitoare la scurgerea relativă a electroliţilor. Analizând datele privind scurgerea relativă a electroliților din frunzele stejarilor în diferite proveniențe, observăm o variație semnificativă a valorilor. În cadrul provenienței Edineț, valoarea minimă înregistrată este de 0,27 mS/m (arborele nr. 5), în timp ce valoarea maximă este de 0,58 mS/m (arborele nr. 4). În cazul dat, amplitudinea de variație este de 0,31 mS/m. Aceasta indică o diferență semnificativă între valorile extreme ale scurgerii electroliților în frunzele stejarilor din proveniența Edineț. Deoarece ţesuturile frunzelor arborelui nr. 5 reţin suficient de bine electroliţii, se poate deduce că acesta are o termotoleranță ridicată, ceea ce îl diferențiază de arborii din celelalte proveniențe analizate în ceea ce privește această caracteristică.

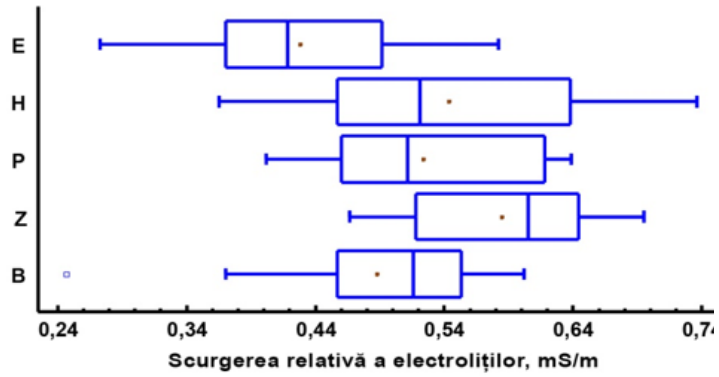
În interiorul provenienței Hârgauca, s-a înregistrat valoarea maximă a scurgerii relative a electroliților din frunzele arborelui nr. 6, și anume 0,74 mS/m. Această valoare sugerează că arborele respectiv prezintă o rezistență foarte scăzută la acțiunea dozei termice. Stejarii proveniți din Hârgauca prezintă o amplitudine de variație sporită a scurgerii electroliților din frunze, de 0,38 mS/m, cu o valoare maximă în comparație cu celelalte proveniențe analizate. În schimb, proveniența Zloți se caracterizează printr-o amplitudine de variație scăzută a acestui parametru, de doar 0,22 mS/m, având o valoare minimă (figura 1).

Se observă o variație semnificativă a nivelului de scurgere a electroliților din frunzele arborilor proveniţi din diferite surse, care poate fi atribuită atât diferențelor genetice individuale dintre arbori, cât și altor factori de mediu. Deoarece nivelul de scurgere a electroliților este asociat cu gradul de vătămare a structurilor celulare ale ţesuturilor frunzelor arborilor, se poate deduce că aceștia prezintă o rezistență diferită la acțiunea temperaturilor ridicate.

Prin aplicarea procedurii statistice a „casetelor cu mustăți” s-a putut determina că în interiorul provenienței Edineţ, Hârjauca, Plaiul Fagului, Zloţi şi Baimaclia, la 75% dintre arbori scurgerea relativă a electroliţilor din frunze a fost mai mare decât anumite valori. Astfel, valorile primei cuartile (Q_1) au fost de 0,36 mS/m pentru proveniența Edineţ, 0,45 mS/m pentru Hârjauca, 0,46 mS/m pentru Plaiul Fagului, 0,50 mS/m pentru Zloţi şi 0,41 mS/m pentru Baimaclia (figura 1).

Din cele expuse mai sus reiese că analiza diagramei „casetelor cu mustăți” poate oferi informații importante despre distribuția și variația datelor în cadrul fiecărei proveniențe, permițând astfel evaluarea și compararea caracteristicilor specifice ale arborilor proveniți din diferite zone ecologice ale Republicii Moldova.

Figura 1. Analiza variabilității nivelului de scurgere a electroliților din frunzele arborilor de stejar pedunculat în diferite proveniențe după aplicarea unui șoc termic la temperatura de 59°C în decurs de 10 minute prin intermediul procedurii „casetelor cu mustăți”. În interiorul „casetelor” valoarea medianei pentru fiecare proveniență este reprezentată de o linie continuă de culoare albastră, iar valoarea medie a acestora este redată prin semnul „+”. Simbolurile E, H, P, Z, B reprezintă denumirea prescurtată a proveniențelor respective: Edineţ, Hârjauca, Plaiul Fagului, Zloţi, Baimaclia.



În figura 1 sunt prezentate valorile medii ale scurgerii relative a electroliţilor pentru grupuri de arbori de proveniență diferită. Aceste valori au fost obținute prin aplicarea unui șoc termic cu o doză comparabilă cu cea care a crescut rata de scurgere a electroliților cu 50% în comparație cu varianta martor, sau cu alte cuvinte, doza care determină 50% de letalitate (LD50). Această măsură este utilizată pentru a evalua gradul de rezistență al plantelor la factorii de stres, inclusiv stresul termic, astfel încât să se poată determina nivelul de toleranță al plantelor la acești factori. În cazul nostru, doza letală (LD50) a determinat niveluri diferite de scurgere a electroliților din structurile celulare ale frunzelor. Pentru provenienţele studiate, aceste valori sunt: Edineț – 0,43 mS/m, Hârjauca – 0,54 mS/m, Plaiul Fagului – 0,52 mS/m, Zloți – 0,58 mS/m, Baimaclia – 0,49 mS/m. Comparând aceste niveluri de scurgere a electroliților cu valorile corespunzătoare ale primei cuartile, se observă o variație în similaritatea datelor. Valorile obținute arată că în funcție de nivelul de scurgere a electroliților, provenienţele analizate se pot grupa astfel: Edineț și Baimaclia cu o rezistență puțin mai ridicată, Hârjauca și Plaiul Fagului cu o rezistență medie, iar Zloți cu o rezistență uşor mai scăzută la acțiunea la șocul termic.

După cum se observă, provenienţele arborilor din Edineț, cel mai nordic punct, și Baimaclia, cel mai sudic punct, prezintă o rezistență uşor mai ridicată la stresul termic în comparație cu alte provenienţe. În schimb, proveniența locală și cea din Hârjauca, ale căror arbori de origine cresc în apropierea arboretului comun, au prezentat o rezistență puțin mai scăzută decât cele menționate anterior. Există mai multe explicații posibile pentru această diferență, însă nu putem face o presupunere precisă. Este adevărat că plantele pot dezvolta mecanisme de protecție împotriva stresului, însă acestea pot fi influențate de o varietate de factori, inclusiv genetică, condiții de mediu, istoric evolutiv și multe altele. Prin urmare, rezultatele obținute sugerează că reacția fiziologică la stresul termic este mai accentuată la provenienţele din zone mai îndepărtate în comparație cu cele din zona de centru, unde condițiile de mediu sunt mai similare cu cele ale locului de cultivare. Astfel, condițiile de mediu improprii pentru arborii proveniți din zone „străine” determină apariția unor răspunsuri genetice necesare pentru adaptarea treptată a descendenților de origine alocală la noile condiții de mediu, manifestată prin reducerea cantității de electroliți eliberați din frunze la stejarii de provenienţă alocală, în comparație cu cei locali. Deoarece acest studiu este considerat preliminar, cercetările vor fi extinse în acest an pentru a obține date mai concludente și a trage concluzii științifice autentice.

Analiza varianței a fost utilizată pentru a evalua semnificația diferențelor în scurgerea relativă a electroliților între grupurile de arbori ale provenienţelor investigate. Aceasta descompune varianța scurgerii relative a electroliților în două componente: una între provenienţe și cealaltă între arborii din interiorul provenienţelor. Testul Fisher (F) calculat are valoarea de 3,78, reprezentând raportul dintre varianța între provenienţe și varianța între arborii din interiorul provenienţelor. Valoarea P a testului F este mai mică decât 0,05, indicând o diferență semnificativă statistic între valorile medii ale celor cinci provenienţe, la un nivel de încredere de 95% (conform tabelului 1).

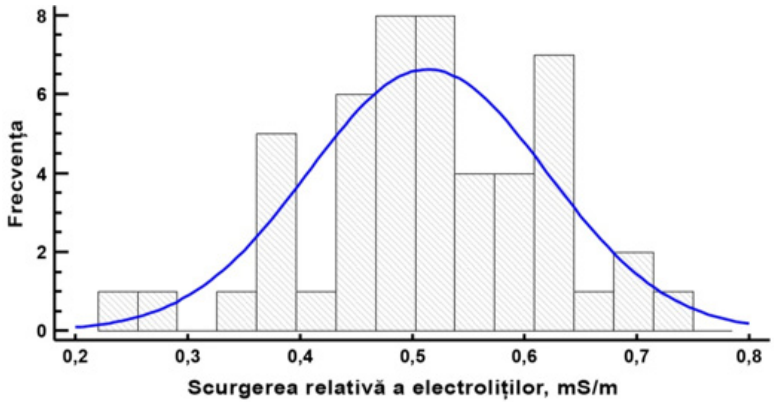
Tabelul 1. Analiza varianţei privind deosebirile dintre provenienţele de stejar pedunculat după scurgerea relativă a electroliţilor din frunze.

Sursa de variaţie	Suma pătratelor abaterilor	Grade de libertate	Pătratul mediu	Raportul F_t	Valoarea P
Între provenienţe	0,140	4	0,035	3,78	0,0098
În interiorul provenienţelor	0,415	45	0,009		
Total	0,555	49			

În figura 2 sunt prezentate datele privind distribuția a 50 de arbori de stejar pedunculat (din cele 5 provenienţe) după scurgerea relativă a electroliților din țesuturile frunzelor, expuse la temperatura letală de DL50. Histograma acoperă un interval de valori cuprins între 0,25 și 0,74 mS/m, împărțit în 15 subintervale de aceeași dimensiune, pentru a facilita vizualizarea frecvențelor. Se observă că frecvența cea mai mare o au arborii cărora le este specifică o scurgere de electroliți apropiată de 0,5 mS/m. În partea dreaptă și stângă a axei X, odată cu mărirea sau micșorarea intervalelor de valori, frecvența arborilor cu această

trăsătură analizată scade. Valorile extreme din setul de date au o frecvență scăzută, existând două observații în intervalul de valori de 0,2-0,3 mS/m și doar o singură observație în intervalul de valori de 0,7-0,8 mS/m. Repartiția datelor între plus și minus variante a determinat un număr de observații de 23:27, ceea ce indică că numărul de stejari cu un nivel scăzut şi ridicat de scurgere relativă a electroliților din țesuturile frunzelor se deosebește întrucâtva. În intervalul de valori 0,62-0,66 mS/m este evident un număr de 7 observații, indicând la acești arbori un nivel înalt de scurgere relativă a electroliților și creând o neuniformitate în distribuția datelor pe histograma analizată.

Figura 2. Histograma distribuţiei frecvenţei la arborii de stejar pedunculat după aplicarea şocului termic cu doza letală DL50.



Prin compararea distribuției experimentale, ilustrată prin intermediul histogramei din figura 2, cu frecvențele teoretice (reprezentate prin curba albastră din figura 2), referitoare la scurgerea relativă a electroliților din țesuturile frunzelor, în conformitate cu testul Kolmogorov-Smirnov, putem observa o apropiere semnificativă a frecvenţelor din punct de vedere statistic. Mai exact, valoarea P obținută în acest caz este mare, sugerând faptul că nu există suficiente dovezi care să ne determine să respingem ipoteza conform căreia distribuția este normală. În aceste condiții, nu putem infirma ipoteza că arborii studiați se încadrează într-o distribuție normală, cu un nivel de încredere de 95%, deoarece valoarea P = 0,759 este mai mare decât pragul de semnificație de 0,05.

Studiul nostru privind variabilitatea fiziologică a stejarului pedunculat în interiorul a cinci proveniențe diferite a arătat că acesta prezintă o variație semnificativă în ceea ce privește concentrația de electroliți eliberați din frunze după expunerea la o doză letală DL50. Această variație sugerează o posibilitate de selecție a exemplarelor cu niveluri scăzute de scurgere a electroliților, care pot fi utilizați pentru a spori capacitatea de adaptare a pădurilor la schimbările climatice specifice fiecărei zone geografice. În urma selecției, materialele forestiere de reproducere pot fi obținute de la arborii identificați ca fiind rezistenți la temperaturi ridicate, ceea ce poate contribui la îmbunătățirea capacităţii de adaptare a pădurilor la condițiile climatice extreme dintr-o anumită zonă. Rezultatele noastre sugerează că această abordare ar putea fi benefică pentru împăduririle viitoare în diferite regiuni geografice, oferind astfel posibilitatea de a proteja și conserva ecosistemele forestiere în fața schimbărilor climatice în curs.

Concluzii

1. Evaluarea nivelului de scurgere a electroliților din frunzele arborilor de stejar pedunculat după aplicarea șocului termic cu doza letală LD50 a arătat o variație fiziologică semnificativă după acest parametru în diferite proveniențe. În contextul schimbării climatice, selecția arborilor cu o rezistență ridicată poate fi sugestivă pentru împăduririle viitoare.
2. Analiza varianței a evidențiat diferențe semnificative între proveniențele de stejar pedunculat în ceea ce privește nivelul de scurgere a electroliților din frunze după aplicarea șocului termic DL50. Aceste diferențe sugerează că descendenții proveniți din zone mai îndepărtate au un răspuns genetic diferit și inducerea unui proces de adaptare mai pronunțat la noile condiții de mediu, comparativ cu cei din zone similare.
3. Se observă o ușoară diferență de rezistență la stresul termic între proveniențele din zonele mai îndepărtate (Edineț și Baimaclia) și cele din zona de centru (Plaiul Fagului și Hârjauca), măsurată prin

aplicarea șocului termic DL50. Această diferență poate fi influențată de mecanismele de protecție ale arboretului, precum și de factori genetici, condiții de mediu și istoricul evolutiv. Se presupune că descendenții provenienţelor din zonele „străine” dezvoltă mecanisme de protecţie mai accentuate împotriva stresului termic decât cei din zonele mai apropiate de arboretul comun, care beneficiază de condiții de mediu similare cu zona de cultivare.

4. Rezultatele preliminare sugerează importanța continuării cercetărilor în acest domeniu, în vederea unei mai bune înțelegeri a mecanismelor implicate în răspunsul diferitelor provenienţe ale stejarului pedunculat la acţiunea stresului termic și pentru a selecta cele mai potrivite provenienţe pentru împăduriri în contextul schimbărilor climatice.

Referinţe:

1. KAUSHAL, N., AWASTHI, R., GUPTA, K., GAUR, P., SIDDIQUE, K. H. M., NAYYAR, H., AHMAD, P. Heat stress induced variations in photosynthetic pigments, protein content, and antioxidants in different varieties of mustard (*Brassica juncea* L.). In: *Journal of Plant Growth Regulation*, 2016, vol. 35(4), p. 1060-1073.
2. LI, Y., WANG, Y., WEI, J., QIN, X., HOU, L. Heat stress in maize production: Agronomic strategies and physiological mechanisms for tolerance. In: *Front. Plant Sci*., 2018, vol. 9, p. 72.
3. WAHID, A, GELANI, S, ASHRAF, M, FOOLAD, MR. Heat tolerance in plants: An overview. In: *Environ Exp Bot*., 2007, vol. 61(3), p. 199-223.
4. HASANUZZAMAN, M., NAHAR, K., ALAM, M. M., ROYCHOWDHURY, R., FUJITA, M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. In: *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, vol. 14(5), p. 9643-9684.
5. LEVITT, J. Responses of plant to environmental stresses. Acad. Press: New York, 1980, vol. I, 568 p.
6. DASCALIUC, AL., CUZA, P. Specificul adaptării frunzelor stejarului pedunculat (*Quercus robur* L.) la şocul termic în funcţie de valoarea temperaturii şi durata de acţiune. In: *Mediul ambiant*, 2008, vol. 3(39), p. 34-37.
7. PRASAD, P. V. V., PISIPATI, S. R., MUTAVA, R. N., TUINSTRA, M. R., REDDY, V. R. Impact of nighttime temperature on physiology and growth of spring wheat. In: *Crop Science*, 2008, vol. 48(6), p. 2372-2380.
8. PRASAD, P. V. V., DJANAGUIRAMAN, M., PERUMAL, R., CIAMPITTI, I. A. Impact of high temperature stress on floret fertility and individual grain weight of grain sorghum: Sensitive periods, thresholds and genetic variability. In: *Front. Plant Sci.*, 2017, vol. 8, p. 1230.
9. BITA, C. E., GERATS, T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. In: *Front. Plant Sci*., 2013, vol. 4, p. 273.
10. XU, S, LI J, ZHANG, X, WEI, H, CUI, L, ZHANG, Z, LI C. Proteomic analysis reveals proteins involved in seed imbibition under salt stress in rice. In: *Plant Soil*, 2006, vol. 283, p. 179-187.
11. VOLLENWEIDER, P., GÜNTHARDT-GOERG, M. S. Diagnosis of abiotic and biotic stress factors using the visible symptoms in foliage. In: *Environmental Pollution*, 2005, vol. 137(3), p. 455-465.
12. CUZA, P. Aprecierea termotoleranţei frunzelor speciilor spontane de stejar din nordul şi centrul Republicii Moldova. In: *Revista botanică*, 2021, vol. 18(2), p. 5-12.
13. ROSLIM, I.D., FIATIN, H., FIATIN, I. Lethal dose 50 (LD50) of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) cultivar kampar. In: *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 2015, vol. 47(4), p. 510-516.

Date despre autor:
Petru CUZA, Universitatea de Stat din Moldova.
E-mail:
ORCID:

Prezentat la 23.04.2023