



UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI
Școala Doctorală a Facultății de
INGINERIE CHIMICĂ ȘI PROTECȚIA
MEDIULUI



**CONTRIBUȚII PRIVIND INFLUENȚA UNOR PRODUSE
NATURALE ASUPRA PRINCIPALELOR PROCESE
FIZIOLOGICE DIN SISTEMELE VEGETALE**

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

Conducător științific:
Prof. univ. emerit dr. Ing. Valentin I. Popa
Membru corespondent al ASTR

Doctorand:
ecolog Corneliu Tanase

Iași, 2013



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI" DIN
IASI



UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI
Școala Doctorală a Facultății de
INGINERIE CHIMICĂ ȘI PROTECȚIA
MEDIULUI



**CONTRIBUȚII PRIVIND INFLUENȚA UNOR PRODUSE
NATURALE ASUPRA PRINCIPALELOR PROCESE
FIZIOLOGICE DIN SISTEMELE VEGETALE**

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

Conducător științific:

Prof. univ. emerit dr. Ing. Valentin I. Popa

Membru corespondent al ASTR

Doctorand:

ecolog Corneliu Tanase

Iași, 2013

UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI
R E C T O R A T U L

Către _____

Vă facem cunoscut că, în ziua de 17 octombrie 2013 la ora 10⁰⁰, în Sala de Consiliu a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

**"CONTRIBUȚII PRIVIND INFLUENȚA UNOR PRODUSE NATURALE
ASUPRA PRINCIPALELOR PROCESE FIZIOLOGICE DIN SISTEMELE
VEGETALE"**

elaborată de domnul **CORNELIU TANASE** în vederea conferirii titlului științific de doctor în domeniul INGINERIE CHIMICĂ.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

președinte: Prof. univ. dr. ing. Teodor Măluțan

conducător științific: Prof. univ. dr. ing. Valentin I. Popa

membru: Prof. univ. dr. Maria Magdalena Zamfirache

membru: Conf. univ. dr. Smaranda Vântu

membru: Conf. univ. dr. ing. Irina Volf

Vă trimitem rezumatul tezei de doctorat cu rugămintea de a ne comunica, în scris, aprecierile dumneavoastră.

Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.



Secretar universitate,
Ing. Cristina Nagiț



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OIPOSDRU



UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI"
DIN IAȘI

Teza de doctorat a fost realizată cu sprijinul financiar al proiectului **“STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANȚE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)”** POSDRU/107/1.5/S/79407.

Proiectul **“STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANȚE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)”** POSDRU/107/1.5/S/79407, este un proiect strategic care are ca obiectiv general *„Aplicarea de strategii manageriale, de cercetare și didactice destinate îmbunătățirii formării inițiale a viitorilor cercetători prin programul de studii universitare de doctorat, conform procesului de la Bologna, prin dezvoltarea unor competențe specifice cercetării științifice, dar și a unor competențe generale: managementul cercetării, competențe lingvistice și de comunicare, abilități de documentare, redactare, publicare și comunicare științifică, utilizarea mijloacelor moderne oferite de TIC, spiritul antreprenorial de transfer al rezultatelor cercetării. Dezvoltarea capitalului uman pentru cercetare și inovare va contribui pe termen lung la formarea doctoranzilor la nivel european cu preocupări interdisciplinare. Sprijinul financiar oferit doctoranzilor va asigura participarea la programe doctorale în țara și la stagii de cercetare în centre de cercetare sau universități din UE. Misiunea proiectului este formarea unui tânăr cercetător adaptat economiei de piață și noilor tehnologii, având cunoștințe teoretice, practice, economice și manageriale la nivel internațional, ce va promova principiile dezvoltării durabile și de protecție a mediului înconjurător.”*

Proiect finanțat în perioada 2010 - 2013

Finanțare proiect: **16.810.100,00 RON**

Beneficiar: Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi” din Iași

Partener: Universitatea „Babeș Bolyai” din Cluj-Napoca

Director proiect: Prof. univ. dr. ing. Mihai BUDESCU

Responsabil proiect partener: Prof. univ. dr. ing. Alexandru OZUNU

Mulțumiri

Doresc, pe această cale, să aduc alesele mele mulțumiri, d-lui prof. dr. Valentin I Popa, ce este un model de competență profesională și ținută morală. Îi mulțumesc pentru coordonarea acestei lucrări de doctorat și ajutorul oferit pe întreaga perioadă a studiilor, cât și pentru sfaturile primite atunci când au fost necesare, pentru îndrumările sale, pentru materialul pus la dispoziție cu generozitate, pentru sprijinul moral și încrederea necondiționată

De asemenea, doresc să aduc sincere mulțumiri d-nei conf. dr. Irina Volf pentru încrederea acordată și întreg sprijinul oferit pe parcursul realizării tezei de doctorat.

Cu deosebit respect aș dori să mulțumesc d-lui Acad. prof. dr. Constantin Toma, d-nei prof. dr. Maria Zamfirache, d-lui prof. dr. Cătălin Tănase, d-rei conf. dr. Smaranda Vântu, d-nei dr. Irina Boz, d-nei lect. dr. Iuliana Csilla Băra, d-lui lect. dr. Robert Grădinaru, d-lui. lect. dr. Lucian Gorgan, căroră le sunt recunoscător pentru competența și rigurozitatea științifică cu care m-au îndrumat în obținerea, prelucrarea și interpretarea datelor.

Doresc să adresez mulțumiri cuvenite tuturor celor care, direct sau indirect, prin sugestiile și sprijinul necondiționat, au contribuit la conturarea acestui demers științific și m-au susținut în finalizarea lui.

Mulțumiri colegilor de laborator și prietenilor care mi-au fost alături și m-au susținut pe parcursul acestor ani și au reușit să îmi facă drumul mai ușor presărate cu nenumărate amintiri frumoase.

Dedic această teză soției și părinților mei, care au crezut în mine, acordându-mi încredere și sprijin moral în tot ceea ce am realizat.

*Cu deosebit respect,
Corneliu TANASE*

CUPRINS

INTRODUCERE.....	7
------------------	---

PARTEA a I a - DATE DE LITERATURĂ

CAPITOLUL 1 – Produse naturale cu structură aromatică și influența lor asupra proceselor fiziologice din plante.....	11
--	----

1.1. Rolul compușilor polifenolici în plante.....	11
1.2. Compușii polifenolici – definiție și clasificare.....	12
1.3. Surse naturale de compuși polifenolici.....	15
1.4. Extracția compușilor polifenolici.....	16
1.5. Metode de separare, caracterizare și identificare a compușilor polifenolici.....	17
1.6. Compușii polifenolici – potențiali regulatori de creștere a plantelor.....	18
1.7. Influența compușilor polifenolici asupra germinării	19
1.8. Influența compușilor polifenolici asupra intensității fotosintezei și acumulării de pigmenți fotoasimilatori	23
1.9. Influența compușilor polifenolici asupra sistemului enzimatic din plante.....	28
1.10. Compușii polifenolici și rolul lor în culturile „ <i>in vitro</i> ”	29
1.11. Influența unor compuși polifenolici asupra diviziunii celulare.....	33
1.12. Influența apei săracite în deuteriu asupra metabolismului sistemelor vii.....	35
1.13. Influența unor amendamente naturale în procese de bioremediere a solurilor poluate.....	36

PARTEA a II a - DATE EXPERIMENTALE

CAPITOLUL 2 – Materiale și metode.....	39
--	----

2.1. Obiectivele cercetării.....	39
2.2. Materii prime utilizate.....	40
2.3. Metode de lucru utilizate.....	44
2.3.1. Metoda de extracție.....	44
2.3.2. Analiza și caracterizarea extractelor apoase polifenolice.....	44
2.3.2.1. Determinarea conținutului de substanță uscată și organică.....	44
2.3.2.2. Determinarea intensității culorii.....	44
2.3.2.3. Determinarea conținutului total de polifenoli	44
2.3.2.4. Fractionarea extractelor.....	45
2.3.2.5. Determinarea acizilor polifenolici prin cromatografie de lichide.....	45
2.3.3. Teste de germinare.....	45
2.3.4. Culturi în condiții de seră („ <i>ex situ</i> ”)	46
2.3.5. Culturi în câmp („ <i>in situ</i> ”)	48
2.3.6. Analize fiziologice.....	50
2.3.6.1. Determinarea intensității fotosintezei, respirației, transpirației și a CO ₂ substomatal.....	50
2.3.6.2. Cuantificarea pigmenților fotoasimilatori.....	51
2.3.6.3. Determinarea acumulării de biomasă și elongația organelor vegetative.....	52
2.3.7. Determinări cantitative ale activităților diferitelor enzime.....	52
2.3.7.1. Determinarea cantitativă a activității peroxidazei.....	52
2.3.7.2. Determinarea activității superoxid-dismutazei.....	54
2.3.7.3. Determinarea activității catalazei	56

2.3.7.4. Determinarea cantitativă a proteinelor prin metoda Bradford	58
2.3.8. Determinarea concentrației metalelor grele din plante.....	59
2.3.9. Tehnica de cultivare „ <i>in vitro</i> ” a țesuturilor vegetale.....	61
2.3.9.1. Inițierea culturilor din explante de <i>Zea mays</i> L.....	61
2.3.9.2. Inocularea explantelor de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.....	63
2.3.10. Protocolul de lucru pentru analizele citogenetice.....	63
2.3.11. Protocolul de lucru pentru analizele histo- anatomice.....	68
2.3.12. Prelucrarea statistică.....	68
CAPITOLUL 3 – Caracterizarea produselor naturale utilizate.....	69
3.1. Extracte polifenolice obținute din ritidoma de molid și puzderii de cânepă.....	69
3.2. Apa cu conținut scăzut în deuteriu.....	71
CAPITOLUL 4 – Influența unor produse naturale asupra unor procese fiziologice din plantele de porumb.....	73
4.1. Influența unor produse naturale asupra unor procese fiziologice din plantele de porumb cultivate „ <i>ex situ</i> ”	73
4.1.1. Energia și capacitatea germinativă	73
4.1.2. Creșterea și dezvoltarea plantelor de porumb.....	75
4.1.2.1. Elongația organelor vegetative.....	75
4.1.2.2. Acumularea biomasei vegetale în organele vegetative.....	76
4.1.3. Acumularea de pigmenți fotoasimilatori	77
4.1.4. Intensitatea fotosintezei, respirației, transpirației și conținutul în CO ₂ substomatal.....	77
4.2. Influența unor produse naturale asupra unor procese fiziologice din plantele de porumb cultivate „ <i>in situ</i> ”	78
4.2.1. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra unor indici fiziologici înregistrați în faza vegetativă.....	78
4.2.1.1 Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra procesului de germinare.....	78
4.2.1.2. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra proceselor de creștere și dezvoltare.....	79
4.2.1.2.1. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra alungirii organelor vegetative.....	80
4.2.1.2.2. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra acumulării de biomasă în organele vegetative.....	81
4.2.1.3. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra principalelor procese fiziologice	82
4.2.1.3.1. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra intensității fotosintezei.....	82
4.2.1.3.2. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra procesului de respirație.....	83
4.2.1.3.3. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra procesului de transpirație.....	84
4.2.1.3.4. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra acumulării pigmenților asimilatori.....	84
4.2.2. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra unor indici fiziologici înregistrați în etapa de înflorire.....	86

4.2.2.1. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra procesului de creștere și dezvoltare a organelor vegetative pe durata fazei de înflorire.....	86
4.2.2.2. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra cantității de biomasă vegetală uscată.....	87
4.2.2.3. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra organului generativ – floarea.....	88
4.2.2.4. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra principalelor procese fiziologice.....	89
4.2.2.4.1. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra intensității fotosintetice.....	89
4.2.2.4.2. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra procesului de respirație.....	89
4.2.2.4.3. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra procesului de transpirație.....	90
4.2.2.4.4. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra acumulării pigmentilor asimilatori.....	90
4.2.2.4.5. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra concentrația compușilor polifenolici din frunzele de porumb.....	91
4.2.3. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra acumulării cantității de biomasă vegetală în etapa de recoltare.....	93
4.2.4. Concluzii.....	94

CAPITOLUL 5 – Stabilirea efectului unor produse naturale în culturi *in vitro*.....99

5.1. Stabilirea efectului unor produse naturale asupra unor culturi de calus de porumb.....	99
5.1.1. Dinamica acumulării biomasei proaspete.....	99
5.1.2. Capacitatea de regenerare a rădăcinilor aeriene și adventive.....	100
5.1.3. Recalusarea radiculară.....	103
5.1.4. Activitatea unor sisteme enzimatică în calusul de porumb	103
5.1.4.1. Activitatea peroxidazei.....	103
5.1.4.2. Activitatea superoxid dismutazei.....	104
5.1.4.3. Activitatea catalazei.....	105
5.1.5. Determinarea conținutului total în polifenoli din culturile de calus de porumb influențate chimic.....	105
5.2. Influența unor produse naturale asupra dezvoltării explantelor de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.....	107
5.2.1. Influența produselor testate asupra fenomenului de lăstărire, numărului de frunze formate și alungire	107
5. 2. 2. Influența produselor testate asupra cantității de pigmenți fotoasimilatori.....	110
5. 3. Concluzii.....	111

CAPITOLUL 6 – Activitatea unor sisteme enzimatică implicate în metabolismul plantelor de porumb dezvoltate în prezența unor produse naturale.....113

6.1. Determinarea proteinelor totale.....	114
6.2. Activitatea unor sisteme enzimatică sub influența apei cu conținut scăzut în deuteriu și a extractului obținut din coaja de molid	114
6.2.1. Activitatea peroxidazei.....	114
6.2.2. Activitatea superoxid dismutazei.....	115
6.2.3. Activitatea catalazei.....	116

6.3. Activitatea unor sisteme enzimatic sub influența extractului obținut din puzderii de cânepă.....	116
6.3.1. Activitatea peroxidazei.....	116
6.3.2. Activitatea superoxid dismutazei.....	117
6.3.3. Activitatea catalazei.....	118
6.4. Concluzii.....	118

CAPITOLUL 7 - Aspecte histo-anatomice ale plantulelor de porumb (*Zea mays L.*), dezvoltate sub acțiunea unor produse naturale.....121

7.1. Aspecte histo-anatomice generale ale plantelor martor.....	121
7.2. Aspecte histo-anatomice ale plantelor de porumb dezvoltate în prezența apei săracite în deuteriu.....	125
7.3. Aspecte histo-anatomice ale plantelor de porumb dezvoltate în prezența apei săracite în deuteriu în combinație cu extractul apos obținut din coaja de molid.....	128
7.4. Aspecte histo-anatomice ale plantelor de porumb dezvoltate în prezența extractului apos obținut din coaja de molid.....	131
7.5. Aspecte histo-anatomice ale plantelor de porumb dezvoltate în prezența extractului apos obținut din puzderiile de cânepă.....	134
7.6. Concluzii.....	136

CAPITOLUL 8 – Efecte citogenetice la plantele de porumb (*Zea mays L.*) determinate de tratamentul cu compuși naturali cu structură aromatică139

8.1. Influența extractelor polifenolice și a apei săracite în deuteriu asupra celulelor din apexul radicular de porumb.....	140
8.1.1. Indicele mitotic și frecvența fazelor diviziunii mitotice.....	140
8.1.2. Frecvența celulelor cu aberații.....	143
8.2. Determinarea deteriorării ADN-ului.....	146
8.3. Apropierea genetică dintre variantele experimentale.....	148
8.4. Concluzii.....	149

CAPITOLUL 9 - Influența puzderiilor de cânepă în procese de bioremediere a solurilor poluate.....151

9.1. Caracterizarea probelor de sol utilizate în experiment.....	151
9.1.1. Determinarea conținutului de apă și substanță uscată	151
9.1.2. Determinarea pH-ului probelor de sol	152
9.1.3. Determinarea concentrației ionilor metalici din probele de sol.....	153
9.2. Determinări privind influența puzderiilor de cânepă asupra unor procese fiziologice din sistemele vegetale cultivate pe soluri poluate.....	154
9.2.1. Determinarea capacității și energiei germinative.....	154
9.2.2. Determinarea alungirii organelor vegetative	154
9.2.3. Determinarea cantitativă a biomasei vegetale	155
9.2.4. Determinarea conținutului de pigmenți asimilatori	156
9.2.5. Determinarea concentrației ionilor metalici	158
9.3. Concluzii.....	161

CAPITOLUL 10 - Discuții asupra unui posibil mecanism de acțiune a compușilor polifenolici în sistemele vegetale.....165

10.1. Considerații generale.....	165
----------------------------------	-----

10.2. Acidul vanilic – stimulator și catehina - inhibitor în creșterea și dezvoltarea plantelor de porumb (<i>Zea mays</i> L.)	166
10.3. Căi posibile de acțiune a compușilor polifenolici în plante.....	167
10.3.1. Influența compușilor polifenolici asupra aparatului fotosintetic (A).....	167
10.3.2. Influența compușilor polifenolici asupra balanței hormonale (B).....	169
10.3.3. Compușii polifenolici și reglarea la nivel genetic (C).....	170
CAPITOLUL 11 – CONCLUZII GENERALE.....	175
BIBLIOGRAFIE.....	183
ANEXE.....	201
Activitatea științifică.....	213

În rezumatul tezei de doctorat se prezintă pe scurt capitolele, concluziile generale, activitatea științifică și bibliografia selectivă. La redactare, pentru capitole, subcapitole, figuri, scheme și tabele s-au păstrat notațiile utilizate în textul tezei de doctorat.

INTRODUCERE

Lumea vegetală reprezintă temelia construcției întregii vieți de pe pământ. În mod direct sau indirect, toate ființele își sprijină existența pe vasta lume a speciilor vegetale, singurele care pot "fabrica" nutrienți pe baza substanțelor minerale. Pentru om, încă de la începuturile sale, această lume deosebit de complexă a vegetalelor, a reprezentat sursă de hrană, combustibil, adăpost și remediu. Oricât de puternic și evoluat este omul epocii moderne, el a rămas și va rămâne dependent de vegetale, deoarece fără oxigenul și compușii bio, oferite de acestea, el nu poate supraviețui.

Orice organism se află într-o relație biunivocă cu mediul, relație mediată chimic. Ca organisme fixate, spre deosebire de animale care se pot sustrage prin deplasarea din zona în care chimismul mediului este/devine defavorabil, plantele suportă un impact mai puternic din acest punct de vedere, dar și acționează în tendința de a-și ajusta mediul conform necesităților lor ca și în aceea de a elimina concurența la spațiu, implicit la sursa de energie – solară. Evident, plantele sunt sprijinite în materializarea relației mediate chimic cu mediul, de independența energetică din cadrul ecosistemului.

Reacția plantei la semnalul chimic receptat din mediu se manifestă la diferite niveluri de organizare, evident cu specificitatea consecutivă. În același timp, primul organ care suportă impactul chimic este rădăcina. Astfel, se poate limita relația plantă – sol la zona de prim contact, ca nivel de organizare al lumii vii, dar și anatomic – adică diviziunea celulară – radiculară sub influența unor substanțe biologice active.

Cercetările actuale sunt orientate spre găsirea unor noi surse de obținere a substanțelor naturale cu activitate biologică, cu un domeniu larg de aplicabilitate. Un interes aparte revine compușilor polifenolici, datorită răspândirii și proprietăților pe care le posedă. Acești compuși sunt prezenți în fiecare organ al plantei și în funcție de structura lor îndeplinesc diferite roluri pornind de la constituenți scheletici ai celulelor până la pigmentarea anumitor organe. Distribuția compușilor polifenolici în plante la nivel tisular, celular și subcelular, nu este uniformă. Compușii care au un caracter pronunțat insolubil sunt regăsiți cu precădere la nivelul pereților celulari, spre deosebire de polifenolii ușor solubili caracterizați și prin localizarea la nivelul vacuolelor celulare (Beckman, 2000). Astfel, un factor important ce a stat la baza cercetării domeniului legat de aplicațiile biologice ale compușilor naturali polifenolici, a fost legat de răspândirea și proprietățile specifice, aceștia reprezentând una din principalele clase de metaboliți secundari cu structură aromatică, din plante. Polifenolii sunt esențiali pentru asigurarea creșterii și dezvoltării plantelor, cât și a reproducerii lor. De asemenea ei contribuie la stabilirea taliei, pigmentării, a apărării contra diferiților agenți patogeni sau agresori (Popa, 2002), sau servesc ca molecule semnal în recunoașterea simbioților (Naczki și Shahidi, 2006). Considerați a fi antioxidanți naturali acești compuși au importante proprietăți care includ inhibarea peroxidării lipidelor, inhibarea carcinogenezei, activitatea antimicrobiană, acțiune nanoconstrictoare directă asupra capilarelor, fitohormoni naturali, stabilizarea acidului ascorbic etc.

Prezența abundentă a compușilor polifenolici la nivelul organismelor vegetale, existența a numeroase materii prime din care pot fi recuperați, precum și dezvoltarea unor tehnici cromatografice moderne (cromatografia în fază gazoasă și lichidă) ce permit separarea și caracterizarea compușilor individuali, reprezintă avantaje în scopul testării și evaluării unor noi proprietăți bioactive ale acestor compuși (Ignat și colab., 2010). Multitudinea de beneficii ale polifenolilor dar și dorința înlocuirii antioxidanților sintetici cu unii naturali, au intensificat eforturile cercetătorilor de a descoperi și utiliza compuși bioactivi din surse naturale cum ar fi fructele și legumele (Zhang și colab. 2009).

Tema abordată „**Contribuții privind influența unor produse naturale asupra principalelor procese fiziologice din sistemele vegetale**” se încadrează în direcțiile de cercetare din domeniul biotehnologiilor. Convenția ONU pentru diversitatea biologică definește biotehnologia drept: *"Orice aplicație tehnologică care utilizează sisteme biologice, organisme vii, sau derivate ale acestora, pentru a crea sau modifica produse sau procese în scopuri bine determinate"* (<http://www.onuinfo.ro>).

Relevanța temei și modul în care se încadrează în politica și platforma tehnologică națională și în domeniul de cercetare științifică se explică prin următoarele obiective:

1. obținerea de noi produse bioregulatorie compatibile cu mediul ambiant;
2. identificarea și analiza influenței unor produse naturale asupra proceselor fiziologice din plante.

3. îmbunătățirea produselor vegetale rezultate din agricultură;

4. orientarea cercetării spre o agricultură ecologică în vederea dezvoltării durabile.

În politica europeană și națională, agricultura este un sistem agricol menit să furnizeze alimente proaspete, gustoase și autentice și care în același timp respectă ciclul natural de viață al sistemelor. În mod contrar, agricultura actuală se bazează, în mare parte, pe utilizarea unor produși sintetici ce urmăresc îmbunătățirea funcțiilor sistemelor vegetale. Pentru a înlătura această practică, agricultura ecologică se bazează pe un număr de obiective și principii, la fel ca și pe bunele practici create să minimizeze impactul omului asupra mediului înconjurător, asigurându-se în același timp că sistemul agricol operează pe cât de natural posibil. Astfel, informațiile privitoare la efectele compușilor polifenolici și a apei sărace în deuteriu, asupra creșterii și dezvoltării plantelor sunt importante în stabilirea potențialelor utilizări în agricultură ca bioregulatori naturali de creștere.

Studierea modului prin care diverși compuși polifenolici influențează procesele metabolice din plante, permite reorientarea cercetărilor actuale spre o agricultură ecologică.

În cadrul acestei lucrări de doctorat au fost abordate aspecte privind testarea activității biologice a extractelor polifenolice obținute din coaja de molid și puzderii de cânepă în experimente de germinare a semințelor, cultivarea plantelor *in situ* și *ex situ*, de cultivare a explantelor de levănțică și a calusului de porumb pe diferite medii nutritive și de stabilire a unor efecte enzimatic, citogenetic și histo - anatomice. Astfel, experimentele realizate s-au desfășurat în laboratoarele de fiziologie vegetală, culturi de celule și țesuturi și genetică din cadrul facultății de biologie (Univ. „Al. I. Cuza”) cât și în laboratorul de biochimie din cadrul facultății de chimie (Univ. „Al. I. Cuza”). De asemenea experimentele *in situ* s-au realizat în colaborare cu colectivul de la Grădina Botanică „Anastasia Fătu”, Iași.

Astfel, efectele compușilor polifenolici au fost evaluate prin metode caracteristice fiziologiei plantelor. Rezultatele obținute au fost valorificate prin publicare în 3 articole ISI și 7 articole publicate în reviste naționale, BDI/B+ cât și 14 participări la comunicări și manifestări interne și internaționale.

PARTEA I – DATE DE LITERATURĂ

Prima parte a tezei de doctorat, ce reprezintă capitolul I al tezei, sumarizează în 13 subcapitole, o sinteză a datelor de literatură necesare cunoașterii stadiului actual al cercetării în domeniu și fundamentării planului experimental și interpretării datelor obținute.

Astfel în aceste subcapitole sunt sintetizate date generale referitoare la compuși polifenolici, date cum ar fi: definiție, clasificare, rol, surse, metode de extracție, separare, caracterizare și identificare. De asemenea sunt sintetizate și numeroase date referitoare la influența compușilor polifenolici asupra: germinării, intensității fotosintezei, respirației, transpirației, conținutului în CO₂ substomatal, culturilor de celule și țesuturi și capacității de diviziune celulară. În ultimile subcapitole sunt structurate informații referitoare la influența apei sărace în deuteriu asupra metabolismului sistemelor vii și a unor amendamente naturale în procese de bioremediere a solurilor poluate.

PARTEA a II a – DATE EXPERIMENTALE

Partea a doua a tezei este destinată prezentării datelor experimentale și se desfășoară pe parcursul a 10 capitole, ultimul incluzând concluziile generale rezultate în urma cercetărilor.

Capitolul 2 – Materiale și metode, include prezentarea și caracterizarea materialelor vegetale luate în studiu, metodele de obținere și caracterizare a extractelor polifenolice ce urmează a fi testate, descrierea metodologiei experimentale de realizare a testelor de germinare, a culturilor ”*in situ*” și ”*ex situ*” cât și a tehnicilor experimentale utilizate în scopul evaluării rolului extractelor polifenolice și a apei săracite în deuteriu asupra proceselor fiziologice din plantele de porumb.

În vederea îndeplinirii obiectivelor propuse s-a urmărit parcurgerea următoarelor etape de lucru: **Obiectivul general/Scopul lucrării:** - *identificarea și analiza influenței unor produse naturale asupra principalelor procese fiziologice din sistemele vegetale.*

Obiectivele specifice sunt prezentate în tabelul 2.1. împreună cu activitățile de cercetare propuse pentru îndeplinirea acestora.

Tabel 2.1. - Obiectivele cercetărilor

Nr. Crt	Obiective	Activități
1	Obținerea de extracte apoase cu conținut polifenolic din materiale vegetale cum ar fi: ritidoma de molid și puzderii de cânepă.	- colectarea, uscarea, mărunțirea materialului vegetal; - extracția apoasă a principiilor active;
2	Caracterizarea extractelor apoase din punct de vedere al conținutului în compuși polifenolici.	- determinarea conținutului total de polifenoli prin metode spectrofotometrice; - identificarea compușilor prin HPLC;
3	Evaluarea influenței extractelor polifenolice sau în combinație cu apa săracită în deuteriu asupra principalilor indici fiziologici din sistemele vegetale.	- efectuarea testelor de germinare; - determinări privind elongația diferitelor organe vegetative; - determinări ale biomasei acumulate în plante în diferite fenofaze; - extragerea, identificarea și cuantificarea pigmentilor fotoasimilatori; - determinarea intensității fotosintetice, a respirației și transpirației în cele trei etape principale ale ciclului vegetativ, prin metoda NDIR;
4	Evaluarea activității enzimactice la nivel celular pentru plantele influențate chimic.	- determinarea activității catalazei, peroxidazei, și superoxid dismutazei pentru plantulele din diferite variante experimentale;
5	Monitorizarea efectului extractelor polifenolice sau a acestora în combinație cu apa săracită în deuteriu asupra unor culturi de calus	- culturi de calus pe medii de cultură în compoziția cărora s-au adăugat extracte polifenolice și apa săracită în deuteriu; - determinări numerice și gravimetrice; - conținutul total în polifenoli.
6	Monitorizarea efectului extractelor polifenolice sau a acestora în combinație cu apa săracită în deuteriu asupra structurii histo-anatomice la plantele de porumb	- teste de germinare; - obținere de plantule; - studii histo-anatomice; - interpretarea modificărilor histo-anatomice.
7	Monitorizarea efectului extractelor polifenolice sau a acestora în combinație cu apa săracită în deuteriu asupra diviziunii celulare la plantele de porumb	- teste de germinare - obținerea preparatelor microscopice - determinarea indicelui mitotic - determinarea aberațiilor cromosomiale
8	Determinarea influenței unor produse naturale în procesele de bioremediere a solurilor poluate	- caracterizarea probelor de sol - determinări referitoare la creșterea și dezvoltarea plantelor de rapiță; - determinarea concentrației de metale grele din plantele de rapiță;

Pentru îndeplinirea obiectivelor propuse s-a urmărit schema din figura 2.1.

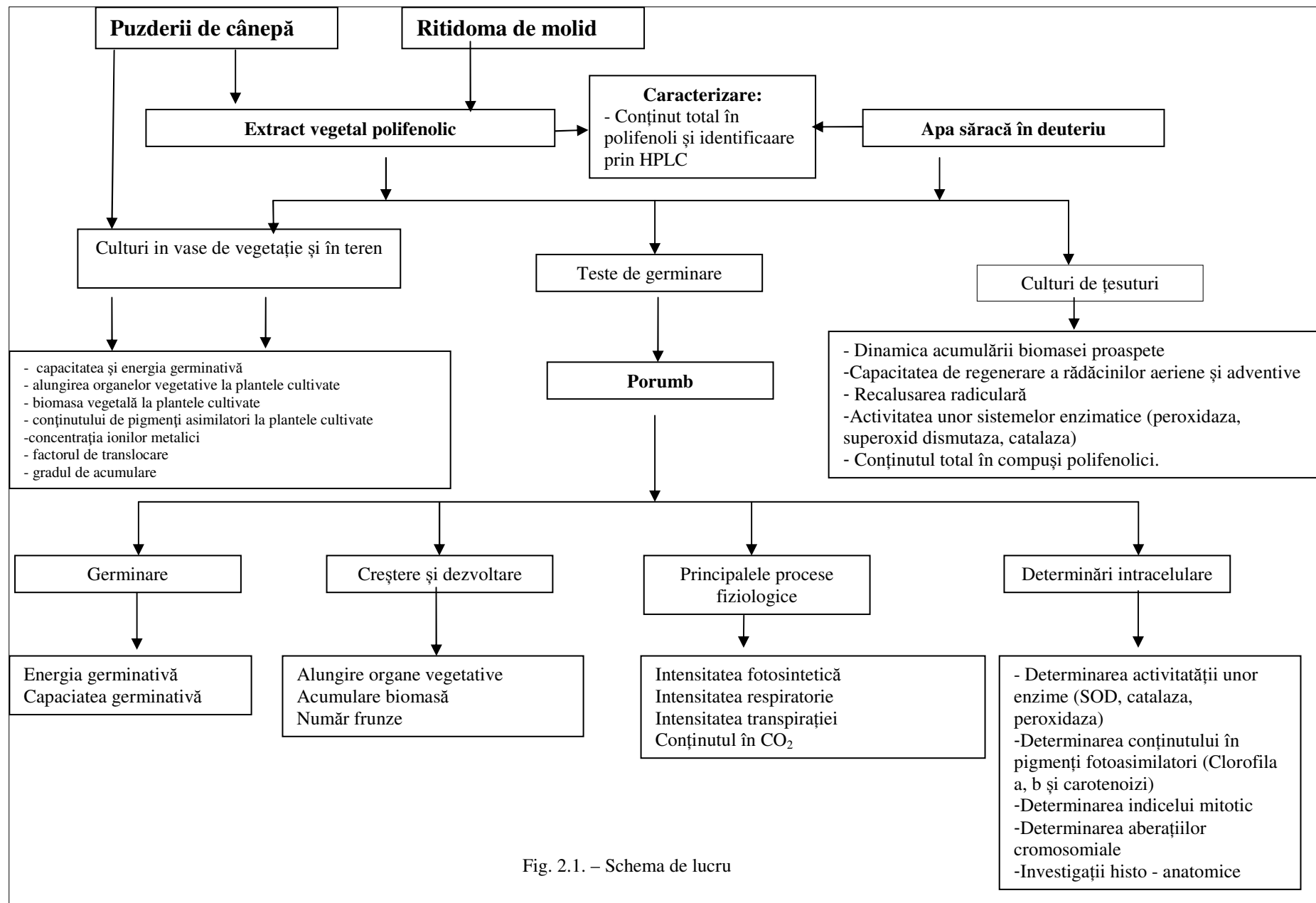


Fig. 2.1. – Schema de lucru

Capitolul 3 – Caracterizarea produselor naturale utilizate sumarizează principalele caracteristici ale extractelor polifenolice din cele două tipuri de materiale vegetale și apa săracită în deuteriu.

Extractul apos obținut din ritidoma de molid a fost caracterizat din punct de vedere al conținutului total în polifenoli, intensitatea culorii, pH. Rezultatele obținute sunt evidențiate în tabelul 3.1. Extractul apos separat din ritidoma de molid conține o cantitate considerabilă de compuși aromatici bioactivi, în special catehină și acid vanilic (Fig. 3.1.). Această situație s-a constatat în urma identificării compușilor polifenolici prin analiza HPLC.

Tabel 3.1. - Caracteristici ale extractului obținut din ritidoma de molid și puzderii de cânepă

Extract	Substanță uscată (g/L extract)	Substanța organică (g/L extract)	Intensitatea culorii	pH	TPC (mg GAE/100g)
Ritidoma de molid	0.51	0.42	0.35	4.7	52
Puzderii de cânepă	0,43	0,53	0,18	5,7	164

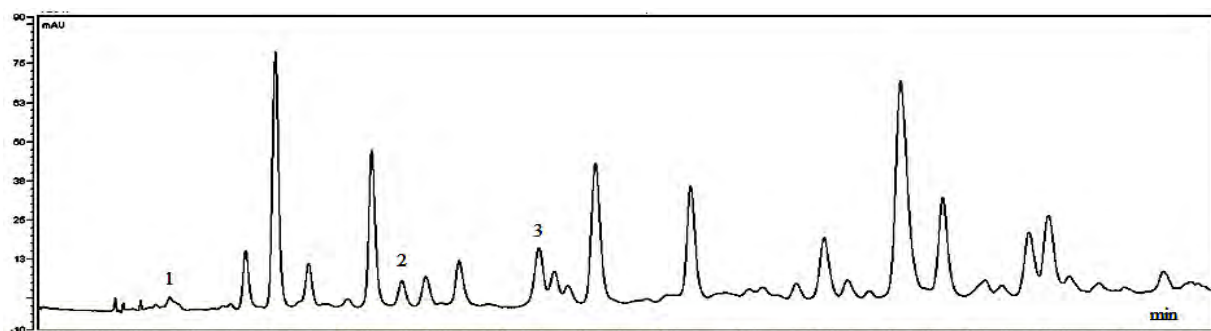


Fig. 3.1. - Profilul cromatografic pentru extractul obținut din ritidoma de molid: 1- acid galic (3.19 ± 0.81); 2- catehină (31 ± 1.9); 3- acid vanilic (39.4 ± 0.2)

Extractul apos obținut din puzderii de cânepă a fost caracterizat din punct de vedere al conținutului total în polifenoli. Astfel, s-a constatat că valoarea conținutului total de polifenoli, raportat în mg GAE/100g este de 164 ± 15.23 .

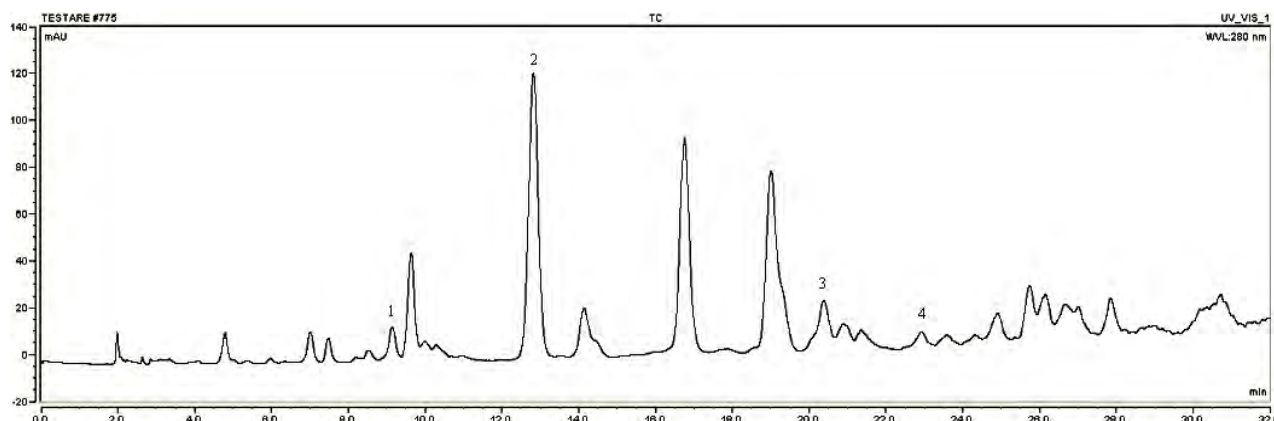


Fig. 3.2. - Profilul cromatografic pentru extractul apos obținut din puzderii de cânepă (1 – catehină ($52,17 \pm 2.3$), 2 – acid vanilic ($96,88 \pm 2.5$), 3 – acid p-cumaric ($8,06 \pm 0.7$) și 4 – acid ferulic ($3,25 \pm 0.6$))

Prin analiza cromatografică s-au identificat și cuantificat catehina și acizii polifenolici din extractul apos, obținut din puzderiile de cânepă (Fig. 3.2.). Astfel, se constată prezența catehinei în cantitate de 52,17 mg GAE/100g material vegetal. Acidul vanilic are o concentrație ridicată comparativ cu ceilalți acizi polifenolici identificați (96,8 mg GAE/100g). În cantități mai reduse se găsesc acidul p-cumaric (8,06 mg GAE/100g) și acidul ferulic (3,2 mg GAE/100g). Cromatograma tipică a fost obținută pentru opt compuși polifenolici la lungimea de undă de

280nm. Cromatograma rezultată în urma analizei, pentru extractul apos obținut din puzderii de cânepă este prezentată în figura 3.2.

3. 2. Apa cu conținut scăzut în deuteriu

Apa săracă în deuteriu sau apa ușoară, ale cărei caracteristici sunt prezentate în tabelul 3.2., este apă distilată, microbiologic pură, cu o concentrație izotopică de 25 ppm, care se obține prin distilarea izotopică, sub vid, a apei naturale cu o concentrație izotopică de 145 ppm D/(D+H) (Somlyai G., 2001). S-a demonstrat că în vreme ce cantitățile normale (140-150 ppm) nu au avut efecte dăunătoare, creșterea deuteriului ambiental prin diverse metode la peste 15-20%, determină alterări structurale, metabolice și funcționale în diverse grade. Odată cu descoperirea apei săracă în deuteriu, s-a obținut o modalitate rapidă și ușoară de a se reduce deuteriul în sistemele biologice prin simpla administrare în mediul de creștere sau în apa de băut a apei săracă în deuteriu. Studiile din ultima perioadă arată că apa săracă în deuteriu are o mare influență asupra dezvoltării și multiplicării celulelor animale și vegetale, în transportul celular, sinteza ADN-ului cât și o activitate antioxidantă (Somlyai și colab. 1993; Somlyai și colab 1998).

Tabel 3.2. - Caracteristici ale apei sărace în deuteriu

Concentrația izotopică (ppm)	Densitatea relativă (g/cm ³)	Solubilitatea	Punct de îngheț/topire (°C)	pH (la 25 °C)	Punctul de fierbere (°C)
25	1,00	Complet miscibilă	0	6,0 - 8,0	100

În capitolul 4 – Influența unor produse naturale asupra proceselor fiziologice din plantele de porumb s-a urmărit stabilirea influenței extractelor polifenolice și a apei săracă în deuteriu asupra creșterii și dezvoltării plantelor de porumb cultivate „*ex situ*” sau „*in situ*”. De asemenea s-a determinat influența asupra acumulării de pigmenți fotoasimilatori, intensității respirației, fotosintezei și transpirației cât și a compusilor polifenolici sintetizați în frunzele plantelor tratate.

Prin determinarea ratei fotosintetice (Fig. 4.5.) la plantele supuse tratamentului cu diferite soluții s-a constatat o ușoară intensificare a acestora în toate variantele experimentale. Se evidențiază rezultatul obținut pentru varianta M2, unde procentajul de stimulare a intensității fotosintetice este cu 8% mai ridicat comparativ cu martorul.

În urma analizelor efectuate s-a constatat o intensificare a procesului de respirație, pentru plantele de porumb, în cadrul tuturor variantelor experimentale cu procentaje mai ridicate în variantele M1 și M2.

Observând rolul ASD și a extractului obținut din ritidoma de molid asupra intensității transpirației, prin rezultatele obținute, se constată că la nivelul plantelor de porumb procentajul de stimulare a intensității transpirației, pentru toate variantele experimentale este ridicat, în special în cazul variantei ASD (19%) și M2 (18%).

S-a constatat că intensitatea respirației este mai ridicată în plantele de porumb care au fost tratate cu extract de molid de concentrație 191 mg GAE/L. Pentru celelalte variante s-au înregistrat procentaje mai scăzute. Putem observa că eliminarea dioxidului de carbon prin respirație este corelată cu eliminarea apei din plantă, aceste procese fiind mai accentuate la plantele tratate cu extracte polifenolice obținute din ritidoma de molid, de concentrații diferite.

În ceea ce privește conținutul în CO₂ substomatal se constată o creștere semnificativă a acestuia, comparativ cu martorul, la plantele de porumb din varianta ASD + M1 și M2.

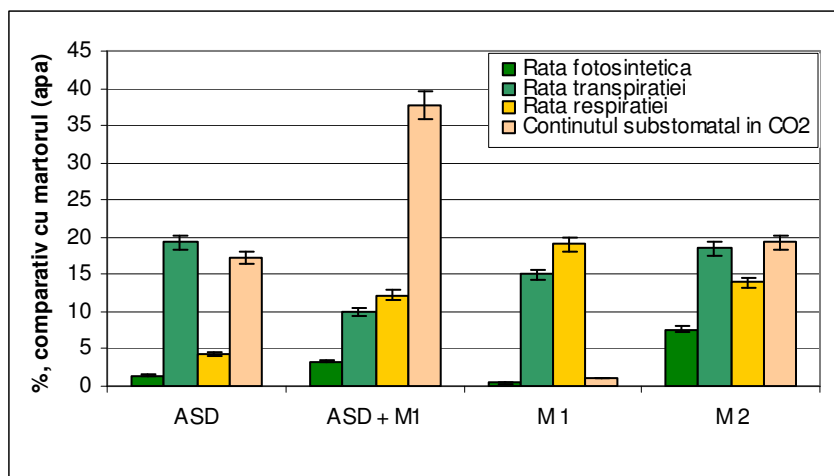


Fig. 4.5. - Influența ASD și a extractelor polifenolice în combinație cu ASD asupra unor indici fiziologici la plantele de porumb

4.2.3. Influența apei cu conținut redus în deuteriu și a extractului apos obținut din ritidoma de molid asupra acumulării cantității de biomasă vegetală în etapa de recoltare

Recolta este determinată de potențialul genetic al fiecărei plante și de factorii de mediu (radiația solară, apă, căldură, elemente nutritive, buruieni, agenți patogeni, dăunători etc.), care influențează manifestarea potențialului genetic într-o măsură mai mare sau mai mică. Prin tehnologia de cultură, se urmărește crearea de condiții cât mai favorabile plantelor de cultură, să îmbunătățească factorii de mediu și să-i corecteze atunci când aceștia sunt nefavorabili plantelor de cultură, astfel încât recolta obținută să fie cât mai apropiată de potențialul genetic obținut prin ameliorare (Axinte și colab, 2006).

Recolta se pregătește odată cu luarea deciziei de amplasare a culturii, efectuarea lucrărilor solului și înființarea culturii și se formează de-a lungul întregii perioade de vegetație a plantei de cultură. Ca atare, o amplasare corectă a culturii, o bună pregătire a solului, o înființare în condiții cât mai bune a culturii și parcurgerea în optimum a tuturor fazelor de vegetație sunt premise pentru obținerea unei recolte cât mai mari. Orice factor de stres din perioada de vegetație influențează negativ nivelul producției (Ion, 2010).

Prin tehnologia de cultură, se urmărește optimizarea factorilor de mediu care influențează creșterea și dezvoltarea plantei de cultură, respectiv urmărește să asigure cantitățile necesare de apă și elemente nutritive, să combată buruienile și să protejeze plantele împotriva bolilor și dăunătorilor. În experimentul de față s-a urmărit îmbunătățirea recoltei prin aplicarea unor substanțe naturale cu efect bioregulator asupra plantelor de cultură.

Elementele productivității urmărite sunt elementele care contribuie la formarea producției (formarea recoltei), acestea fiind următoarele:

- numărul de plante/m² ce rezultă din densitatea la semănat și facultatea germinativă (cap. 4.1.);
- numărul de flori sau inflorescențe/plantă (cap. 4.2.);
- biomasa acumulată în semințe (cap. 4.2.3.);
- biomasa acumulată în fiecare organ vegetativ (cap. 4.3.3).

La nivelul plantelor de porumb sporirea acumulării biomasei în organele vegetative și semințe s-a realizat în procentaje ridicate pentru toate variantele experimentale (Fig. 4.16.). Astfel, plantele care s-au dezvoltat sub influența extractului polifenolic obținut din coaja de molid (M2 – 130 mg GAE/L) au acumulat o cantitate de biomasă considerabilă în toate organele vegetative, cu procentajul cel mai ridicat în rădăcină (160,33%) și tulpină (149, 21%). Biomasa acumulată în semințe înregistrează un spor de 89,52% comparativ cu matorul. La o concentrație mai mare a extractului polifenolic (M1 - 191 mg GAE/L) procentajele de stimulare sunt nesemnificative, apropiate de valorile matorului. În schimb la finalul ciclului ontogenetic al

plantelor, din cadrul variantei M1, nu se mai înregistrează efectul de inhibare a creșterii în lungime și acumulării de biomasă, observat în faza de înflorire.

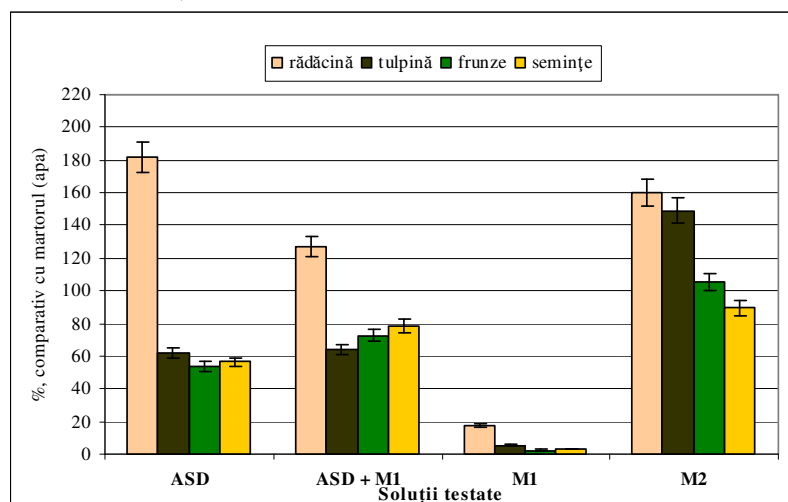


Fig. 4.16. - Influența ASD și a extractului apos din ritidoma de molid în combinație cu ASD asupra acumulării de biomasă la porumb

Apa cu conținut scăzut în deuteriu, determină cel mai ridicat grad de stimulare pentru acumularea biomasei în rădăcinile de porumb (182%). La nivelul celorlalte organe vegetative și la nivelul semințelor, procentajele de stimulare sunt ridicate, însă nu ca în cazul variantei ASD + M1 unde gradul de stimulare a acumulării biomasei este evident mai ridicat.

Capitolul 5 - Stabilirea efectului unor produse naturale asupra unor culturi de calus de porumb. În capitolul de față s-a urmărit rolul apei săracite în deuteriu și al extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid asupra unor parametri fiziologici caracteristici unei culturi de calus și anume: dinamica acumulării biomasei proaspete, capacitatea de regenerare a rădăcinilor aeriene și adventive și recalusarea radiculară. De asemenea, s-a înregistrat activitatea unor enzime la nivelul țesutului calusogen, din cele 5 variante experimentale (M, ASD, ASD+M, M5+2,4D, M5-2,4D).

5.1. Dinamica acumulării biomasei proaspete

Creșterea și acumularea biomasei în calusul de origine radiculară rezultat din plantule de porumb, a fost monitorizată într-o perioadă de opt săptămâni cu evaluări la intervale de două săptămâni (Fig. 5.1.). Se constată o creștere a biomasei pentru toate variantele experimentale pe întreaga durată a experimentului, cu o creștere mai ridicată în primele două săptămâni.

Comparând influența soluțiilor testate, constatăm că prin adăugarea ASD în mediul de cultură cantitatea de biomasă va fi mai ridicată cu până la 95% în primele 2 săptămâni, comparativ cu matorul. Prin combinarea acesteia cu extractul obținut din ritidoma de molid de concentrație 96 mgGAE/L (raport 1:1), stimularea acumulării de biomasă se păstrează, însă procentajul de stimulare va fi puțin mai scăzut.

În acord cu datele din literatură (Dods și Roberts, 1985) calusul odată inițiat are capacitatea de a sintetiza singur fitohormoni de tip auxină sau citochinină. Prin concluziile unor autori (Simionescu și colab., 1991) se constată că acțiunea bioregulatorilor de creștere, introduși în mediul de creștere este combinată cu capacitatea țesutului vegetal de a sintetiza hormoni. Având în vedere aceste observații s-a constatat că țesutul calusogen care s-a dezvoltat în mediul de cultură ce conținea extractul apos obținut din ritidoma de molid, a acumulat o cantitate de biomasă mai ridicată (9-51%) comparativ cu matorul. Se constată că în primele două săptămâni cantitatea de biomasă este mai ridicată în variantele unde mediul de cultură a fost suplimentat, pe lângă extractul polifenolic, cu 2,4 D. La înregistrările efectuate ulterior s-a observat că biomasă umedă a fost mai mare în variantele în care lipsește 2,4D. Astfel, există probabilitatea ca 2,4 D să fie metabolizat în primele zile, iar compușii polifenolici prezenți în extractul obținut din ritidoma de molid să fie metabolizați ulterior, având rolul unor fitohormoni.

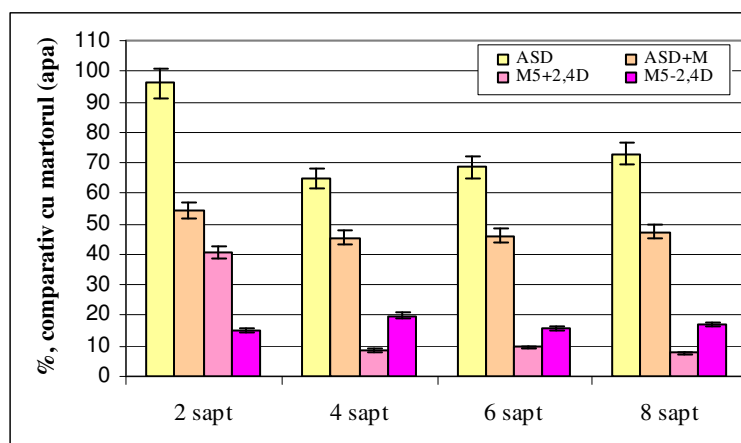


Fig. 5.1. - Influența ASD și a extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid asupra acumulării biomasei proaspete în calusul de porumb

5.1.2. Capacitatea de regenerare a rădăcinilor aeriene și adventive

Analizând procesul de formare a rădăcinilor adventive (Fig. 5.2.) constatăm că situația este puțin diferită. Pentru toate variantele experimentale se constată o creștere a numărului rădăcinilor adventive direct proporțional cu timpul. Astfel se observă că adăugarea ASD în mediul de cultură va declanșa formarea unui număr mai mare de rădăcini adventive comparativ cu martorul (Fig. 5.2.) dar mult mai scăzut comparativ cu celelalte variante. Atunci când în mediul de cultură este adăugat și extractul de molid, numărul rădăcinilor adventive este mai ridicat (ASD+M) (Fig. 5.4.). Numărul cel mai ridicat de rădăcini adventive s-a înregistrat la probele din varianta M5+2,4D (Fig. 5.5., 5.6., 5.7.). Această observație atrage atenția asupra extractului polifenolic adăugat în mediul de cultură, care, împreună cu 2,4 D, poate avea un rol important în rizogeneză la porumb. Trebuie subliniată diferența de număr a rădăcinilor adventive, dată de adăugarea 2,4 D în mediul de cultură în care apa a fost substituită de extractul polifenolic.

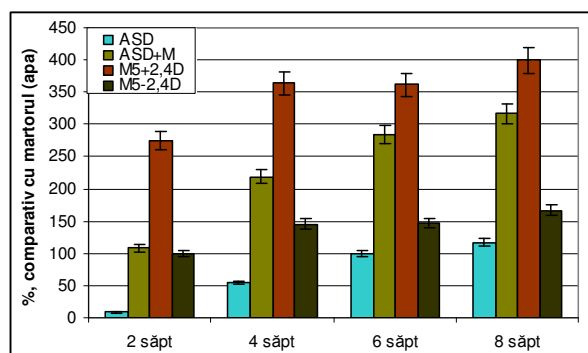


Fig. 5.2. - Influența ASD și a extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid asupra numărului de rădăcini adventive

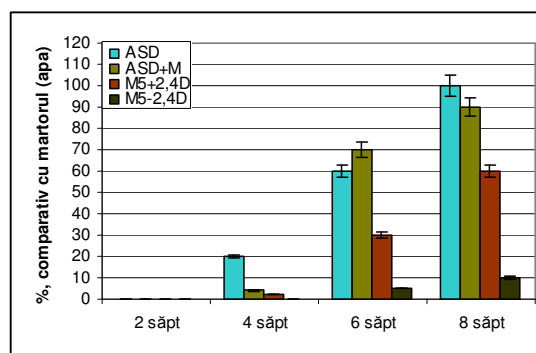


Fig. 5.3. - Influența ASD și a extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid asupra numărului de rădăcini adventive aeriene

Urmărind apariția și evoluția rădăcinilor adventive aeriene (Fig. 5.3.) constatăm că acestea apar după primele două săptămâni de la inoculare. O bună dezvoltare a acestora s-a înregistrat la probele din variantele ASD (Fig. 5.9.) și ASD+M (Fig. 5.4.). De asemenea un număr mai ridicat decât la martor (Fig. 5.8.) se înregistrează pentru rădăcinile aeriene din varianta M5+2,4D (Fig. 5.6. și 5.7.), procentajul de stimulare scăzând semnificativ în varianta M5-2,4 D. Aceste observații pot duce la concluzia că mediul de cultură în care se găsește ca hormon 2,4D, suplimentat cu ASD sau extract polifenolic, reprezintă un cadru propice pentru dediferențierea celulară, în cazul de față pentru rizogeneză.

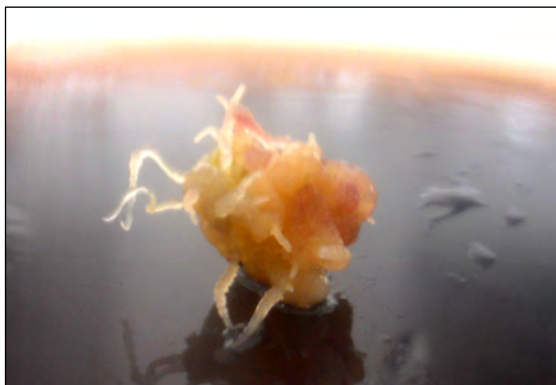


Fig. 5.4. - Formarea rădăcinilor adventive (ASD+M la 2 săptămâni de la inoculare)

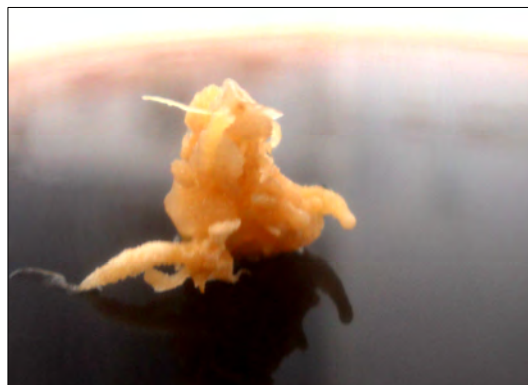


Fig. 5.5. - Formarea rădăcinilor adventive aeriene (M5+2,4D la 6 săptămâni de la inoculare)



Fig. 5.6. - Formarea rădăcinilor adventive aeriene (M5+2,4 D la 4 săptămâni de la inoculare)



Fig. 5.7. - Formarea rădăcinilor adventive și aeriene (M5+2,4 D la 6 săptămâni de la inoculare)



Fig. 5.8. - Formarea rădăcinilor adventive (Martor la 4 săptămâni de la inoculare)

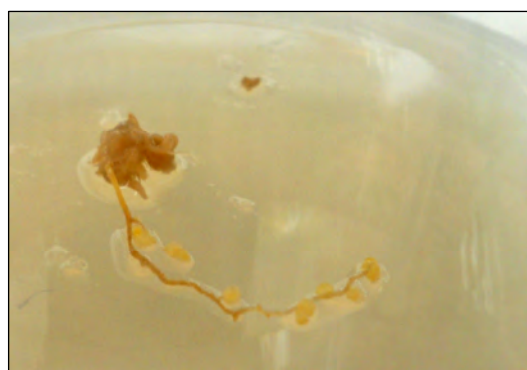


Fig. 5.9. - Fenomenul de recalusare în varianta ASD la 4 săptămâni de la inoculare



Fig. 5.10. - Fenomenul de recalusare în proba 1 din varianta ASD la 6 săptămâni de la inoculare



Fig. 5.11. - Fenomenul de recalusare în proba 1 din varianta ASD la 8 săptămâni de la inoculare



Fig. 5.12. - Fenomenul de recalusare în proba 2 din varianta ASD la 6 săptămâni de la inoculare



Fig. 5.13. - Fenomenul de recalusare în proba 2 din varianta ASD la 6 săptămâni de la inoculare

5.1.3. Recalusarea (calusogeneza) radiculară

După 4 - 6 săptămâni de la apariția rădăcinilor adventive s-a înregistrat fenomenul de calusogeneza radiculară (Fig. 5.14.). Astfel, la nivelul rădăcinilor adventive s-a format un calus friabil gălbui, alcătuit din celule parenchimatice (Fig. 5.9., 5.10., 5.12.). Acest proces de calusogeneza a fost observat doar în variantele experimentale ASD (Fig. 5.9., 5.10., 5.11., 5.12., 5.13.) și ASD + M (Fig. 5.15.). În probele martor nu s-a înregistrat fenomenul de calusare nici după opt săptămâni de la inițierea culturii. Putem constata astfel că apa cu conținut scăzut în deuteriu și extractul polifenolic obținut din ritidoma de molid au un rol important în procesul de calusogeneza. De asemenea, constatăm și influența 2,4 D, deoarece în varianta unde acesta lipsește procesul de calusogeneza este mult mai diminuat.

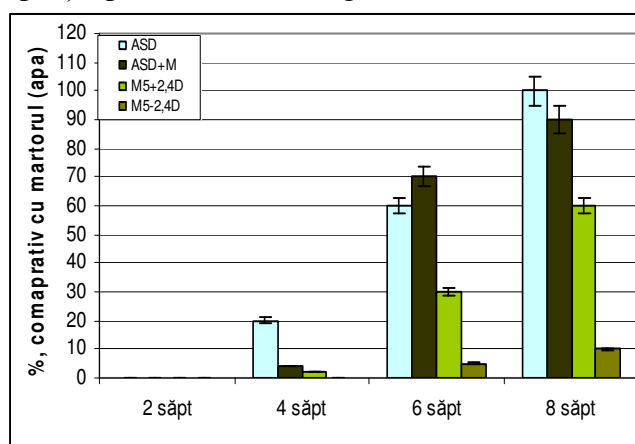


Fig. 5.14. - Recalusarea radiculară la calusul de porumb în variantele experimentale

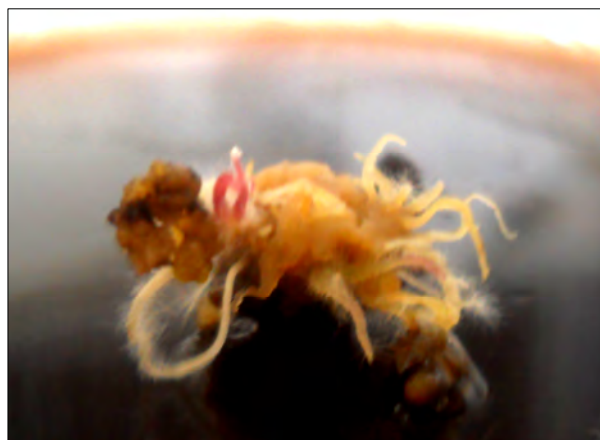


Fig. 5.15. - Fenomenul de recalusare în varianta ASD+M la 6 săptămâni de la inoculare

5.1.5. Determinarea conținutului total în polifenoli din culturile de calus de porumb influențate chimic. Deoarece numeroase cercetări au fost dedicate producerii de compuși utili prin culturi de țesuturi vegetale, înregistrându-se progrese tehnologice remarcabile, în studiul de față s-a urmărit efectul soluțiilor testate asupra capacității de sintetizare a compușilor polifenolici. Studiile bazate pe culturi de celule și țesuturi desfășurate la nivel fundamental pot fi extinse și sub forma cercetărilor aplicative care utilizează culturi la scară largă, industrială, pentru producerea comercială a metaboliților secundari.

Astfel, în urma analizei efectuate, s-a constatat că amestecul de apă săracită în deuteriu și extract polifenolic obținut din ritidoma de molid au determinat o stimulare a sintezei de compuși polifenolici cu peste 22%, comparativ cu martorul (Fig. 5.19.). De asemenea, s-a constatat că

adăugarea extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid cu concentrația 130 mg GAE/L produce o creștere a conținutului total de polifenoli din celulele calusogene cu un procentaj de 16%, comparativ cu martorul.

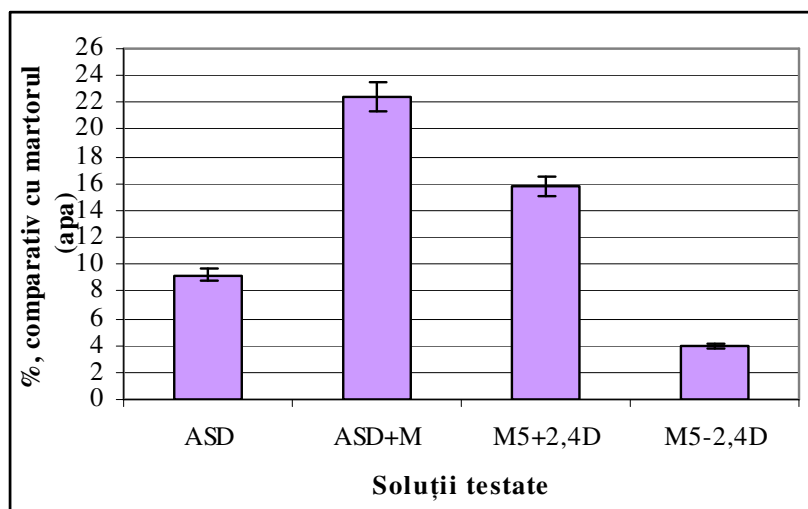


Fig. 5.19. - Variația conținutului total al polifenolilor la nivelul celulelor calusogene în funcție de condițiile de cultivare

5.2. Influența unor produse naturale asupra dezvoltării explantelor de *Lavandula angustifolia* Mill.

Având în vedere importanța lavandei în diferite domenii din viața omului, în studiul de față s-a urmărit influența unor produse naturale, cu posibilă acțiune bioregulatorie, asupra unor explante tulpinale de lavandă. Aceste explante au fost inoculate, *in vitro*, pe medii nutritive MS. În aceste medii au fost adăugate extractele polifenolice, analizate în această lucrare (ASD, ASD+M1, M1, M2, P1, P2) și evaluată influența lor asupra explantelor tulpinale de lavandă. Rezultatele obținute au fost comparate cu cele obținute pentru variantele control, unde s-a utilizat mediu de cultură MS standard.

5.2.1. Influența produselor testate asupra fenomenului de lăstărire, numărului de frunze formate și alungire

Astfel, observațiile efectuate la intervalele prestabilite, asupra explantelor tulpinale din probele martor, au relevat absența creșterii și dezvoltării (oricărei reacții) culminând cu necrozarea parțială a explantului la 30 de zile de la inoculare (Tabel 5.1., Fig. 5. 21.)

La varianta ASD s-a înregistrat debutul unui proces de lăstărire multiplă după 10 zile de la inoculare, asociat cu o ușoară creștere a numărului de frunze nou formate. În schimb, la varianta ASD + M1 nu s-au înregistrat diferențe semnificative în evoluția și dezvoltarea explantului inițial.

Tabel 5. 1. - Influența extractelor utilizate asupra numărului de frunze formate

<i>Zile</i> <i>Varianta</i>	<i>0</i>	<i>5</i>	<i>10</i>	<i>20</i>	<i>30</i>
Martor	17	17	19	19	20
ASD	34	34	34	36	38
ASD+M1	30	31	31	34	36
M1	50	54	56	58	62
M2	54	59	72	81	84
P1	44	52	62	68	72
P2	35	40	46	48	52

La explantele meristemate ce s-au dezvoltat pe mediul suplimentat cu extract polifenolic obținut din coaja de molid (M2) s-a constatat stimularea creșterii și alungirii lăstarului după 5 zile de la inoculare, proces care a continuat spectaculos prin alungirea tije principale împreună cu formarea unor noi frunze (Fig. 5. 22., Fig. 5. 23.). De asemenea, se constată în cazul acestei variante o lăstărire multiplă (Fig. 5. 24.). Varianta M1 se manifestă similar probei anterioare în ceea ce privește alungirea tije principale. Totuși se observă o diferență ce constă în numărul de frunze formate, care este mai mic în cazul variantei menționate.

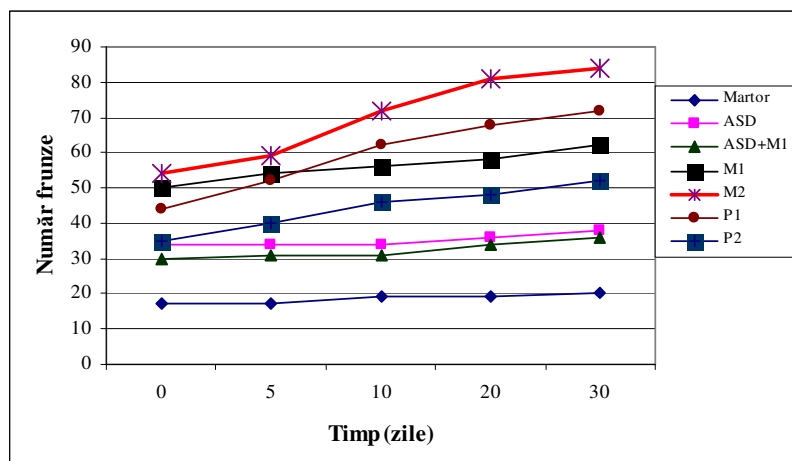


Fig. 5. 21. - Influenta extractelor utilizate asupra numarului de frunze formate

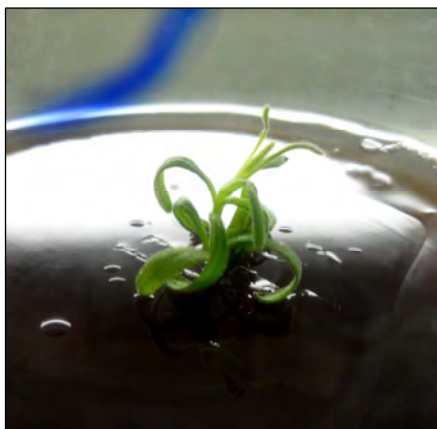


Fig. 5. 22. - Aspect privind capacitatea de alungire a tijei tulpinale (Varianta M2 – ziua 5)



Fig. 5. 23. - Aspect privind capacitatea de alungire a tijei tulpinale (Varianta M2 – ziua 30)



Fig. 5. 24. - Aspect privind capacitatea de regenerare a unor lăstari (Varianta M2)

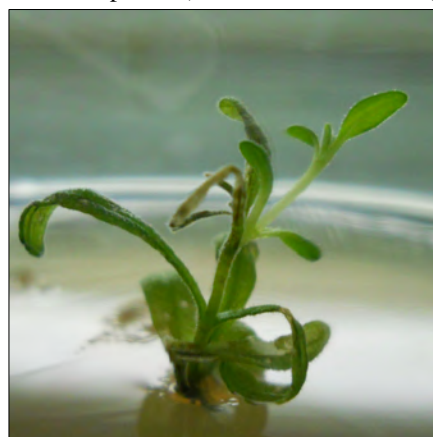


Fig. 5. 25. - Aspect privind capacitatea de regenerare a unor lăstari (Varianta P1)

Atunci când mediul de creștere a fost suplimentat cu extract apos obținut din puzderiile de cânepă (P1) se constată o frecvență ridicată a numărului de frunze formate după 5 zile de la inoculare, proces care cunoaște o ușoară diminuare după 20 de zile. Frecvența ridicată a frunzelor nou formate este asociată și cu apariția de noi lăstari după 10 zile de la inoculare (Fig. 5. 25.). În cazul variantei P2 se constată o creștere progresivă a tijeii principale însoțită de apariția de noi frunze, preponderent în intervalul 5 - 10 zile de la inoculare. După 10 zile de la inoculare se observă procesul de lăstărire în cazul unei probe din varianta P2.

În capitolul 6 – "Activitatea unor sisteme enzimatice implicate în metabolismul plantelor de porumb ce s-au dezvoltat în prezența unor produse naturale" - s-a urmărit rolul apei săracite în deuteriu, al extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid și puzderii de cânepă, asupra activității unor enzime implicate în metabolismul plantei de porumb (*Zea mays* L.). Astfel, s-a evaluat activitatea peroxidazei, catalazei și superoxid-dismutazei la nivelul frunzelor și rădăcinilor de porumb.

Prin dozarea activității enzimatice a peroxidazei, în rădăcinile plantelor de porumb, constatăm că aceasta este redusă în prezența apei cu conținut scăzut în deuteriu cu până la 21% comparativ cu martorul (Fig. 6.2.). O reducere a activității peroxidazei se înregistrează și în variantele unde în mediul de creștere s-a adăugat ASD în combinație cu extract obținut din ritidoma de molid sau în cazul extractului de molid cu concentrația 191 mg GAE/L (M1).

O creștere redusă a activității enzimatice a peroxidazei în rădăcinile de porumb, s-a înregistrat pentru varianta M2.

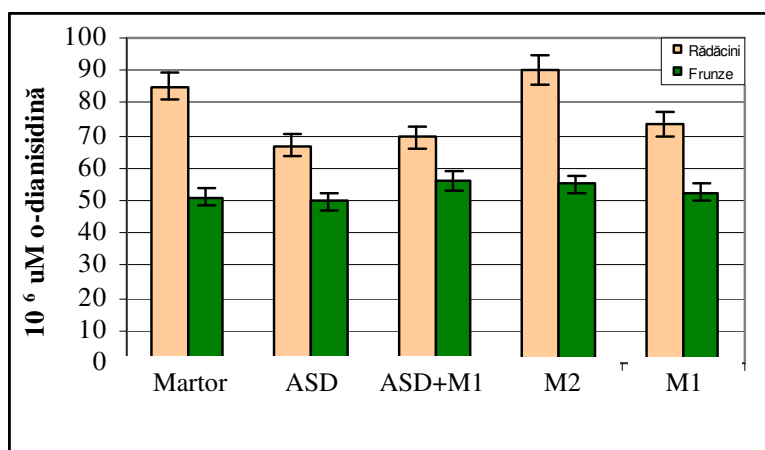


Fig. 6.2. - Variația activității peroxidazei la nivelul rădăcinilor și frunzelor de porumb în funcție de condițiile de creștere

În ceea ce privește activitatea enzimatică a peroxidazei în frunzele de porumb, se constată o reducere a acesteia comparativ cu rădăcinile în toate variantele analizate. Comparativ cu martorul se înregistrează o creștere a activității peroxidazei (peste 10%) în frunzele plantelor de porumb ce s-au dezvoltat în prezența apei cu conținut scăzut în deuteriu în amestec cu extractul polifenolic obținut din ritidoma de molid. Pentru celelalte variante nu s-au înregistrat diferențe semnificative, comparativ cu martorul.

Capitolul 7 – "Aspecte histo – anatomice ale plantulelor de porumb (*Zea mays* L.) dezvoltate sub acțiunea unor produse naturale". Pentru a evidenția efectul extractelor polifenolice și a apei săracite în deuteriu s-au urmărit unele aspecte histo - anatomice din structura internă a plantulelor de porumb. În acest capitol sunt prezentate elementele histo - anatomice pentru fiecare variantă experimentală, urmărind structura internă pentru rădăcina principală, rădăcinile adventive, mezocotil, epicotil și frunză. În cele ce urmează vor fi prezentate elementele histo - anatomice pentru variantele în care s-a adăugat extract polifenolic obținut din coaja de molid și puzderii de cânepă.

7.4. Aspecte histo-anatomice la nivelul plantelor de porumb dezvoltate în prezența extractului apos obținut din coaja de molid

La nivelul *rădăcinii* (varianta M2 – 130 mg/L) perii absorbantți sunt mai mari și mai scurți comparativ cu martorul (Fig. 7.19.a). Exoderma este deja schițată, formată din celule mult mai mari decât cele rizodermice, dar cu pereții abia în curs de suberificare. Cavitățile aerifere din parenchimul cortical ori lipsesc, ori sunt în curs de edificare. Endoderma are cele mai multe celule în stadiul primar (cu îngroșările Caspary) puține din ele prezentând și peretele intern îngroșat (Fig. 7.19.b). Numărul de fascicule conducătoare este mai mare, comparativ cu martorul (17 de lemn, 17 de liber), ca și numărul vaselor centrale de metaxilem (6). Parenchimul din jurul vaselor centrale de metaxilem este moderat sclerificat și lignificat.

La o concentrație mai mare a extractului (varianta M1 – 195 mg/L) s-a observat că perii absorbantți sunt foarte rari, exoderma are celule cu pereții slab suberificați, iar parenchimul cortical prezintă cavități aerifere. Endoderma este de tip terțiar, celulele prezintă atât pereții radiari, cât mai ales cei interni mai îngroșați decât ceilalți și parțial lignificați. Numărul fasciculelor de lemn, ca și cel al fasciculelor de liber este 15 ca și în cazul martorului, iar numărul vaselor centrale de metaxilem este egal cu cel observat la varianta M2. Procesul de lignificare este mai intens, atât la nivelul vaselor de lemn cât și la nivelul parenchimului dintre vasele centrale de metaxilem. Pe unele secțiuni s-a observat și formarea de rădăcini laterale pe cale endogenă.

Rădăcinile adventive (Fig. 7.20.a) prezintă peri absorbantți, care sunt foarte rari. Cavitățile aerifere din parenchimul cortical sunt mari și numeroase adesea unele lângă altele ori separate doar de un șir radial de celule parenchimatice. Numărul fasciculelor conducătoare este mai mic (10). Endoderma se află în stadiul primar iar periciclu are celulele cu pereții puțin îngroșați (Fig. 7.20.b).

La o concentrație mai ridicată a extractului aplicat (195 mg/L) perii absorbantți sunt foarte rari sau lipsesc. Exoderma este moderat suberificată iar cavitățile aerifere din parenchimul cortical sunt mai rare, mai mici și de orientare diferită. Numărul fasciculelor conducătoare este constant. Vasele centrale de metaxilem nu mai sunt dispuse pe un cerc, ci trei sunt grupate și unul este separat, cu parenchimul dintre ele moderat lignificat.

La nivelul *mezocotilului* (Fig. 7.21.) parenchimul cortical este lipsit de cavități aerifere. Vasele de xilem caracteristice rădăcinii au o dispoziție foarte neregulată iar numărul fasciculelor libero-lemnoase caracteristice tulpinii este mai mic. La o concentrație mai ridicată a extractului (195 mg/L) în parenchimul cortical se schițează câteva cavități aerifere iar fasciculele conducătoare libero-lemnoase au o dispoziție mai regulată și sunt de mărime diferită, ca și cele caracteristice rădăcinii.

Părțile laterale ale *coleoptilului* (Fig. 7.22.a și b) sunt mult mai subțiri (uneori reduse la cele două epiderme și un strat de celule clorenchimatice). Cele două fascicule conducătoare sunt tipic colateral închise (liberul fiind înconjurat doar parțial de vasele lemnoase). Cavitățile aerifere din mezofil sunt în curs de formare. La concentrația de 195 mg/L grosimea coleoptilului la cei 2 poli ai secțiunii este cu puțin mai mare decât pe părțile laterale. Cavitățile aerifere din mezofil lipsesc, iar cele două fascicule conducătoare au structură asemănătoare cu cele de la varianta M2, totdeauna liberul fiind mai abundent decât lemnul.

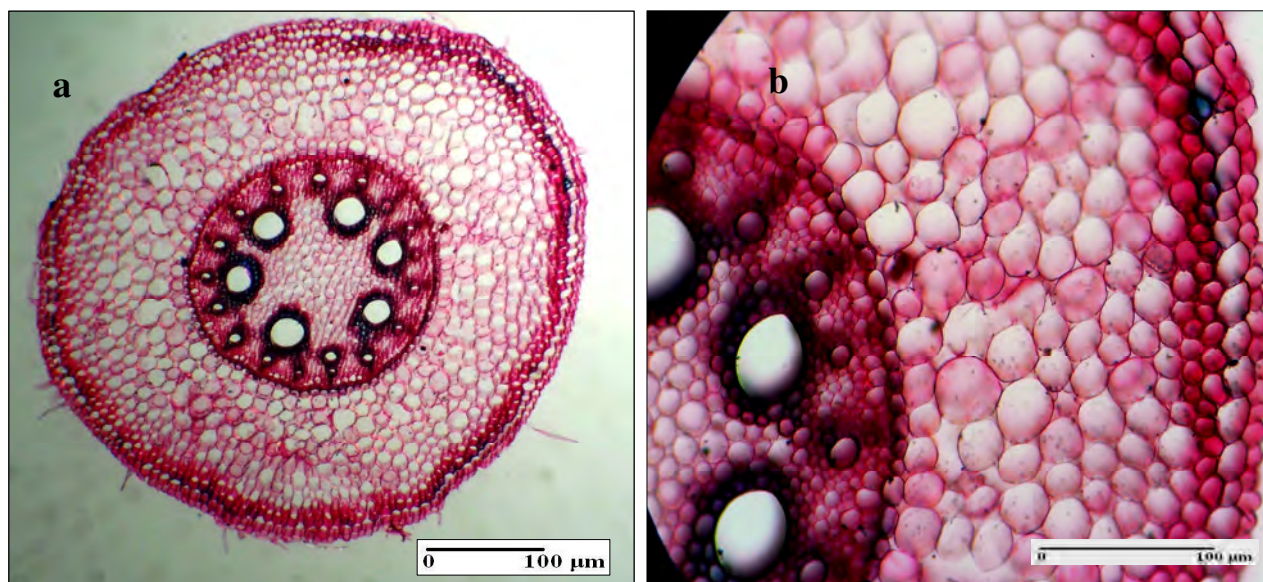


Fig. 7.19. – Structura internă a rădăcinii principale (M2) a – aspect general, b – detaliu (măduvă, cilindru central, scoarță, rizodermă)

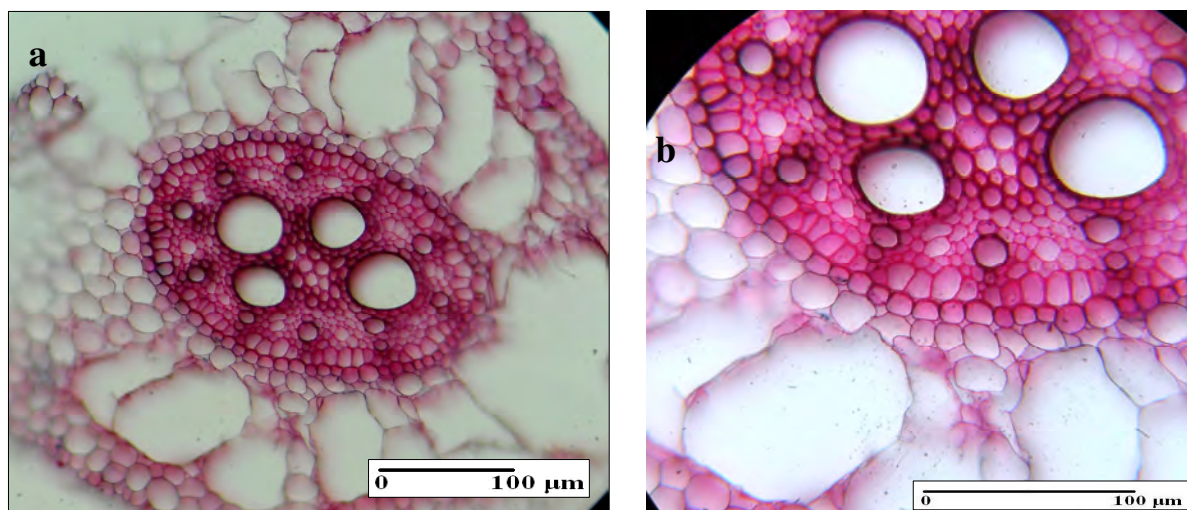


Fig. 7.20. – Structura internă a rădăcinii adventive (M2), a – aspect general, b – cilindru central și scoarța cu cavitățile aerifere.

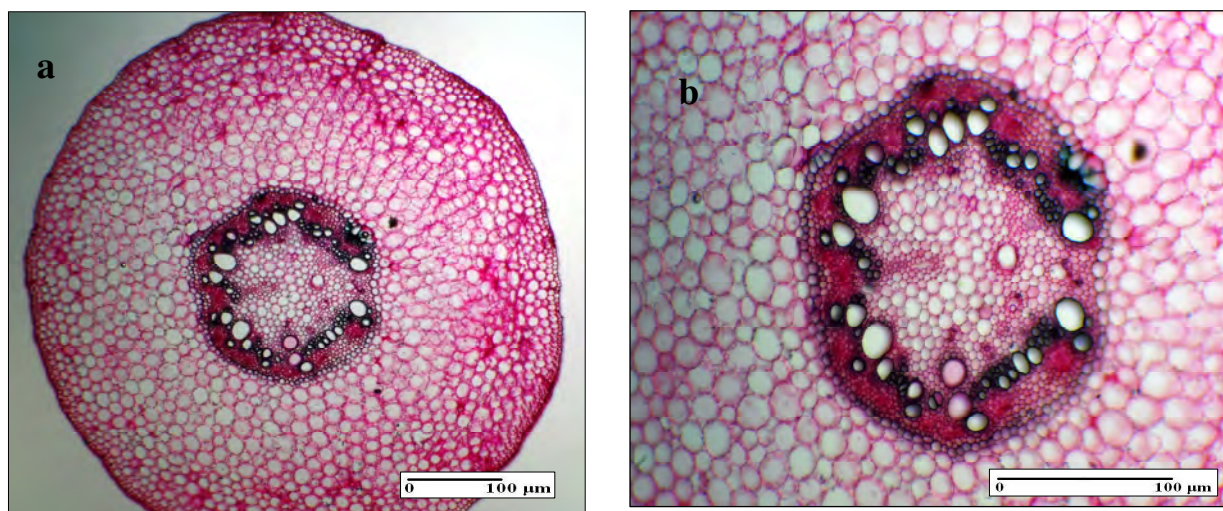


Fig. 7.21. – Structura internă a mezocotilului (M2), a – aspect general, b – cilindru central

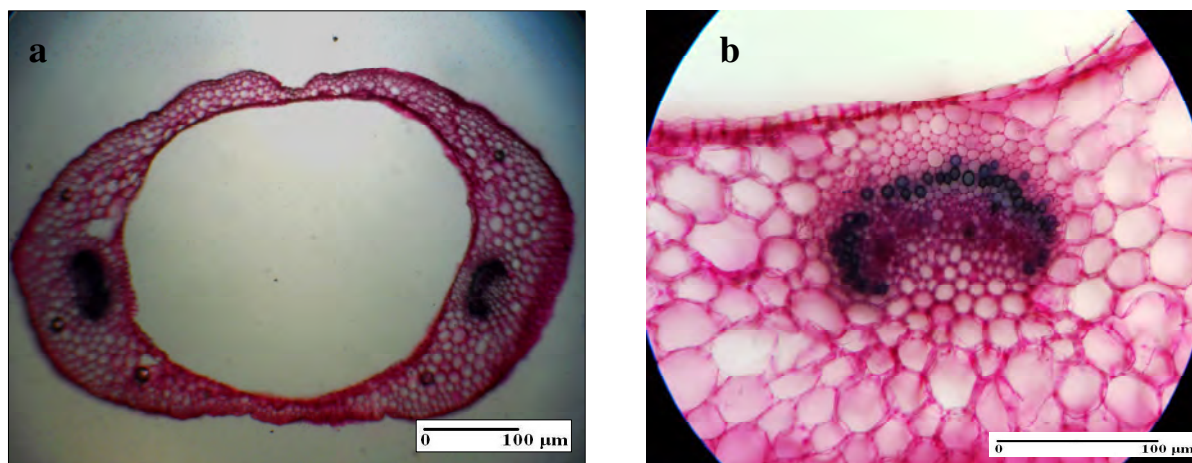


Fig. 7.22. – Structura internă a coleoptilului (M2), a – aspect general, b – fascicul conductor

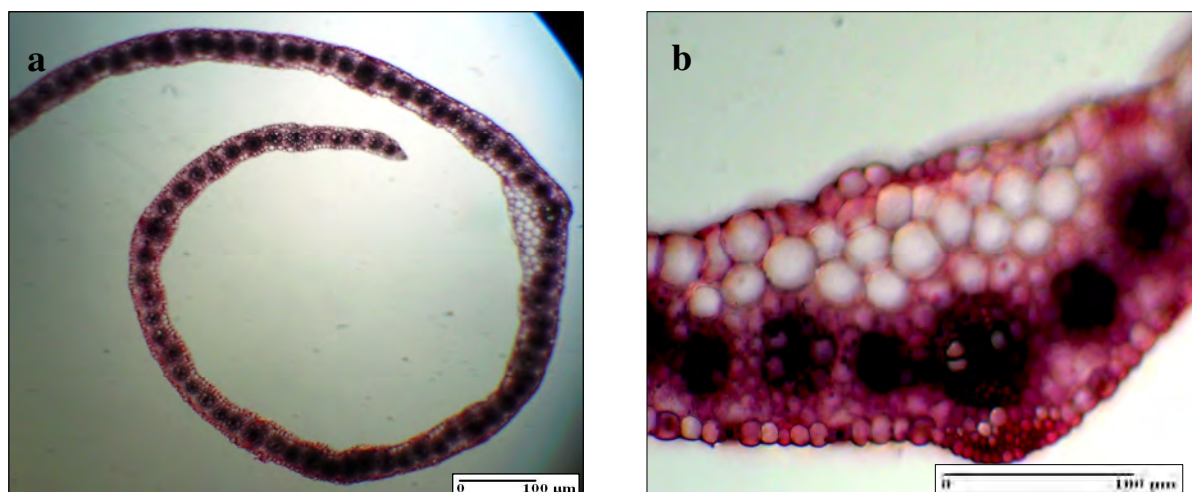


Fig. 7.23. – Structura internă a limbului (M2), a – aspect general, b – fascicule conducătoare

La nivelul frunzei numărul fasciculelor conducătoare este mult mai mare comparativ cu martorul, fasciculele cele mai groase sprijinindu-se de cele două epiderme prin intermediul unor stâlpi de sclerenchim formați din celule cu pereții moderat îngroșați, dar nelignificați încă (Fig. 7.23.a și b). La această variantă se distinge clar nervura mediană ce proemină ușor la fața inferioară a limbului, are mai mult mezofil cu parenchim incolor la fața superioară și parenchim ușor sclerificat la fața inferioară. Fasciculul conductor al nervurii mediane este mai mare (mai gros) dar fără o teacă perifasciculară completă; în structura sa vasele lemnoase au pereții vizibil îngroșați și lignificați. Față de martor la această variantă se observă deja grupe de celule buliforme la nivelul epidermei superioare. La o concentrație mai ridicată a extractului aplicat nu se înregistrează diferențe majore.

7.5. Aspecte histo-anatomice la nivelul plantelor de porumb dezvoltate în prezența extractului apos obținut din puzderiile de cânepă

Rizoderma, de la nivelul *rădăcinii principale* (Fig. 7.24.), prezintă numeroși peri absorbantși lungi și flexuoși. Exoderma este abia schițată, având celule mai mari decât cele endodermice. În parenchimul cortical sunt numeroase cavități aerifere, de mărime diferită și vizibil alungite radial, endoderma fiind de tip primar. Numărul vaselor centrale este mai mare (8), toate fiind înconjurate de un parenchim nesclerificat și nelignificat. Parenchimul medular este vizibil mai redus decât la martor și varianta M1.

La o concentrație mai ridicată (233 mg /L) se observă (Fig. 7.25.) că endoderma este în stadiul de tranziție de la tipul primar la cel terțiar, numărul fasciculelor conducătoare fiind mai

mic (14 lemn, 14 liber), iar cel al vaselor centrale de metaxilem este de 6, toate înconjurate de câte un strat de celule parenchimatice lignificate.

Rădăcinile adventive (Fig. 7.26.) prezintă peri absorbantă frecvenți și lungi cu exoderma abia schițată, celulele ei având pereții celulozici și endoderma este de tip primar. Cavitățile aerifere din parenchimul cortical sunt numeroase, multe alăturate, altele separate de către un șir radial de celule parenchimatice cu un pericicl moderat sclerificat. Numărul fasciculelor conducătoare este mai mare (14), iar vasele centrale de metaxilem (5) sunt dispuse pe un cerc. La o concentrație mai ridicată (233 mg/L) perii absorbantă sunt mai puțin frecvenți iar exoderma este nesclerificată. Parenchimul cortical cuprinde multe cavități aerifere iar endoderma este de tip primar. Numărul fasciculelor conducătoare este mai mare, comparativ cu martorul (13 de lemn, 13 de liber) ca și cel al vaselor centrale de metaxilem (6) înconjurate fiecare de un strat de celule parenchimatice lignificate.

Mezocotilul prezintă celule epidermice cu peretele vizibil îngroșat și acoperit de cuticulă, iar stratul hipodermic este moderat colenchimatizat (Fig. 7.27.). Endoderma este de tip primar iar vasele lemnoase au diametrul mai mic decât la martor (Fig. 7.28.). De regulă, alternează fascicule sau grupe de fascicule libero-lemnoase cu șiruri radiare de vase xilemice de tip radicular (Fig. 7.29.). La o concentrație mai ridicată în parenchimul cortical sunt vizibile cavități aerifere în curs de edificare iar endoderma este de tip terțiar. Cele mai multe vase de metaxilem radicular se află adânc înfipte în parenchimul medular față de fasciculele libero-lemnoase aflate în contact direct cu periciclul. Toate vasele de xilem au pereții intens lignificați.

Coleoptilul (Fig. 7.30.) are mezofilul de la cei doi poli mult mai gros decât pe părțile laterale, unde este redus adesea doar la cele două epiderme. Cavitățile aerifere din mezofil lipsesc iar fasciculele conducătoare au mai mult o formă de semilună, lemnul înconjurând în bună parte liberul. În ambele fascicule lemnul este mai puțin dezvoltat comparativ cu martorul (Fig. 7.31.). La o concentrație mai ridicată, conturul secțiunii transversale este eliptic circular, mezofilul de la cei doi poli fiind puțin mai gros decât cel de pe flancuri. Celulele epidermei exterioare sunt vizibil alungite radial și sunt mult mai mari decât cele ale epidermei interioare. Cavitățile aerifere din mezofil lipsesc. Cele două fascicule libero-lemnoase au liberul înconjurat în cea mai mare parte de vase lemnoase.

Frunza (Fig. 7.32. și Fig. 7.33.) are stomate cu camere suprastomatice mai puțin adânci, celulele buliforme fiind deja edificate în epiderma superioară. Celulele din mezofilul hipodermic sunt ușor alungite radial pe ambele fețe ale limbului foliar. Spre marginea limbului mezofilul se reduce la 2-3 straturi de celule, iar la margine sunt vizibile doar cele 2 epiderme. La o concentrație mai ridicată mezofilul hipodermic are doar celule ușor alungite radial.



Fig. 7.24. – Structura internă a rădăcinii principale (P2)



Fig. 7.25. – Structura internă a rădăcinii principale (P1)

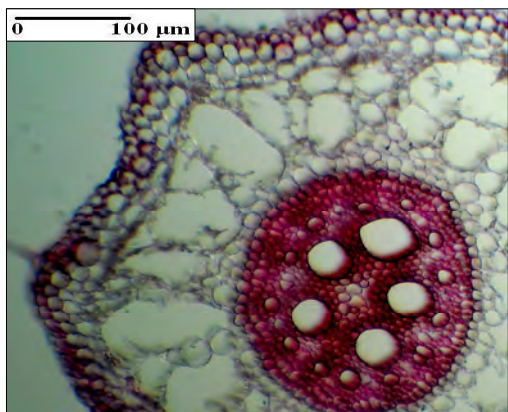


Fig. 7.26. – Structura internă a rădăcinii adventive (P2)

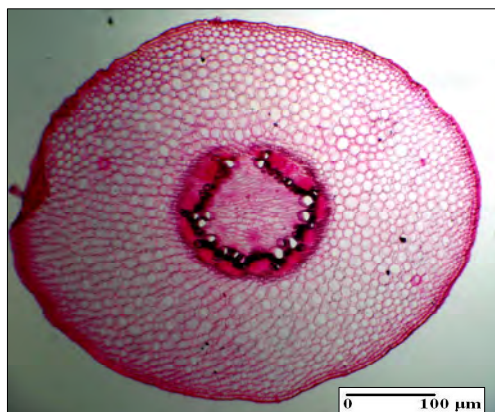


Fig. 7.27. – Structura internă a mezocotilului (P2)

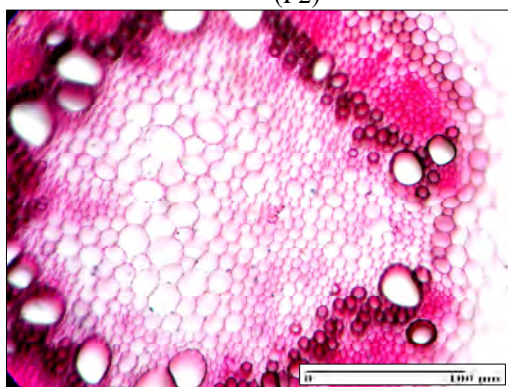


Fig. 7.28. – Cilindrul central din structura internă a mezocotilului (P2)

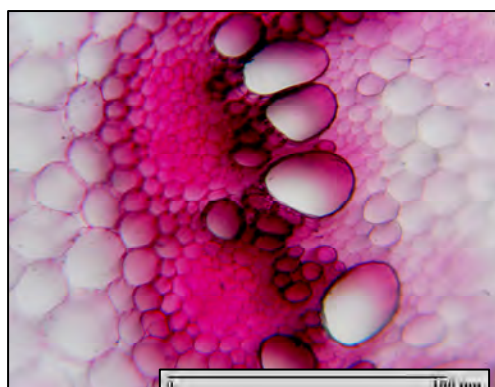


Fig. 7.29. – Vase conducătoare din structura internă a mezocotilului (P2)



Fig. 7.30. – Structura internă a coleoptilului (P2)

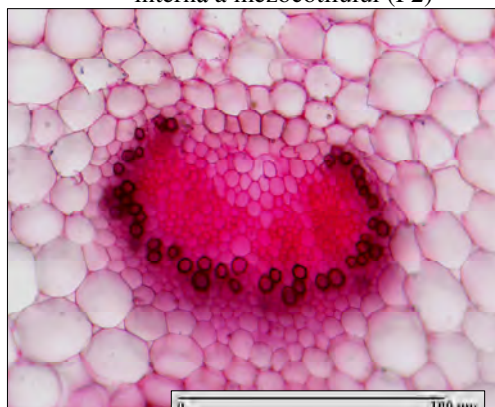


Fig. 7.31. – Fascicul conductor din structura internă a coleoptilului (P2)

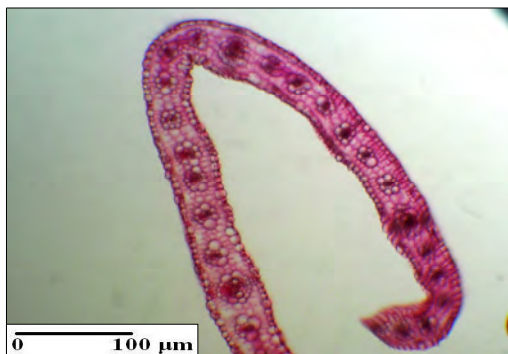


Fig. 7.32. – Structura internă a limbului (P2)

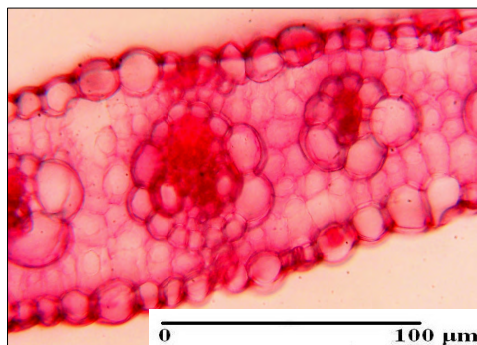


Fig. 7.33. – Fascicule conducătoare din structura internă a limbului (P2)

În **capitolul 8 - Efectele citogenetice ale tratamentului cu compuși polifenolici naturali cu structură aromatică la plantele de porumb (*Zea mays* L.)** - având în vedere efectele pozitive al extractelor obținute din plante, s-au urmărit efectele citogenetice ale tratamentului cu compuși polifenolici naturali cu structură aromatică la plantele de porumb (*Zea mays* L.), prezenți în extractele apoase utilizate.

8.1.1. Indicele mitotic și frecvența fazelor diviziunii mitotice

Unul dintre cele mai importante elemente de estimare a supraviețuirii celulare, precum și a citotoxicității exercitate de unii agenți xenobiotici, îl constituie stabilirea indicelui mitotic, definit ca procentul dintre numărul celulelor aflate în diviziune și numărul total de celule analizate.

În cazul folosirii extractului din coaja de molid și puzderii de cânepă frecvența celulelor în mitoză este superioară celei de la control, maximul acestui parametru semnalându-se la varianta M2 (18, 25%), evidențiindu-se un ușor efect mitogen (Figura 8.1., Tabelul 8.1.).

Yang-Yan și colab., 2010, au studiat acțiunea unor extracte apoase de *Trifolium repens* asupra celulelor radiculare de *Vicia faba* și au observat creșteri ale indicelui mitotic la concentrații mici și scăderi ale acestui parametru la concentrații mari ale extractului, date conforme cu cele obținute de noi.

Tabel 8.1. - Frecvența celulelor în interfază și diviziune din apexul radicular de *Zea mays* L., sub influența extractului apos din coaja de molid și puzderii de cânepă

Varianta	Total celule analizate	Total celule în diviziune		Total celule în interfază	
	Nr.	Nr.	%	Nr.	%
Control	2150	1955	10,94	235	89,06
ASD	2033	1782	12,35	251	87,65
ASD+M1	1908	1665	12,74	243	87,26
M1	2133	1928	9,62	205	90,38
M2	2329	1904	18,25	425	81,75
P1	2329	2054	11,81	275	88,19
P2	2083	1712	17,82	355	82,18

La variantele experimentale, repartizarea procentuală a celor patru faze ale diviziunii mitotice este asemănătoare cu cea de la control, în sensul că, ponderea majoritară o au celulele aflate în profază, iar metafazele, anafazele și telofazele realizează un pattern asemănător (Fig. 8. 2., Tabel 8.2.). La variantele M2 și P2, unde indicele mitotic are valoarea cea mai mare, concomitent creșterii frecvenței celulelor aflate în profază, se înregistrează o acumulare a anafazelor și telofazelor, fenomen ce poate fi atribuit întârzierii clivajului longitudinal al cromozomilor și a migrării acestora spre cei doi poli.

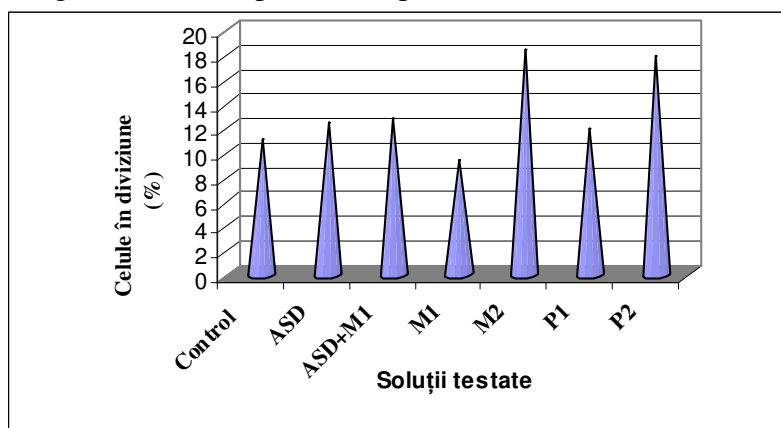


Fig. 8.1. - Variația indicelui mitotic în celulele din apexul radicular de porumb sub influența soluțiilor testate

Tabel 8.2. - Frecvența celulelor în diviziunea mitotică din apexul radicular de *Zea mays* L., sub influența extractului apos din coaja de molid și puzderii de cânepă

Varianta	Total celule în diviziune		Total celule în profază		Total celule în metafază		Total celule în anafază		Total celule în telofază	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Control	235	10,94	112	5,21	56	2,6	27	1,25	40	1,86
ASD	251	12,35	123	6,05	51	2,5	34	1,67	43	2,11
ASD+M1	243	12,74	128	6,71	44	2,3	32	1,67	39	2,04
M1	205	9,62	89	4,17	32	1,5	33	1,54	49	2,29
M2	425	18,25	228	9,79	65	2,8	55	2,36	79	3,39
P1	275	11,81	102	4,38	59	2,5	47	2,01	67	2,87
P2	355	17,82	202	10,13	56	2,8	42	2,11	55	2,76

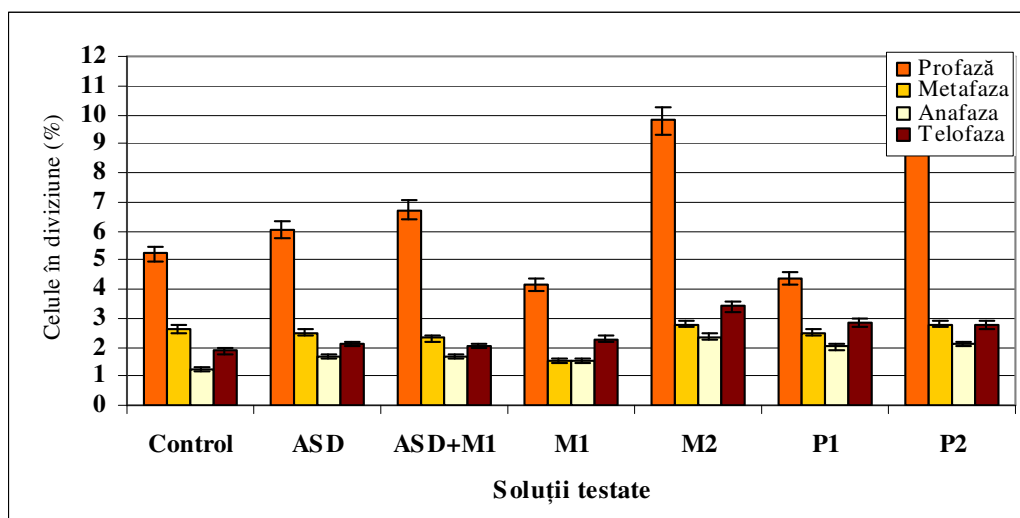


Fig. 8.2. - Frecvența fazelor diviziunii mitotice în celulele din apexul radicular de porumb sub influența soluțiilor testate

În imaginile ce urmează (Fig. 8.3. – 8.11.) sunt evidențiate aspecte ale celulelor aflate în diferite faze ale diviziunii. Imaginile sunt prezentate selectiv pentru variantele experimentale luate în studiu.

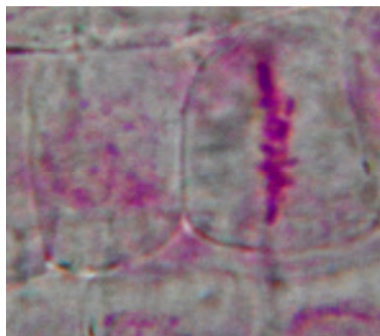


Fig. 8.3. - Metafaza
(ASD + M1)

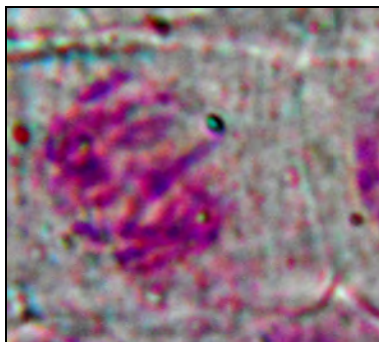


Fig. 8.4. - Profaza (martor)

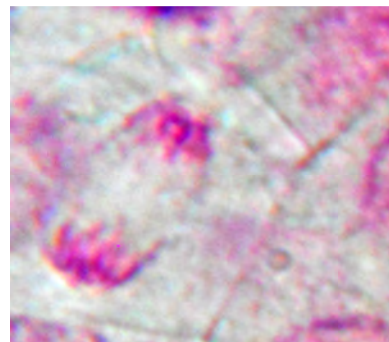


Fig. 8.5. - Anafaza cu fragmente
(M1)

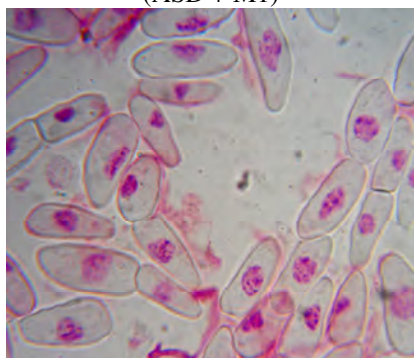


Fig. 8.6. - Celule în interfază (M2)

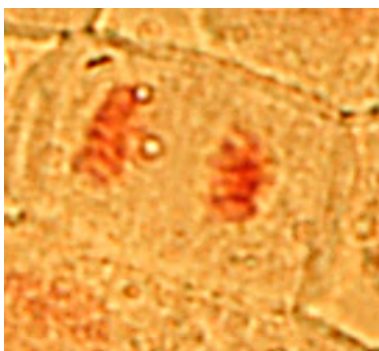


Fig. 8.7. - Telofaza (P2)



Fig. 8.8. - Metafaza (ASD)



Fig.8.9. - Aspect al cormozomilor în
pro-metafaza (martor)

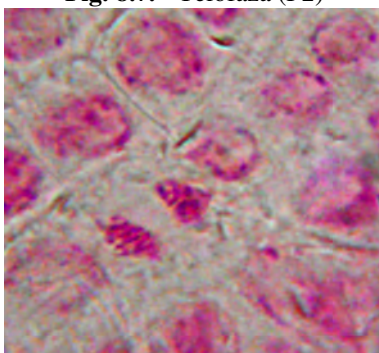


Fig. 8.10. - Ana-telofaza (M2)

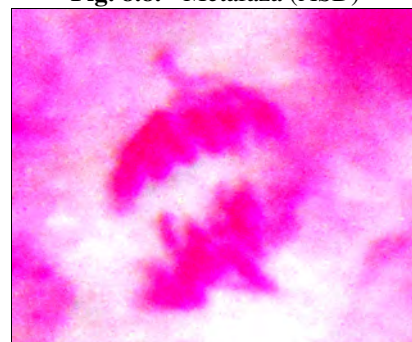


Fig. 8.11. - Ana-telofaza cu
cromozomi expulzați (M1)

8.1.2. Frecvența celulelor cu aberații

Pentru stabilirea modului de afectare a desfășurării procesului de diviziune, determinarea principalelor tipuri de aberații și a frecvenței acestora constituie un alt obiectiv al studiului nostru, știut fiind faptul că orice agent, fizic sau chimic, poate exercita un efect clastogen (este capabil să producă rupturi cromozomiale) sau turbagen (termen propus de Brøgger - citat de Grant, 1978), adică are capacitatea de a induce dereglări mitotice sau meiotice, fără afectarea directă a ADN-ului.

Tabel 8.3. - Frecvența celulelor cu aberații în interfaza și diviziune din apexul radicular de *Zea mays* L., sub influența extractului apos din coaja de molid și puzderii de cânepă

Varianta	Total celule în interfază	Celule normale în interfază		Total celule în diviziune		Aberații în ana - telofaze	
	Nr.	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Control	1955	1955	100	235	10,94	3	0,14
ASD	1782	1782	100	251	12,35	9	0,44
ASD+M1	1665	1665	100	243	12,74	8	0,42
M1	1928	1928	100	205	9,62	29	1,36
M2	1904	1904	100	425	18,25	14	0,61
P1	2054	2054	100	275	11,81	25	1,07
P2	1712	1712	100	355	17,82	18	0,91

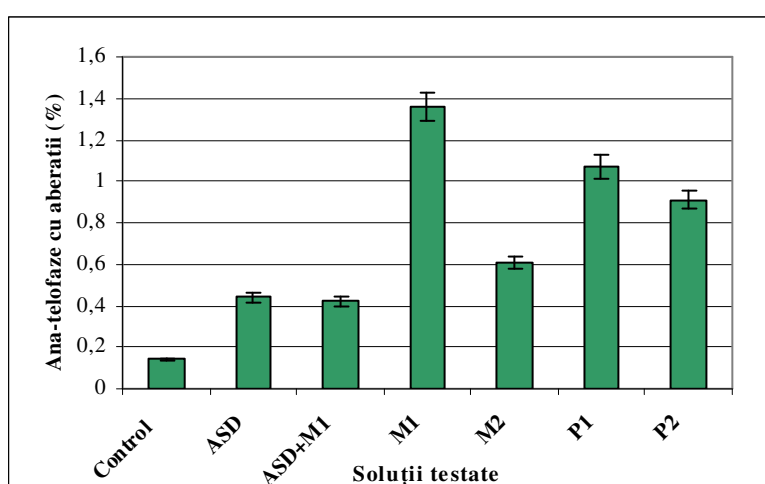


Fig. 8.12. - Frecvența celulelor cu aberații ana-telofazice din apexul radicular de porumb sub influența soluțiilor testate

În cazul aberațiilor ana - telofazice la variantele M1 și P1 se înregistrează un maximum al acestora (Fig. 8.12., Tabel 8.3.). Prezența aberațiilor din diviziune se corelează cu acumularea unui număr mare de celule aflate în anafază și telofază. Creșterea procentajului de celule cu aberații este acompaniată de lărgirea gamei acestora. Astfel, la control predomină punțile simple și multiple și cromozomii întârziați sau expulzați. În cazul variantelor de tratament o pondere însemnată o au ana-telofazele (A-T) cu punți, cu cromozomi întârziați, precum și aberațiilor complexe de tipul: A-T+punți+cromozomi întârziați și/sau expulzați, A-T multipolare + punți (Fig. 8.13., Tabel 8.4.).

Tabel 8.4. - Frecvența tipurilor de aberații ana-telofazice din apexul radicular de *Zea mays* L., sub influența extractului apos din coaja de molid și puzderii de cânepă

	Punți		Frag- mente	Crs. Întârziați	Crs. Expulzați	A-T multi- polare	A cu micro- nuclei	T cu micro- nuclei	Aberații complexe
	1	n							
	%	%							
Control	0,013	0,023	0,0000	0,0552	0,0412	0,0000	0,0000	0,0000	0,0116
ASD	0,1780	0,1898	0,0000	0,0237	0,0319	0,0000	0,0000	0,0117	0,0137
ASD+M1	0,1023	0,1016	0,0000	0,0574	0,0000	0,0000	0,0575	0,0000	0,1021
M1	0,1754	0,0287	0,0000	0,1387	0,1315	0,0000	0,0153	0,0247	0,0901
M2	0,4870	0,2551	0,0000	0,2493	0,1435	0,0000	0,0000	0,0000	0,1739
P1	0,1932	0,0687	0,0000	0,2187	0,2041	0,0000	0,0000	0,1217	0,1101
P2	0,3223	0,4146	0,0000	0,1874	0,0000	0,0000	0,0575	0,0598	0,0321

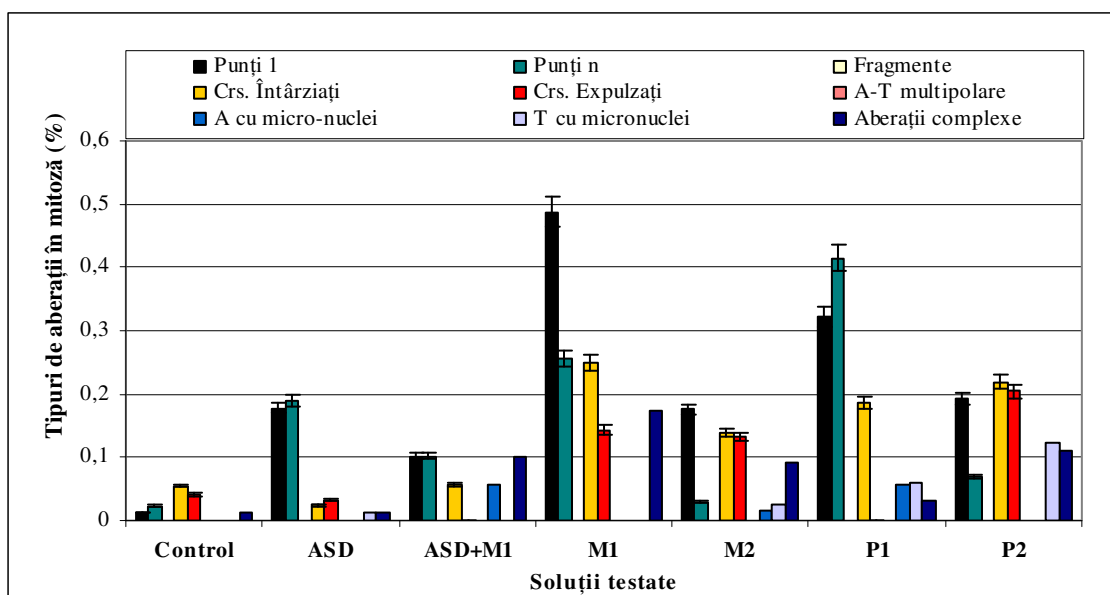


Fig. 8.13. - Principalele tipuri de aberații în diviziunea mitotică din apexul radicular de porumb sub influența soluțiilor testate

Întrucât la variantele M2 și P2 indicele mitotic atinge valori mari, frecvența aberațiilor este apropiată controlului, deci se poate spune că, în concentrații mici extractul apos din coaja de molid/puzderii de cânepă are efecte pozitive, care pot fi puse pe seama proprietăților antioxidante ale acestuia.

Studiile efectuate „*in vitro*” au dovedit acțiunea antioxidantă a unor izoflavone prezente în extractele de trifoi roșu, și anume, genisteina care inhibă formarea peroxidului de hidrogen și a anionilor superoxid (Knight și Eden, 1996). În cazul daidzeinei, o altă izoflavonă, rezultatele sunt contradictorii: o serie de studii au indicat proprietăți antioxidante, însă, în alte experimente daidzeina a cauzat un stres oxidativ la nivel celular (Röhrdanz și colab., 2002).

Rezultate asemănătoare au fost obținute de către Yang-Yan și colab., 2010, care, utilizând extracte apoase de trifoi roșu, au constatat intensificări ale ratei aberațiilor în apexul radicular de *Vicia faba*, proporțional cu creșterea concentrației extractului. Aberațiile cromozomiale observate au fost reprezentate de micronuclei, fragmente cromozomiale, punți, precum și cromozomi întârziați.

Astfel, aceste observații au fost înregistrate și în studiul de față. La concentrații mai ridicate ale extractelor utilizate, s-a înregistrat un număr mai ridicat al celulelor cu aberații cromozomiale comparativ cu cel înregistrat la concentrații mai scăzute ale soluțiilor testate.

8.2. Determinarea deteriorării ADN-ului

Pentru a identifica modificările survenite, la nivelul ADN-ului, în urma tratamentului cu extracte polifenolice și apa săracită în deuteriu, s-a folosit metoda RAPD, obținându-se profiluri caracteristice.

Astfel, s-a realizat amplificarea ADN-ului extras din apexul radicular al plantulelor de porumb dezvoltate în medii de creștere suplimentate cu extracte apoase polifenolice de concentrații diferite cât și cu apa săracită în deuteriu. Pentru aceasta s-au folosit doi primeri și anume: primerul OPB 10 Marker – 100 pb și primerul OPA 2 Marker – 100pb.

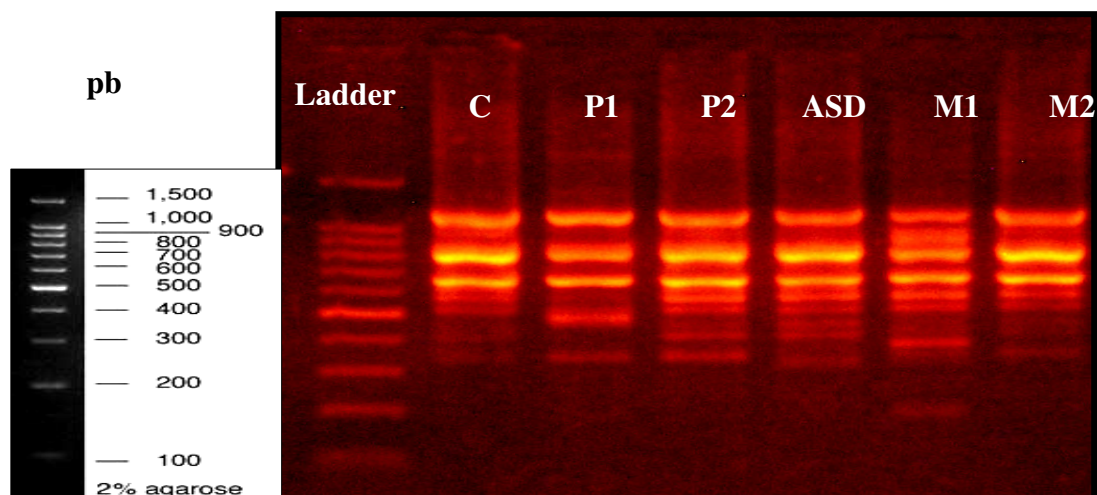


Fig. 8.14. – Electroforegrama amplificatelor prin RAPD, ce arată influența extractelor polifenolice și a apei sărăcite în deuteriu, asupra ADN-ului extras din celulele apexului radicular de la porumb (Primer OPB 10 Marker - 100pb)

Din fig. 8.14 se poate observa că profilurile sunt modificate, fapt ce ne indică o interacțiune directă sau indirectă, a polifenolilor cu ADN-ul. Efectul cel mai nociv asupra celulelor din apexul radicular îl reprezintă extractul de molid de concentrație 191 mg/L (M1). Aceste profiluri prezintă câteva benzi de intensitate slabă și de o lungime maximă de 600 perechi de baze.

Se poate constata, în cazul extractului obținut din coaja de molid, că intensitatea benzilor scade la o concentrație mai ridicată a extractului aplicat plantei. Această observație poate fi pusă pe seama apariției sau dispariției locurilor de îmbinare a primerilor. Dacă profilul M2, când concentrația compușilor polifenolici este de 130mg/L, nu pare a fi modificat drastic, la creșterea acesteia (M1 – 191 mg/L) profilul apare mult mai slab, datorită numărului mare de modificări survenite în secvența nucleotidică (Fig. 8.15.).

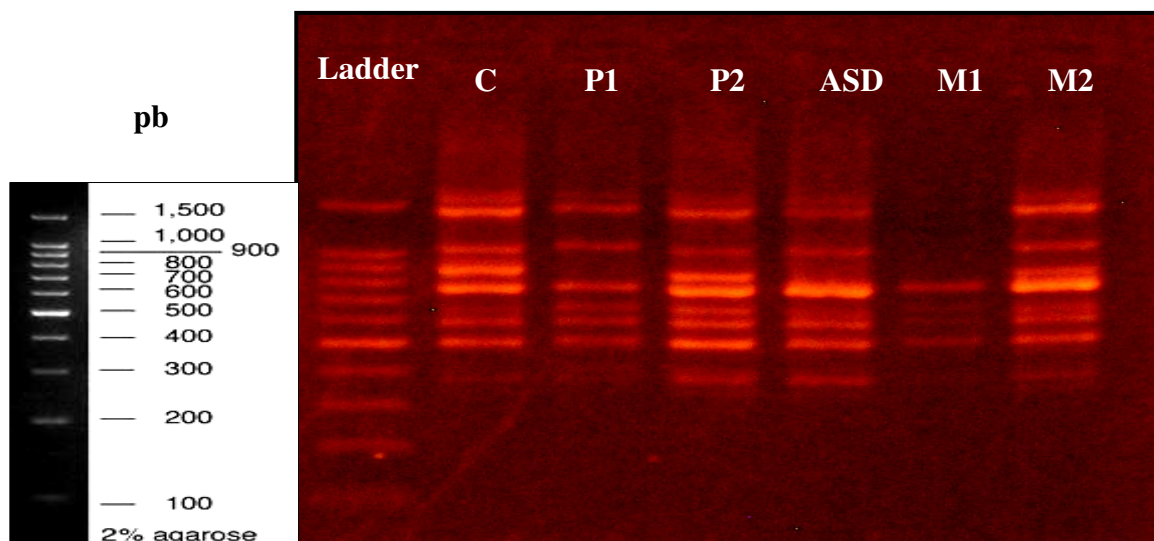


Fig. 8.15. - Electroforegrama amplificatelor prin RAPD, ce arată influența extractelor polifenolice și a apei sărăcite în deuteriu, asupra ADN-ului extras din celulele apexului radicular de la porumb (Primer OPA 2 Marker - 100pb)

Analizând profilurile obținute pentru ASD (apa sărăcită în deuteriu) se observă că nu sunt mari modificări în raport cu martorul. Singura diferență, în cazul amplificării cu primerul OPB 10 marker – 100 pb (Fig. 8.14.), este că benzile dintre 300 și 400 pb sunt mai bine identificate decât la martor. În cazul amplificării cu primerul OPA 2 Marker – 100 pb (Fig. 8.15), banda principală din zona 800 pb lipsește la varianta ASD, la martor fiind bine identificată.

În ceea ce privește influența extractului obținut din puzderiile de cânepă, din analiza electroforegramelor din fig 8.14. și 8.15., se constată că benzile din P1 au o intensitate mai slabă, fiind și într-un număr mai mic, comparativ cu martorul. În schimb benzile din P2 (unde concentrația extractului aplicat este mai mică) sunt mai numeroase și au o intensitate mai ridicată, comparativ cu benzile din C (martor).

De asemenea, prin analiza fig. 8.14. (amplificare cu Primer OPB 10 Marker - 100pb) se poate observa că benzile din P1 și din P2, ce depășesc 400 perechi de baze, sunt mai intense și mai bine delimitate comparativ cu ale martorului. Această observație s-a constatat și prin amplificare cu primerul OPA 2 Marker – 100 pb (Fig. 8.15.).

Prin metoda RAPD s-a observat că efectul generat de extractul din coajă de molid și puzderii de cânepă în concentrații ridicate este unul de inactivare a ADN-ului. În schimb la concentrații mai scăzute cantitatea de ADN este mai ridicată, fiind manifestată în electroforegrame prin benzi mai intense și mai numeroase, comparativ cu ale martorului.

Capitolul 9 - Influența puzderiilor de cânepă în procese de bioremediere a solurilor poluate – include rezultate referitoare la influența puzderiilor de cânepă în procese de bioremediere a unor soluri poluate, prelevate din apropierea termocentralei C.E.T. Iași.

9.2.5. Determinarea concentrației ionilor metalici

Determinarea concentrațiilor ionilor de cupru acumulați la nivelul diferitelor părți componente ale plantelor de rapiță au evidențiat faptul că, suplimentarea mediului de creștere cu puzderii de cânepă determină o îmbunătățire a procesului de bioacumulare a ionilor metalici (Fig. 9.12.). Prezența amendamentelor naturale într-un mediu poluat induce o stimulare a procesului de bioacumulare a ionilor metalici în toate variantele experimentale (S11, S22, S33).

Prin determinarea concentrațiilor ionilor de plumb acumulați la nivelul diferitelor părți componente ale plantelor de rapiță s-a evidențiat faptul că, suplimentarea mediului de creștere cu puzderii de cânepă determină o îmbunătățire a procesului de bioacumulare a ionilor metalici pentru variantele S₁₁ și S₂₂ (Fig. 9.13.). În cazul variantei S₃₃ concentrația ionilor de plumb acumulați în plantele ce s-au dezvoltat în mediul cu amendamente este mai scăzută comparativ cu S₃.

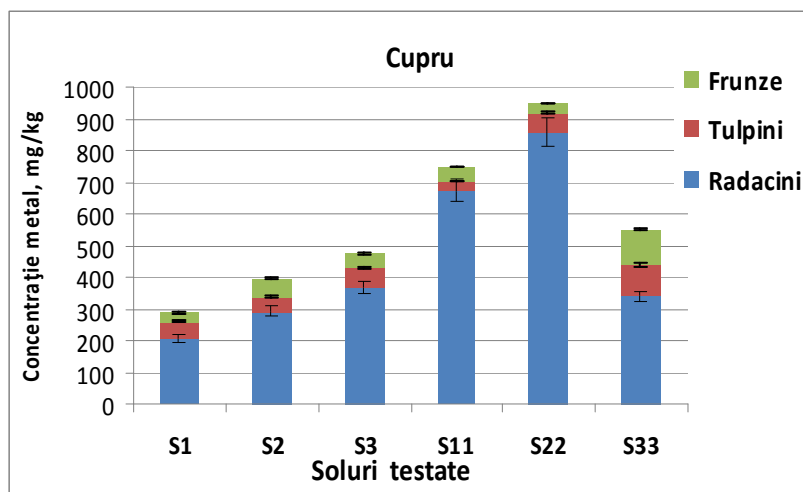


Fig. 9.12. - Variația concentrației ionilor de cupru la nivelul diferitelor organe vegetative ale plantelor de rapiță cultivate în prezența amendamentelor naturale

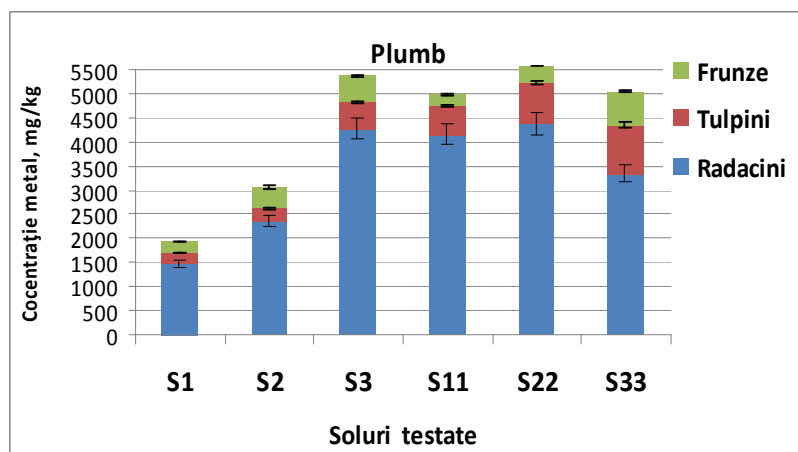


Fig. 9.13. - Variația concentrației ionilor de plumb la nivelul diferitelor organe vegetative ale plantelor de rapiță cultivate în prezența amendamentelor naturale

În urma determinării concentrației ionilor de fier acumulați la nivelul diferitelor părți componente ale plantelor de rapiță s-a evidențiat faptul că, suplimentarea mediului de creștere cu puzderii de cânepă determină o reducere a procesului de bioacumulare a ionilor metalici pentru variantele S₂₂ și S₃₃ (Fig. 9.14.). În cazul variantei S₁₁ concentrația ionilor de fier acumulați în plantele ce s-au dezvoltat în mediul cu amendamente este mai ridicată comparativ cu S₁. Analizând rezultatele obținute se constată că în prezența puzderiilor capacitatea de bioacumulare în special pentru ionii de cupru și plumb, crește. De asemenea, la nivelul plantelor unde concentrația de ioni metalici este mai ridicată se observă o diminuare a proceselor de creștere și dezvoltare exprimate printr-o scădere a lungimii rădăcinii și tulpinii sau prin scăderea cantității de biomasă acumulate la nivelul diferitelor elemente ale plantei.

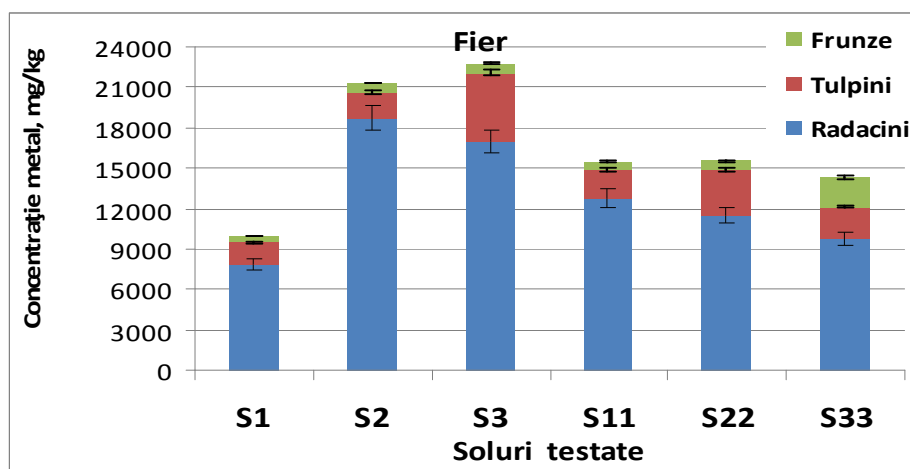


Fig. 9.14. - Variația concentrației ionilor de fier la nivelul diferitelor organe vegetative ale plantelor de rapiță cultivate în prezența amendamentelor naturale

Prin calcularea *factorului de translocare* ce reprezintă concentrația ionilor metalici acumulată la nivelul părților superioare ale plantei / concentrația ionilor metalici acumulată la nivelul rădăcinii (Sun și colab., 2008) s-a evidențiat faptul că, prezența puzderiilor în medii de creștere contaminate cu ioni de cupru, plumb și fier, determină o reducere a transportului ionilor metalici către părțile superioare ale plantelor pentru variantele S₁₁ și S₂₂ și o creștere a acestuia în cazul variantei S₃₃ (Fig. 9.15.).

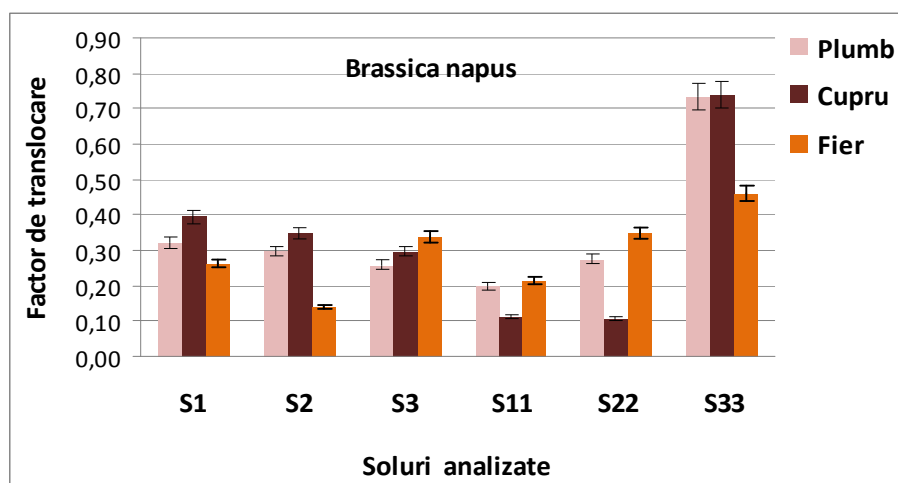


Fig. 9.15. - Variația factorului de translocare pentru ionii de cupru, plumb și fier în prezența amendamentelor naturale

Prin calcularea valorii *gradului de recuperare* (%) adică a concentrației ionilor metalici (Pb, Cu, Fe) în rădăcini, tulpinițe, protofile raportat la concentrația ionilor metalici în mediul de creștere (Hajiboland, 2005) se constată că amendamentele, reprezentate de puzderiile de cânepă, determină o îmbunătățire a recuperării ionilor metalici din mediul de creștere în cazul variantelor S₁₁ și S₂₂.

O situație aparte se înregistrează în cazul variantei S₃₃, unde valoarea gradului de recuperare a ionilor metalici (Pb, Fe) este mai scăzută comparativ cu valoarea înregistrată pentru plantele ce s-au dezvoltat în absența puzderiilor. De asemenea, din graficele prezentate se constată că o recuperare importantă a ionilor metalici se realizează la nivelul rădăcinii (Fig. 9.16., 9.17., 9.18.). În cazul variantei S₃₃ constatăm o creștere a valorii de recuperare a ionilor de Pb și Cu în frunze și tulpină.

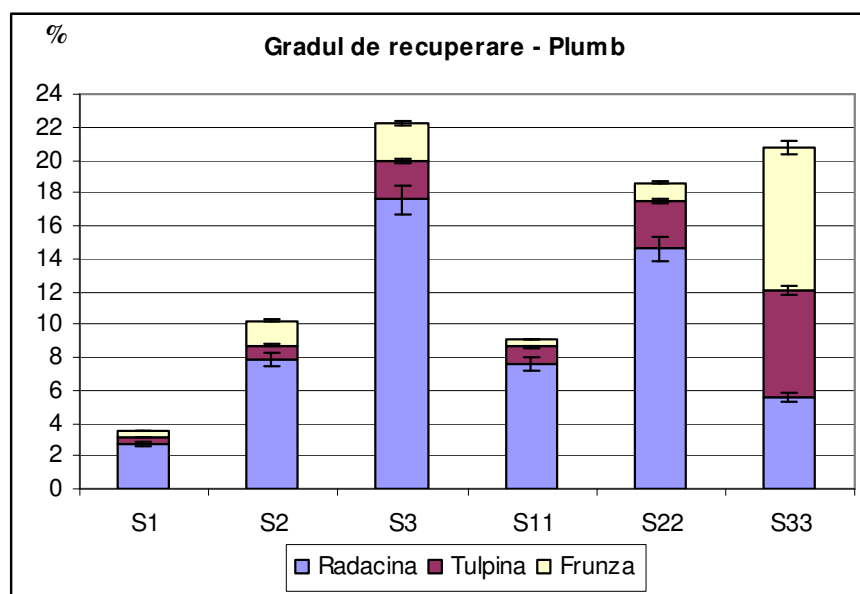


Fig. 9.16. - Variația gradului de recuperare a ionilor de plumb la nivelul diferitelor organe vegetative ale plantelor de rapiță cultivate în prezența amendamentelor naturale

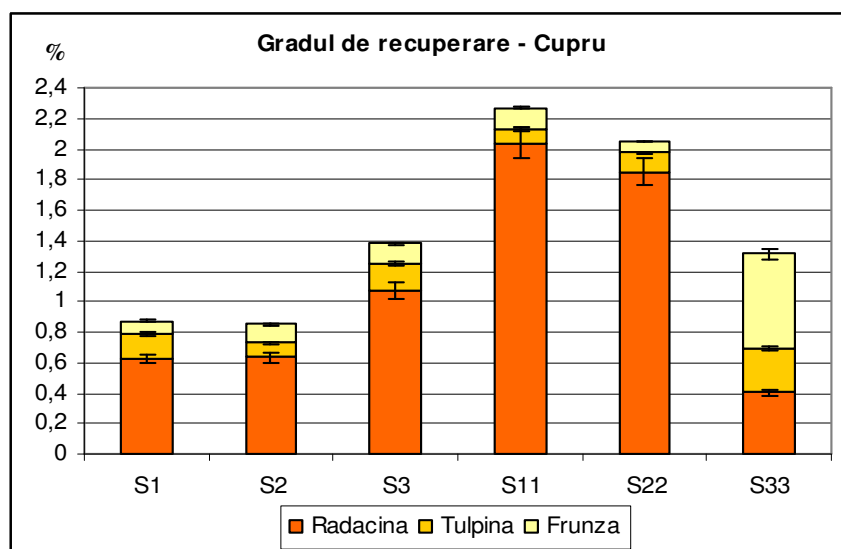


Fig. 9.17. - Variația gradului de recuperare a ionilor de cupru la nivelul diferitelor organe vegetative ale plantelor de rapiță cultivate în prezența amendamentelor naturale

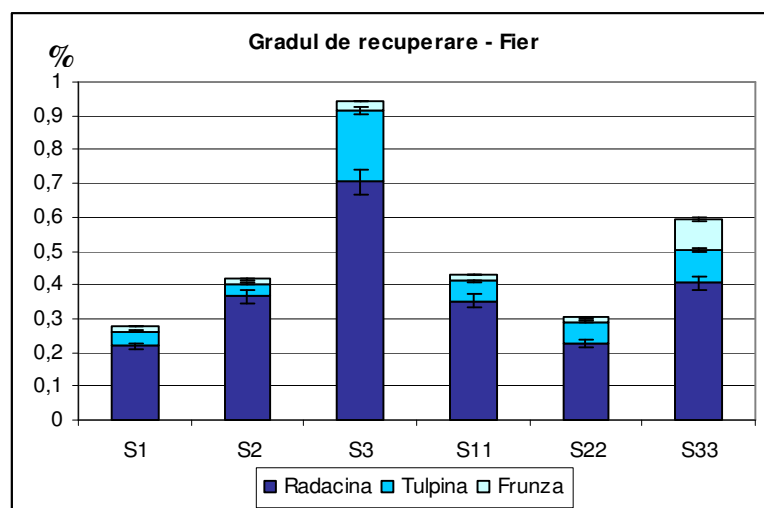


Fig. 9.18. - Variația gradului de recuperare a ionilor de fier la nivelul diferitelor organe vegetative ale plantelor de rapiță cultivate în prezența amendamentelor naturale

Capitolul 10 cuprinde discuții asupra unui posibil mecanism de acțiune a compușilor polifenolici în sistemele vegetale

Astfel, testarea polifenolilor în diferite sisteme vegetale a evidențiat capacitatea acestora de a influența o serie de procese cum ar fi capacitatea de germinare, diviziunea celulară, creșterea și dezvoltarea plantelor, asemenea fitohormonilor. De aceea, informațiile obținute au condus la ideea propunerii unui mecanism bazat pe elementele dovedite pînă în prezent și pentru a identifica noi direcții de investigație care să permită precizări privind funcționarea produselor și pentru a dezvolta aplicații practice bazate pe elemente fundamentale.

Pînă în prezent se cunoaște că prin intermediul bioregulatorilor se poate acționa în balanța hormonală, favorizând unul dintre procesele metabolice în funcție de scopul urmărit. Această intervenție se poate realiza prin fie prin adaosul de bioregulator cu acțiune analoagă, fie prin intervenția în reacțiile biochimice ce duc la formarea sau degradarea unui fitohormon (Fig. 10.1.). De asemenea, prin intermediul bioregulatorilor poate apărea o modificare a mecanismelor de transport al fitohormonilor de la locul unde se sintetizează la locul unde acționează.

Rolul și modul de acțiune a acestor compuși nu este pe deplin cunoscut. În urma unor studii s-a constatat că reducerea procesului de creștere a plantelor graminee (*Zea mays*, *Oryza sativa*, *Echinochloa oryzicola*), de către unele flavone este atribuită inhibiției ligazei 4 – cumarate CoA (Deng și colab., 2004). Flavonoidele sunt localizate de obicei strategic, în locuri speciale, acolo unde pot juca un rol important, de semnal sau de protecție. Indiferent de locul în care se găsesc, acestea prezintă funcții benefice, defensive în acea zonă. Ca de exemplu, legătura dintre localizarea acumulării flavonoidelor și activitatea lor este aparent dată de flavonoidele asimilatoare de UV în țesuturile de la nivelul epidermei (Treutter, 2006). De asemenea, efectele înregistrate asupra creșterii plantelor de porumb, ratei fotosintetice, respiratorii și a transpirației cât și asupra biosintezei de pigmenți clorofilieni și carotenoidici totali (Cap. 4) pot fi datorate prezenței unui anumit tip de compus polifenolic din extractul apos testat. De asemenea, aceste efecte pot fi datorate acțiunii sinergice ce se manifesta între anumiți compuși caracteristici extractului polifenolic. După cum s-a precizat în capitolul 3, fiecare dintre extractele polifenolice se caracterizează printr-un profil compositional caracteristic și concentrații specifice. Pentru elucidarea rolului lor s-a studiat separat acțiunea unor compuși individuali semnificativi.

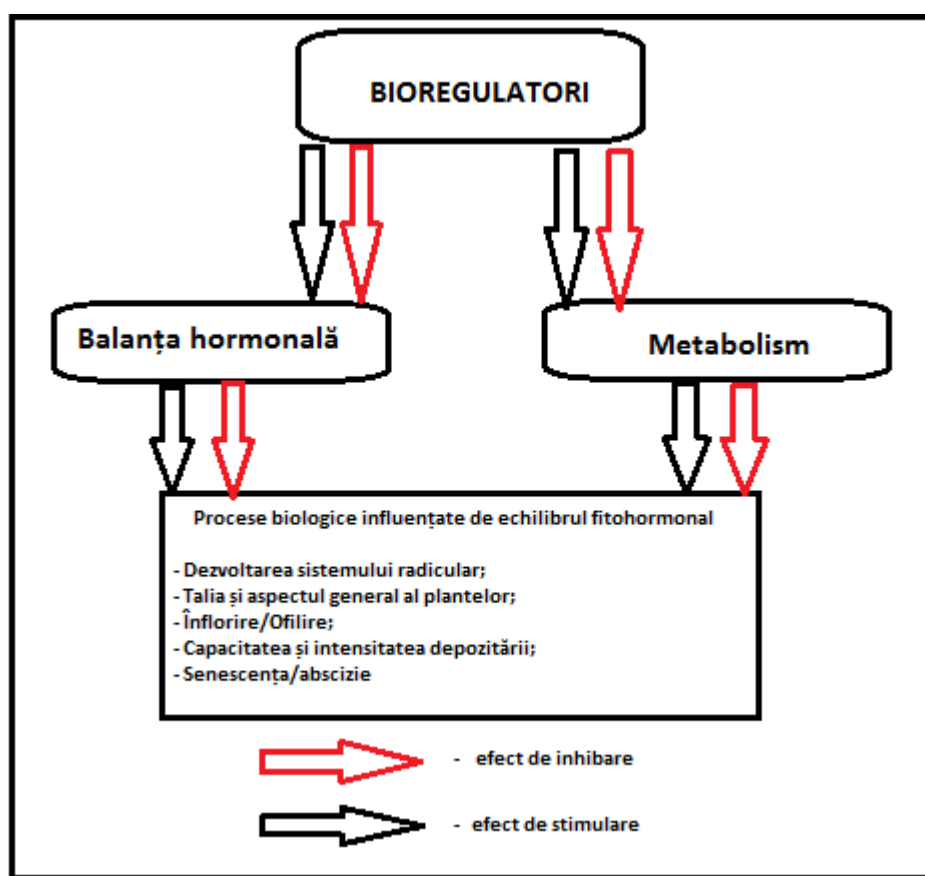


Fig. 10.1. - Influența bioregulatorilor asupra principalelor procese fiziologice din plante (Popa și Volf, 2006)

10.2. Acidul vanilic – stimulator și catehina - inhibitor în creșterea și dezvoltarea plantelor de porumb (*Zea mays* L.)

Din datele înregistrate de Stingu (2011), s-a constatat că acidul vanilic stimulează creșterea plantulelor de porumb cu până la 45% raportat la nivelul întregii plante analizate. Cele mai evidente efecte de stimulare au fost observate la nivel radicular. De asemenea, s-a constatat că acidul vanilic determină o creștere a cantității de biomasă acumulată cu până la 15% comparativ cu martorul.

În ceea ce privește catehina, se constată că aceasta are un efect de inhibare asupra creșterii plantulelor de porumb și acumulării de biomasă cu până la 100%. În schimb s-a constatat că

catehina prezentă în mediul de creștere duce la o creștere a cantității de pigmenți carotenoidici sintetizați cu peste 100%.

Astfel în ceea ce privește extractele utilizate (Cap. 3), atât cel obținut din puzderii de cânepă cât și din coaja de molid, se constata că au un conținut ridicat în acid vanilic (96,88 mg GAE/100g – pentru extractul obținut din puzderii de cânepă și 39,4 mg GAE/100g – pentru extractul obținut din coaja de molid) și catehină (52,17 mg GAE/100g – pentru extractul obținut din puzderii de cânepă și 31 mg GAE/100g – pentru extractul obținut din coaja de molid).

Atât în extractul obținut din coaja de molid cât și în cel obținut din puzderiile de cânepă, se observă că există o cantitate ridicată de acid vanilic. Având în vedere rezultatele obținute asupra testării individuale a unor compuși polifenolici (Stingu, 2011), se poate spune că efectul de stimulare asupra creșterii și dezvoltării plantelor utilizate în studiile noastre, poate fi atribuit acidului vanilic, ce se găsește într-o concentrație ridicată. Astfel, se suplimentează conținutul în metaboliți secundari din celulă, ceea ce determină în cele din urmă la o mai bună creștere și o dezvoltare a plantei.

În urma experimentelor efectuate s-a constatat că extractele cu o concentrație ridicată induce un efect de inhibare a creșterii și dezvoltării plantelor. Având în vedere studiile realizate anterior, privind efectul individual al unor compuși polifenolici asupra plantelor (Stingu, 2011), se poate presupune că acest efect de inhibare se datorează catehinei. Catehina a fost identificată ca fiind o alelochemicală fitotoxică. În extractele concentrate, cantitatea de catehină este mai ridicată, efectul ei de inhibare a creșterii fiind dominant față de cel al acidului vanilic.

10.3. Căi posibile de acțiune a compușilor polifenolici în plante

Ținând seama de rezultatele obținute din experimentele realizate, privind efectul extractelor polifenolice în sistemele vegetale, cât și studiul de literatură din acest domeniu, s-a încercat propunerea unor căi de acțiune a compușilor polifenolici în plante, la nivel de celulă. În schema prezentată în figura 10.2., sunt propuse trei căi de acțiune a polifenolilor în sistemele vegetale:

10.3.1. Influența compușilor polifenolici asupra aparatului fotosintetic (A)

Procesul de fotosinteză este puternic influențat de factorii externi. Studii recente arată că compușii polifenolici au o acțiune importantă asupra ratei de asimilare din plante (Barkosky și colab., 1999). Astfel există posibilitatea ca unii compuși polifenolici din extractele utilizate să acționeze asupra transportului de ioni din celulă, inhibând absorbția acestora. Inhibarea absorbției de ioni este strâns legată de degradarea membranei celulare, fiind totodată într-o strânsă corelare cu conținutul apei din plantă. (Barkosky și colab., 1999, 2000). Astfel, există posibilitatea ca unul din compușii polifenolici din extractele utilizate (posibil catehina) să inhibe activitatea ATP-azei din plasmalemă, ce are un rol important în menținerea turgescenței celulelor (Yu și colab., 2003). Scăderea turgescenței celulare va avea ca efect indirect inhibarea unor procese metabolice importante din plantă cum ar fi fotosinteza sau respirația (Cap. 4).

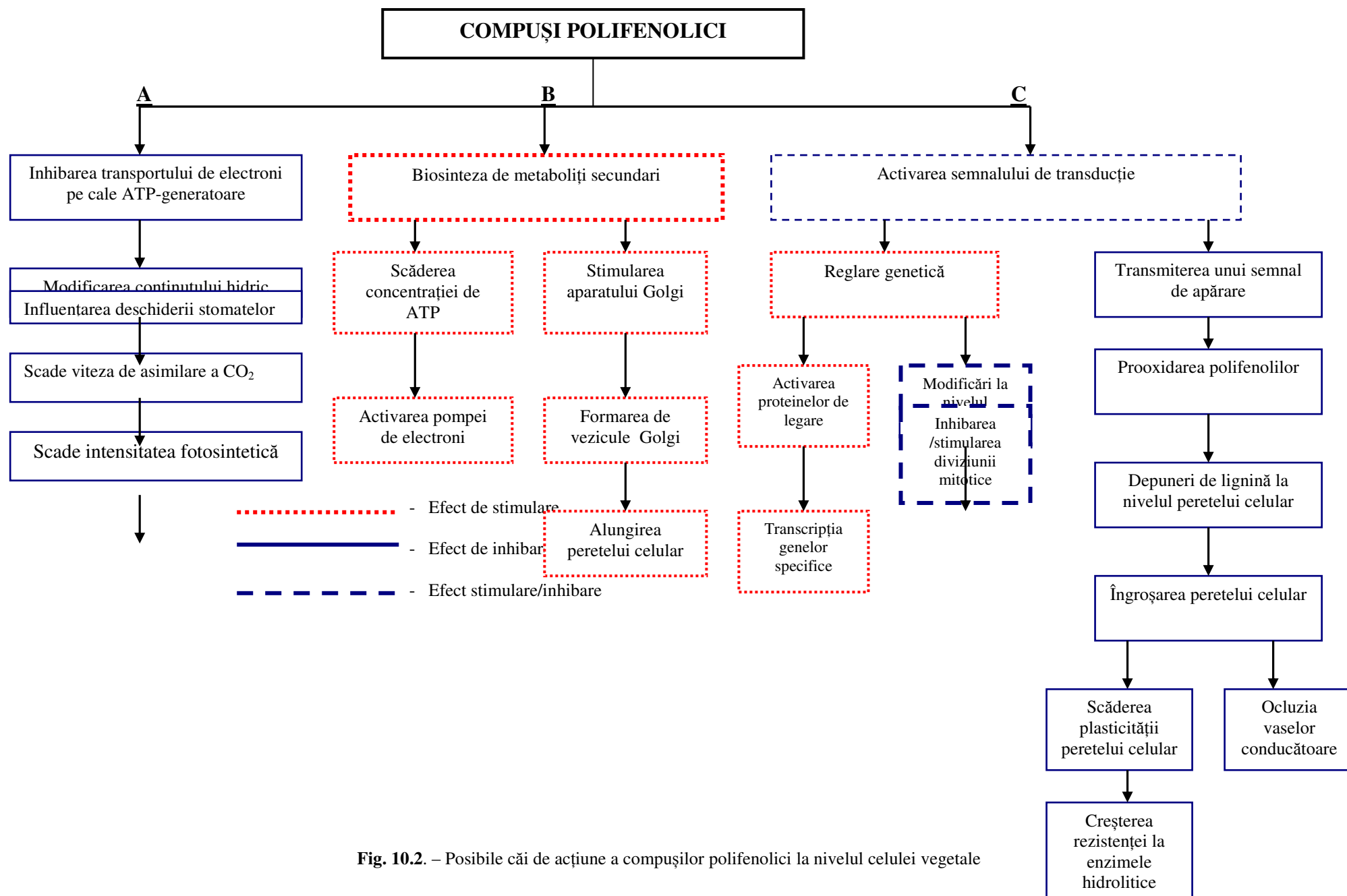


Fig. 10.2. – Posibile căi de acțiune a compușilor polifenolici la nivelul celulei vegetale

De asemenea, scăderea ratei de asimilare se poate datora și scăderii conductanței stomatale. Datorită scăderii turgescenței la nivelul stomatelor, scade conductanța stomatală și implicit se reduce cantitatea de CO₂ asimilată. În final scade rata de asimilare, manifestată prin încetinirea creșterii și acumulării de biomasă.

În studiile noastre s-a constatat că o concentrație ridicată a extractelor polifenolice va declanșa o scădere a intensității fotosintetice și implicit a acumulării de biomasă (Cap. 4). Aceste efecte pot fi atribuite acțiunii unor compuși polifenolici din extractele utilizate, asupra aparatului fotosintetic. Deocamdata nu există suficiente argumente că acești compuși influențează deschiderea stomatelor. O posibilitate de acțiune ar fi aceea că extractele utilizate ar putea influența indirect deschiderea stomatelor prin modificarea regimului hidric (Rai și colab., 2003, Barkosky și colab., 1999)

În concluzie, este încă greu de precizat mecanismul de acțiune a compușilor polifenolici din extractele utilizate, în sistemele vegetale la nivelul aparatului fotosintetic. În general, alelochimicale pot modifica realitatea plantă-apă prin distrugerea peretelui celular, inducând stresul hidric, determinând în final o rată redusă de asimilare a CO₂.

10.3.2. Influența asupra balanței hormonale (B)

În urma rezultatelor obținute (Cap. 4, 5, 7, 8) s-a constatat faptul că extractele polifenolice se comportă ca bioregulatori naturali, putând fi implicați în balanța hormonală. Astfel, privind rezultatele înregistrate asupra sistemelor vegetale (acumulare de biomasă, alungirea organelor vegetative, rata de asimilare fotosintetică și de sinteză a pigmentilor fotoasimilatori, dezvoltarea sistemului radicular, activitatea unor sisteme enzimatice, biosinteza de metaboliți secundari, indicele mitotic, modificări ale ADN-ului) influențate chimic, se constată o stimulare a creșterii și dezvoltării acestora la o concentrație redusă a polifenolilor (91 – 130 mg GAE/L) în extractele utilizate.

Acest efect poate fi atribuit fie acțiunii individuale a unui compus prezent în extracte, fie sinergismului stabilit între mai mulți compuși polifenolici.

Studiile realizate în decursul timpului de colectivul condus de prof. dr. ing. Valentin I. Popa, au evidențiat rolul unor compuși naturali cu structură aromatică, de tipul polifenolilor, în procesele fiziologice ale plantelor. Astfel, în urma acestor studii s-a emis ipoteza că compușii polifenolici, aplicați plantelor sub formă de extracte apoase, au un efect auxinic. În concentrații scăzute se manifestă prin stimularea creșterii și dezvoltării plantei, iar în concentrații ridicate inhibă creșterea și dezvoltarea plantei.

Se pare că cele mai eficiente și accesibile căi de acțiune în balanța hormonală a plantelor prin intermediul bioregulatorilor sunt cele legate de biosinteza hormonilor și adaosul de bioregulatori naturali sau sintetici, care pot avea acțiuni analoage, sinergice sau de antagonism cu cele ale bioregulatorilor naturali (Haddock, 2000).

În figura 10.3. este reprezentat un posibil model de acțiune a polifenolilor la nivel celular. Există posibilitatea ca unii dintre compuși aromatici ce ajung la nivelul membranei celulare să pătrundă la nivel intracelular unde pot declanșa un semnal de producere a metaboliților secundari la nivel intracelular. Acest proces poate fi urmat de activarea pompei de electroni prin scăderea concentrației de ATP, ce va permite alungirea peretelui celular.

Un alt semnal poate fi cel de stimulare a aparatului Golgi pentru formarea de vezicule Golgi cu rol în alungirea și menținerea grosimii peretelui celular. Această ipoteză este susținută de rezultatele obținute în cadrul acesei teze de doctorat. Astfel, s-a constatat o alungire a tijei caulinare la lavanda (Cap. 5) și a rădăcinilor adventive și aeriene la porumb pentru variantele unde s-a adăugat în mediul de creștere extracte polifenolice de concentrații scăzute (90 – 130 mg GAE/L) (Cap. 4 și 5). Aceste observații sunt susținute și de faptul că la nivelul apexului radicular din plantele de porumb, s-a constatat o creștere a numărului celulelor aflate în diviziune, comparativ cu martorul (Cap. 8).

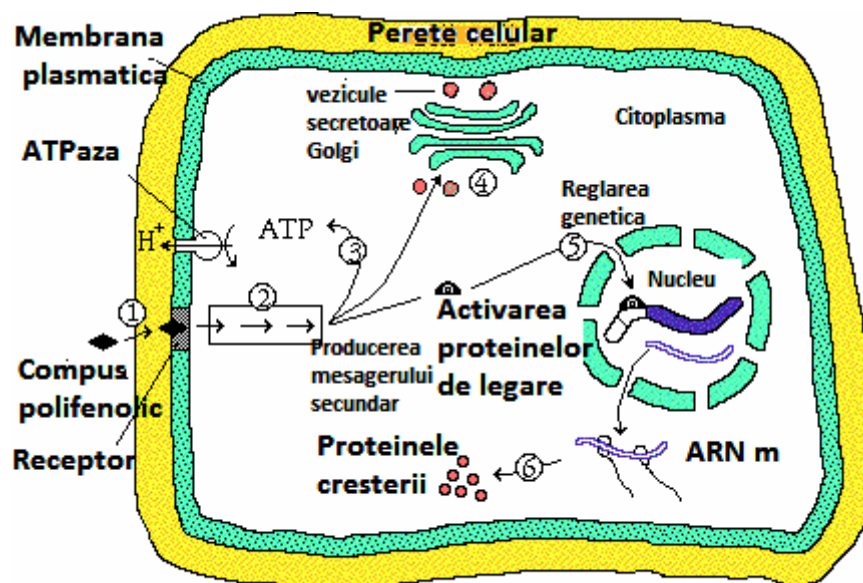


Fig. 10.3. – Modelul de acțiune a compușilor polifenolici în interiorul celulei (1 – receptare, 2 – producerea mesagerului secundar, 3 – acțiune asupra ATP-ului, 4- stimularea aparatului Golgi, 5 – reglare genetică, 6 – producerea proteinelor necesare creșterii)

Mecanismul complet de acțiune a polifenolilor în interiorul celulei rămâne necunoscut, însă rezultatele obținute permit susținerea ipotezei că acești compuși pot fi implicați în balanța hormonală a plantei, având un efect de tip auxină.

10.3.3. Compușii polifenolici și reglarea la nivel genetic (C)

Este cunoscut faptul că întreaga activitate a celulei este coordonată la nivelul ADN-ului. În urma analizei deteriorării ADN-ului, prin tehnica RAPD, s-a observat că profilurile obținute sunt

modificate (Cap. 8). Acest rezultat indică o interacțiune directă sau indirectă a polifenolilor cu ADN-ul. Astfel, o cantitate ridicată de compuși polifenolici ajunși la nivel intracelular poate declanșa modificări majore la nivelul secvențelor nucleotidice. Această afirmație este susținută de electroforegramele amplificate prin RAPD, unde profilul apare mult mai slab comparativ cu martorul, evidențiind influența extractelor polifenolice asupra ADN-ului extras din celulele apexului radicular de la porumb. Acest rezultat poate fi corelat și cu scăderea indicelui mitotic din celulele apexului radicular de la porumb și creșterea numărului de celule ce prezintă aberații cromosomiale.

Având în vedere cele discutate se poate emite ipoteza că compușii polifenolici, în concentrații ridicate, pot interveni direct sau indirect în reglarea la nivel genetic, declanșând modificări la nivelul ADN-ului exprimate prin scăderea numărului de celule aflate în diviziune, creșterea numărului de celule cu aberații cromosomiale și implicit inhibarea creșterii și dezvoltării plantei.

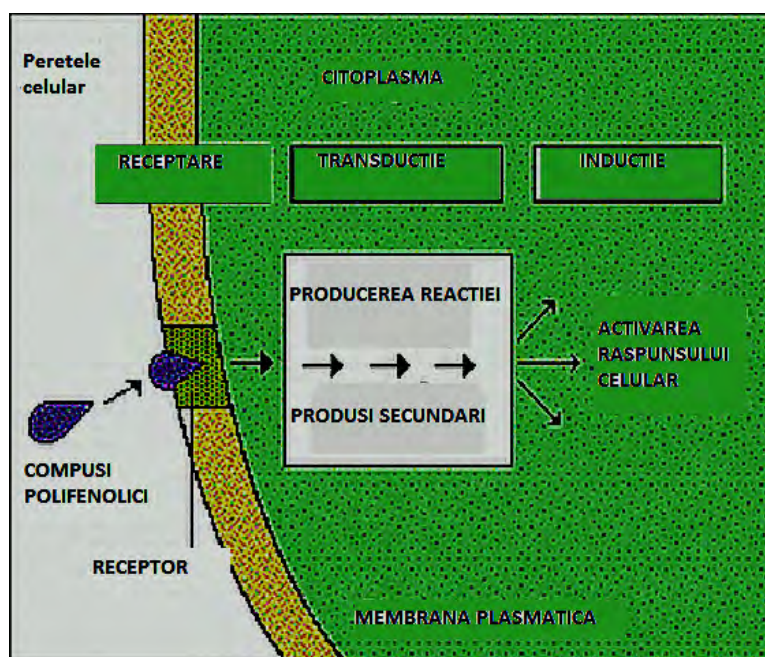


Fig. 10.4. – Implicarea posibilă a compușilor polifenolici în activarea răspunsului celular

La concentrații scăzute ale polifenolilor din extractele utilizate situația este opusă celei prezentate anterior. Astfel, profilul din electroforegrama RAPD apare mai intens comparativ cu martorul. De asemenea, indicele mitotic din celulele apexului radicular la porumb este mai ridicat comparativ cu martorul. Aceste observații sugerează un efect auxinic al compușilor aplicați, exprimat prin intensificarea sintezei de ARN, ca de altfel și a proteinelor. Aceste manifestări fiind urmate de creșterea numărului de celule aflate în diviziune și implicit alungirea rădăcinii. Astfel, intervenția bioregulatorilor la nivel genetic, poate fi exprimată prin activarea semnalului de transducție (Fig. 10.4.) ce va fi exprimat prin activarea proteinelor de legare și transcripția genelor specifice creșterii. De asemenea, în urma modificărilor ce apar la nivelul secvențelor nucleotidice se poate declanșa o stimulare sau o inhibare a diviziunii mitotice, în funcție de concentrația extractului aplicat în mediul de creștere a plantei.

Un alt efect al extractelor apoase cu o concentrație ridicată în compuși polifenolici, evidențiat prin studiile histo-anatomice (Cap. 7), este cel de îngroșare intensă a pereților celulari, prin depunere de lignină. Rezultatele din mai multe studii sugerează că prooxidarea polifenolilor din peretele celular cât și acumularea și depunerea în /și pe pereții celulari, este considerată de obicei ca o creștere a rezistenței la enzime hidrolitice, fiind deci o barieră fizică împotriva infecțiilor (Chérif, 1991; Chérif, 1992).

Din studiile anterioare (Fernandez, 1998; Chérif, 2007) se știe că acest răspuns al plantei apare ca o modalitate de apărare împotriva unor dăunători. Astfel, în aceste situații, concentrația de metaboliți secundari din celulă crește. Răspunsul plantei fiind îngroșarea peretelui celular sau/și ocluzia vaselor conducătoare. Astfel aceste reacții sunt însoțite de sinteza și depunerea de lignină, un polimer rezultat din intermediari polifenolici aromatici (Chérif, 2007).

Ținând seama de rezultatele înregistrate pînă în prezent, pot fi emise două ipoteze:

1. în celulă patrunde o cantitate ridicată de metaboliți secundari din extractele polifenolice. Astfel, în prezența acestora celula răspunde ca și cum ar fi prezent un dăunător. Astfel apare o intensificare a procesului de lignificare prin prooxidarea polifenolilor. Acest efect declanșează blocarea vaselor conducătoare, ce va duce în final la dificultăți în circulația sevei în plantă, și prin urmare la inhibarea creșterii și dezvoltării acesteia (aspecte evidențiate în studiile histo-anatomice).

2. extractele polifenolice cu o concentrație ridicată ce au ajuns la nivelul primului strat de celule va declanșa în celulă un semnal asemănător cu cel al unui dăunător. Astfel planta va răspunde prin creșterea cantității de metaboliți secundari din celulă ce se vor prooxida. Efectul va fi îngroșarea peretelui celular (scade plasticitatea acestuia) și ocluzia vaselor conducătoare. În cele din urmă fiind influențate creșterea și dezvoltarea plantei. Presupunem că în acest mecanism de acțiune sunt implicate și unele sisteme enzimactice ce catalizează reacțiile ce apar în celulă. Astfel, s-a constatat o activitate enzimatică ridicată a peroxidazei și superoxid dismutazei în plantulele de porumb ce s-au dezvoltat într-un mediu îmbogățit cu extracte polifenolice concentrate (Cap. 6). Activitatea ridicată a acestor enzime subliniază starea de alertă în care intră planta, datorate prezenței unor factori de stres, reprezentați în cazul nostru de compușii polifenolici în concentrații ridicate.

În concluzie, putem afirma că mecanismul de acțiune a compușilor polifenolici la nivelul celulei, în pofida rezultatelor obținute rămâne încă a fi elucidat. Rezultatele înregistrate confirmă doar unele din ipotezele enunțate anterior și deschid noi căi de cercetare în domeniu. Primele investigații de biologie celulară și moleculară demonstrează că acestea sunt absolut necesare pentru o înțelegere de ansamblu a modului de acțiune a compușilor polifenolici în plante. În acest fel se deschide calea pentru a utiliza sistematic acești compuși naturali în cultivarea plantelor cu efecte economice și de mediu.

- CAPITOLUL 11 - CONCLUZII GENERALE

Datele obținute în cadrul tezei de doctorat intitulată, *Contribuții privind influența unor produse naturale asupra principalelor procese fiziologice din sistemele vegetale*, au evidențiat influența unor produse cum ar fi apa săracă în deuteriu, extractele separate din ritidoma de molid și puzderiile de cânepă, asupra dezvoltării plantelor. Informațiile înregistrate au confirmat rezultatele anterioare, referitoare la rolul de bioregulator de creștere a compușilor polifenolici și au permis completarea acestora cu noi concluzii importante din punct de vedere fundamental și aplicativ sistematizate în cele ce urmează:

- Apa cu conținut redus în deuteriu, atât în formă simplă cât și în combinație cu extractul apos obținut din coaja de molid, stimulează creșterea și dezvoltarea plantelor de porumb, cultivate "in situ", în toate etapele vegetative.
- Extractul apos obținut din coaja de molid stimulează creșterea și dezvoltarea plantelor de porumb, cultivate "in situ", în toate etapele vegetative. Acest efect de stimulare este mai accentuat în cazul aplicării extractului polifenolic cu o concentrație mai scăzută.
- La recoltarea plantelor de porumb cultivate "in situ", s-a constatat că extractul obținut din coaja de molid de concentrație 130 mg/L sau apa săracă în deuteriu în combinație cu extractul polifenolic (96 mg/L) determină o creștere a biomasei acumulată în toate organele vegetative dar și la nivelul semințelor. Astfel aceste produse naturale pot fi recomandate ca stimulatori ai creșterii în scopul sporirii producției de semințe de porumb.

Influența unor produse naturale asupra dezvoltării explantelor de *Lavandula angustifolia* Mill

- Introducerea extractului apos obținut din coaja de molid de concentrație 130 mg GAE/L, în mediul de creștere a explantelor de *Lavandula angustifolia* Mill, determină o creștere în alungirea tijeii principale, a numărului de frunze formate, a cantității de pigmenți fotoasimilatori sintetizați și determină apariția fenomenului de lăstărire. La o concentrație mai ridicată a extractului (191 mg GAE/L) valorile sunt mai scăzute.
- Extractul apos obținut din puzderiile de cânepă stimulează evoluția explantelor de *Lavandula angustifolia* Mill, în special, fenomenul de lăstărire, cantitatea de pigmenți

fotoasimilatori sintetizați și numărul de frunze formate. De asemenea, la o concentrație mai ridicată, valorile indicilor urmăriți, scad.

Efecte citogenetice la plantele de porumb (*Zea mays* L.) determinate de tratamentul cu compuși naturali cu structură aromatică

- Extractele obținute din coajă de molid sau din puzderii de cânepă determină o frecvență superioară a celulelor în mitoză comparativ cu proba martor, maximul acestui parametru semnalându-se la varianta cu cea mai mică concentrație în compuși polifenolici (M2 – 130 mg/L), evidențiindu-se un ușor efect mitogen.
- Concomitent creșterii frecvenței celulelor aflate în profază, se înregistrează o acumulare a anafazelor și telofazelor, fenomen ce poate fi atribuit întârzierii clivajului longitudinal al cromozomilor și a migrării acestora spre cei doi poli.
- Folosirea extractelor cu concentrații mai ridicate, determină un număr mai ridicat al celulelor cu aberații cromosomiale comparativ cu cel înregistrat la concentrații mai scăzute ale soluțiilor testate.
- În cazul variantelor de tratament o pondere însemnată a aberațiilor cromosomiale o au anafazele (A - T) cu punți, cu cromozomi întârziați, precum și aberațiilor complexe de tipul: A – T + punți + cromozomi întârziați și/sau expulzați, A - T multipolare + punți.

Aspecte histo-anatomice ale plantulelor de porumb (*Zea mays* L.), dezvoltate sub acțiunea unor produse naturale

- Adăugarea apei săracite în deuteriu în mediul de creștere al plantulelor de porumb, determină apariția în structura internă a rădăcinii a unor cavități aerifere, iar endoderma este deja de tip terțiar, numărul fasciculelor conducătoare fiind mai mare comparativ cu martorul. La nivelul rădăcinii adventive perii absorbante sunt mai numeroși comparativ cu martorul ca și cel al fasciculelor conducătoare. În structura internă a frunzei s-au individualizat celulele buliforme ce nu au fost întâlnite la plantele martor.
- Apa săracă în deuteriu în amestec cu extractul apos obținut din coaja de molid determină ca numărul fasciculelor conducătoare să fie mai ridicat comparativ cu martorul, atât la nivelul rădăcinii principale cât și a celor adventive.
- Extractul din coaja de molid determină o bună dezvoltare a perilor absorbante, numărul fasciculelor conducătoare și a vaselor centrale de metaxilem fiind mai mare în comparație cu martorul. La o concentrație mai ridicată a extractului aplicat, perii absorbante sunt într-un număr foarte redus, iar procesul de lignificare este mai intens, comparativ cu martorul. La nivelul frunzelor se constată că numărul fasciculelor conducătoare este mult mai mare decât la martor, distingându-se clar nervura mediană. În structura internă a frunzei s-au individualizat celulele buliforme ce nu s-au regăsit la plantele martor.
- Adăugarea extractului din puzderii de cânepă în mediul de cultivare al plantulelor de porumb, determină o creștere a numărului de fascicule conducătoare ce scade odată cu creșterea concentrației extractului. La nivelul rădăcinilor adventive perii absorbante sunt mai puțin frecvenți, iar exoderma este nesuberificată. Mezocotilul are vase lemnoase mai mici comparativ cu cel al martorului, iar la o concentrație mai ridicată endoderma este de tip terțiar. În structura internă a frunzelor apar grupuri de celule buliforme ce lipsesc la probele martor.

Stabilirea efectului unor produse naturale asupra unor culturi de calus de porumb

- Introducerea ASD în mediul de cultură determină creșterea cantității de biomasă cu până la 95% în primele 2 săptămâni, comparativ cu martorul.
- Țesutul calusogen care s-a dezvoltat în mediul de cultură ce conținea extractul din ritidoma de molid, a acumulat o cantitate de biomasă mai ridicată comparativ cu martorul.
- În primele două săptămâni cantitatea de biomasă acumulată este mai ridicată în variantele unde mediul de cultură a fost suplimentat, pe lângă extractul polifenolic, cu 2,4 D.

- Introducere ASD în mediul de cultură va declanșa formarea unui număr mai mare de rădăcini adventive comparativ cu martorul dar mult mai scăzut comparativ cu celelalte variante.
- Prezența fitohormonului 2,4D în mediul de cultură, suplimentat cu ASD sau extract polifenolic, reprezintă un cadru propice pentru dediferențierea celulară, în cazul de față pentru rizogeneză.
- Apa cu conținut scăzut în deuteriu și extractul polifenolic din ritidoma de molid au un rol important în procesul de calusogeneză.
- Activitate enzimatică cea mai ridicată a peroxidazei a fost înregistrată în prezența ASD și a extractului polifenolic (M5+2,4 D).
- Modificările de activitate a SOD în prezența ASD și a extractului polifenolic obținut din ritidoma de molid denotă implicarea acestora în reglarea proceselor metabolice din celule și rolul în menținerea echilibrului între radicalii liberi formați și cei înlăturați.
- Intensificare ușoară a activității enzimatice a catalazei, în comparație cu martorul, s-a observat în probele în care mediul de cultură a fost preparat cu apa săracă în deuteriu.
- Amestecul de apă săracă în deuteriu și extract polifenolic din ritidoma de molid au determinat o stimulare a sintezei de compuși polifenolici comparativ cu martorul.

Activitatea unor sisteme enzimatice implicate în metabolismul plantelor de porumb ce s-au dezvoltat în prezența unor produse naturale

- Activitatea enzimatică a peroxidazei, în rădăcinile plantelor de porumb, este redusă în prezența apei cu conținut scăzut în deuteriu și a extractului din coaja de molid.
- Comparativ cu martorul se constată o creștere a activității peroxidazei în frunzele plantelor de porumb ce s-au dezvoltat în prezența apei cu conținut scăzut în deuteriu în amestec cu extractul polifenolic obținut din ritidoma de molid.
- În ceea ce privește activitatea enzimatică a SOD în plantele din variantele experimentale nu se constată mari diferențe comparativ cu martorul.
- La nivelul plantelor de porumb activitatea catalazei se modifică sub acțiunea soluțiilor adăugate în mediul de creștere. Activitatea catalazei se intensifică în frunze, comparativ cu martorul în prezența apei săracă în deuteriu și a extractului din coaja de molid. La nivelul rădăcinilor se constată o scădere a activității enzimatice a catalazei la variantele ASD și ASD + M și o ușoară intensificare a acesteia la plantele din variantele M5 și M10.
- Cea mai intensă activitatea enzimatică a peroxidazei a fost înregistrată în prezența extractului apos din puzderii de cânepă. La nivel foliar activitatea enzimatică a peroxidazei este mai scăzută decât la nivelul rădăcinii. Comparativ cu martorul se observă o creștere direct proporțională a activității peroxidazei cu concentrația extractului aplicat.
- Activitatea superoxid dismutazei este mai intensă la nivelul plantelor de porumb dezvoltate într-un mediu reprezentat de extractul apos obținut din puzderii de cânepă, în diferite concentrații, comparativ cu cele dezvoltate în prezența apei.
- În cazul plantelor de porumb dezvoltate în prezența extractului obținut din puzderiile de cânepă cu o concentrație de 130 mg GAE/L respectiv 191 mg GAE/L se observă o ușoară intensificare a activității enzimatice a catalazei comparativ cu martorul

Influența puzderiilor de cânepă în procese de bioremediere a solurilor poluate

- Energia și capacitatea germinativă al plantelor de rapiță în solul fără amendamente naturale comparat cu solul în care au fost adăugate amendamentele este stimulată în variantele S₁ și S₂. Pentru varianta S₃ se observă că procentajul de stimulare este mult mai scăzut decât în cazul celorlalte variante. De asemenea, s-a observat că alungirea tulpinii și rădăcinii plantelor de rapiță care s-au dezvoltat în prezența amendamentelor este mai scăzută în comparație cu variantele în care lipsesc aceste amendamente.
- Prin cultivarea succesivă a porumbului, în aceleași variante experimentale se constată că alungirea rădăcinii este stimulată la toate variantele experimentale, unde au fost adăugate puzderiile de cânepă. Valorile referitoare la creșterea în lungime a tulpinii sunt apropiate de cele ale variantelor în care lipsesc amendamentele naturale.

- Rezultatele privind acumularea biomasei vegetale în plantele de porumb diferă de cele obținute la plantele de rapiță, deoarece biomasa (verde și uscată) acumulată la nivelul plantelor dezvoltate în prezența amendamentelor naturale este mai ridicată comparativ cu cea acumulată în plantele care s-au dezvoltat în același sol dar în absența amendamentelor naturale.
- Analizând variația concentrației pigmentilor asimilatori, caracteristică plantelor de rapiță, se constată prin aplicarea amendamentelor, reprezentate de puzderiile de cânepă, în solurile poluate, ce determină o scădere a conținutului în clorofila *a* și *b*. În ceea ce privește acumularea carotenoizilor situația este opusă de cea înregistrată pentru clorofila *a* și *b*, astfel prin aplicarea amendamentelor se înregistrează o cantitate mai ridicată de carotenoizi față de valorile înregistrate pentru plantele ce s-au dezvoltat în absența puzderiilor.
- Prin cultivarea succesivă a porumbului în aceleași variante experimentale se constată că acumularea clorofilei „a” suportă o ușoară descreștere la plantele ce se dezvoltă în prezența amendamentelor naturale, iar în ceea ce privește clorofila „b” diferențele între valorile obținute nu sunt semnificative. Conținutul în carotenoizi înregistrează o creștere în plantele de porumb care se dezvoltă în prezența puzderiilor.
- În urma determinării concentrației ionilor metalici, se constată că în prezența puzderiilor capacitatea de bioacumulare crește, în special pentru ionii de cupru și plumb. De asemenea, la nivelul plantelor unde concentrația de ioni metalici este mai ridicată se observă o diminuare a proceselor de creștere și dezvoltare exprimate printr-o scădere a lungimii rădăcinii și tulpinii sau prin scăderea cantității de biomasă acumulate la nivelul diferitelor părți ale plantei.
- Determinarea concentrației ionilor de fier acumulați la nivelul diferitelor părți componente ale plantelor de rapiță au evidențiat faptul că, suplimentarea mediului de creștere cu puzderii de cânepă determină o reducere a procesului de bioacumulare a ionilor metalici pentru variantele S₂₂ și S₃₃. În cazul variantei S₁₁ concentrația ionilor de fier acumulați în plantele ce s-au dezvoltat în mediul cu amendamente este mai ridicată comparativ cu S₁.
- Prin calcularea *factorului de translocare*, se evidențiază faptul că, prezența puzderiilor în medii de creștere contaminate cu ioni de cupru, plumb și fier, determină o reducere a transportului ionilor metalici către părțile superioare ale plantelor pentru variantele S₁₁ și S₂₂ și o creștere a acestora în cazul variantei S₃₃.
- Prin calcularea valorii *gradului de recuperare*, se constată că amendamentele, reprezentate de puzderiile de cânepă, determină o îmbunătățire a recuperării ionilor metalici din mediul de creștere comparativ cu valoarea înregistrată pentru plantele ce s-au dezvoltat în absența puzderiilor. Pentru toate variantele de sol, o recuperare importantă a ionilor metalici se realizează la nivelul rădăcinii. Excepție este cazul variantei S₃₃ unde se constată o creștere a valorii de recuperare a ionilor de Pb și Cu în frunze și tulpină.
- S-a propus un mecanism de acțiune a compușilor polifenolici la nivel molecular și celular.

Bibliografie selectivă

1. Acatrinei G., Acatrinei L., 1998, *Diviziunea celulelor la plante, sub influența substanțelor biologic active*, Editura CERMI, Iași, 1-14.
2. Alen-Ruiz F., Garcia-Falcon M.S., Pérez - Lamela, M.C., Martinez-Carballo E., Šimal-Gándara J., 2009, *Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines*, Food Chem, 113, 53-60.
3. Alfermann A.W., Petersen M., 1995, *Natural product formation by plant cell biotechnology. Results and perspectives*. Plant Cell Tissue Organ Cult., 43,199-205
4. Anghel N., 2001, *Produse naturale aromatice cu proprietăți bioactive, în Progrese în biotehnologie*, Ed. Sedcom Libris, Iași, 46-81.
5. Bălaș A., Dănăilă M., Popa V.I., Anghel N., 2005, *On the behavior of natural polyphenolic products as plant growth regulators*, Buletinul Institutului Politehnic Iași, Seria Chimie și Inginerie Chimică, Tom LI (LV), 3-4, 121-125.
6. Bălaș A., Popa V.I., 2007a, *On the characterisation of some bioactive compounds extracted from Picea abies*, Roum. Biotech. Letters, 3 (12), 3209-3215.
7. Bălaș A., Popa V.I., 2007b, *The influence of natural aromatic compounds on the development of Lycopersicon esculentum Mill*”, BioResource, 2 (3), 363-370.

8. Popa, V.I., Beleca, C., 1994, *On the role played by some natural products, with aromatic structure, in proceses of plant growing*, Cellulose Chemistry and Technology, 28 (6), 613-620.
9. Popa, V.I., Beleca C., 1996, *Polyphenols from Spruce Wood Bark – „Potentially Regulators on Plants Growing”*, Second International Symposion Ceprohart, Brăila.
10. Popa, V.I., Beleca C., Popa M., Bodîrlău R., Bâra I., Truță E., 1996, *Studies regarding the behavior of some individual biological systems under polyphenolic products action*, Biol. Soc. Brot., 2 (37), 245-255.
11. Popa, V.I., Agache C., Beleca C., Popa M., 2002, *Polyphenols from spruce bark as plant growth regulator*, Crop Res., 24 (2), 398-406.
12. Popa, V.I., Volf I., Anghel N., Dumitru M., 2005, *Lgnin and polyphenols as allelochemicals*, ILI 7th Forum, Barcelona, 67-70.
13. universitar pentru învățământul la distanță, Craiova, <http://agro-craiova.ro>.
14. **Tanase, C.** Stîngu. A. Volf. I. Popa. I. V.. 2011. The effect of spruce bark polyphenols extract in combination with deuterium depleted water (DDW) on *Glycine max* L. and *Helianthus annuus* L. development”. Analele științifice ale Universității „Al. I. Cuza” din Iași. Genetică și Biologie Moleculară. Tom XII. fasc 3. 115-120.
15. **Tanase, C.** Stîngu. A.. Volf. I. Popa. V. I.. 2011. The influence of spruce bark aqueous extract in combination with deuterium depleted water (ddw) on *Glycine max* L. plant. Lucrări stiințifice- vol. 54. seria Horticultura. 59 - 64;
16. **Tanase, C.** Stîngu. A.. Volf. I. Popa. V. I.. 2012. Deuterium depleted water and spruce bark extract - bioregulators for maize and rape plants. Bulletin of The Polytechnic Institute Of Iasi. Tomul LVIII (LXII). Fasc. 2. revistă BDI (CNCSIS. B+). ISSN: 0254 – 7104. 89 – 98.
17. **Tanase, C.**, Volf, I., Vintu, S., Grădinaru, R., Popa, I. V., 2013. Potential applications of wastes from energy and forestry industry in plant tissue culture, Cell. Chem. Tech. Vol. 47, (7-8). 553-563.
18. Yu JQ, Matsui Y, 1997. Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedling. J. Chem. Ecol. 23, 817-827
19. Yu JQ, Ye SF, Zhang MF and Hu WH, 2003. Effects of root exudates, aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. Biochem. System. Ecol. 31, 129-139
20. Xiong Z-T, Li Y-H, Xu B. 2002. Nutrition influence on copper accumulation by *Brassica pekinensis* Rupr. Ecotoxicol Environ Saf 53:200–205.
21. Zadernowschi R., Czaplicki S., Nacyk M., 2009, *Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (Garcinia mangostana)*, Food Chem., 112, 685-689.
22. Zanoschi V., Toma C., 1985, Morfologia și anatomia plantelor cultivate, Ed. Ceres, București.

ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ

- PUBLICAȚII -

Articole publicate în reviste internaționale recunoscute, cotate ISI:

1. POTENTIAL APPLICATIONS OF WASTES FROM ENERGY AND FORESTRY INDUSTRY IN PLANT TISSUE CULTURE, 2013, autori: **Corneliu Tanase**, Smaranda Vintu, Irina Volf, Valentin I. Popa, Cellulose Chemistry and Technology, IF: 0,825, vol. 47 (7-8), pag. 553-563.
2. ASSESSMENT OF THE SINERGIC REGULATOR ACTION OF SPRUCE BARK EXTRACT AND DEUTERIUM DEPLETED WATER ON MAIZE (*ZEA MAYS* L.) CROPS, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Valentin I. Popa, *Environmental Engineering and Management Journal*, IF: 1,117, stadiu al publicarii: acceptat spre publicare.
3. PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES INDUCED BY SPRUCE BARK AQUEOUS EXTRACT AND DEUTERIUM DEPLETED WATER WITH SYNERGISTIC ACTION IN SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) PLANTS, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Irina Boz, Alina Stingu, Valentin I. Popa, Industrial Crops of products, IF: 2,468, stadiu al publicarii: faza de recenzii

4. ENHANCING PHYTOEXTRACTION FROM A MULTI-METAL CONTAMINATED SOIL USING HEMP SHIVES AS NATURAL AMENDMENTS, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Valentin I. Popa, *Environmental Engineering and Landscape Management*, IF: 1,041, stadiu al publicării: faza de recenzie.

Articole publicate în reviste naționale recunoscute CNCSIS, cotate B+/BDI

1. **TANASE C.**, STÎNGU ALINA, VOLF IRINA, V.I. POPA, 2011, THE INFLUENCE OF SPRUCE BARK AQUEOUS EXTRACT IN COMBINATION WITH DEUTERIUM DEPLETED WATER (DDW) ON *GLYCINE MAX L.* PLANT, LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE, Vol. 54, NR. 1, SERIA HORTICULTURĂ, EDITURA "ION IONESCU DE LA BRAD" UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ "ION IONESCU DE LA BRAD", IASI, (Online) = ISSN 2069-8275, pag. 59-64, revistă cotate B+
2. **TANASE C.**, HAINAL ANCA ROXANA, IGNAT IOANA, VOLF IRINA, V.I. POPA, 2011, DEVELOPMENT OF *RHODOTORULA* YEAST STRAIN UNDER THE INFLUENCE OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN THE PRESENCE OF COPPER IONS, LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE, Vol. 54, NR. 1, SERIA HORTICULTURĂ, EDITURA "ION IONESCU DE LA BRAD" UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ "ION IONESCU DE LA BRAD" IASI, (Online)=ISSN 2069-8275, pag. 109-114, revistă cotate B+
3. **TANASE C**, STÎNGU A, VOLF I, POPA I. V. 2011, THE EFFECT OF SPRUCE BARK POLYPHENOLS EXTRACT IN COMBINATION WITH DEUTERIUM DEPLETED WATER (DDW) ON *GLYCINE MAX L.* AND *HELIANTHUS ANNUUS L.* DEVELOPMENT, Analele Științifice ale Universității "Alexandru Ioan Cuza" din Iași, (Serie nouă), Genetică și Biologie Moleculară, Tom XII, fasc.3, pag. 115-120, ISSN 1582-3571, revistă cotate B+ (CNCSIS, poziția 9).
4. **TANASE C**, STÎNGU A, VOLF I, POPA I. V. 2011, Deuterium depleted water and spruce bark extract - bioregulators for maize and rape plants, , Lucrare publicată în BULETINUL INSTITUTULUI POLITEHNIC DIN IASI, Tomul LVIII (LXII) Fasc. 2, Secția CHIMIE și INGINERIE CHIMICĂ, revistă BDI (recunoscută CNCSIS, categoria B+), **ISSN: 0254 – 7104**, pag. 89 – 98,
5. **CORNELIU TANASE**, VALENTIN I. POPA, EFFECT OF NATURAL PRODUCTS ON SOME PHYSIOLOGICAL PROCESSES OF SOYBEAN PLANTS (*Glycine max L.*)", LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE, Vol. 56 , NR. 1, SERIA HORTICULTURĂ, EDITURA "ION IONESCU DE LA BRAD" UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ "ION IONESCU DE LA BRAD", IASI, (Online) = ISSN 2069-8275, revistă cotate B+, sub tipar
6. **CORNELIU TANASE**, IULIAN ANDREI GILCA, ADRIAN CATALIN PUITEL, VALENTIN I. POPA, NANODISPERSION BASED ON LIGNIN AS A GROWTH REGULATORS, LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE, Vol. 56, NR. 1, SERIA HORTICULTURĂ, EDITURA "ION IONESCU DE LA BRAD" UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ "ION IONESCU DE LA BRAD", IASI, (Online) = ISSN 2069-8275, revistă cotate B+, sub tipar
7. **CORNELIU TANASE**, INFLUENȚA UNOR PRODUSE NATURALE ASUPRA UNOR PROCESE FIZIOLOGICE DIN PLANTELE DE PORUMB (*ZEA MAYS L.*), Lucrare publicata in volumul workshop-ului „Tendințe și cerințe de interdisciplinaritate în cercetare. Prezentarea rezultatelor obținute de doctoranzi”, in cadrul proiectului Studii Doctorale pentru Performanțe Europene în Cercetare și Inovare CUANTUMDOC POSDRU/107/1. 5/S/79407, Editura POLITEHNIUM IASI, ISBN 978-973-621-408-0, februarie 2013, pagina 127

PARTICIPĂRI LA MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE ȘI CONFERINȚE NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE

1. THE INFLUENCE OF SPRUCE BARK AQUEOUS EXTRACT IN COMBINATION WITH DEUTERIUM DEPLETED WATER (DDW) ON *GLYCINE MAX L.* PLANT, Corneliu Tanase, Alina Stingu, Irina Volf, Valentin I. Popa, prezentare orală (ppt) la SIMPOZIONUL ȘTIINȚIFIC ANUAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ „HORTICULTURA ȘTIINȚA, CALITATE, DIVERSITATE ȘI ARMONIE ”, „ 60 ani de învățământ superior horticol la Iași”, Facultatea de Horticultura, 26-28 Mai 2011, Iași, Romania.
2. DEVELOPEMENT OF *RHODOTORULA* YEAST UNDER THE INFLUENCE OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN THE PRESENCE OF COPPER IONS, Corneliu Tanase, Anca Roxana Hainal, Ioana Ignat, Irina Volf, Valentin I. Popa, prezentare de poster la SIMPOZIONUL ȘTIINȚIFIC ANUAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ „HORTICULTURA ȘTIINȚA, CALITATE, DIVERSITATE ȘI ARMONIE ”, „ 60 ani de învățământ superior horticol la Iași”, Facultatea de Horticultura, 26-28 Mai 2011, Iași, Romania.
3. „THE EFFECT OF SPRUCE BARK POLYPHENOLS EXTRACT IN COMBINATION WITH DEUTERIUM DEPLETED WATER (DDW) ON *GLYCINE MAX L.* AND *HELIANTHUS ANNUUS L.* DEVELOPMENT”, sub formă de poster, autori: Corneliu Tanase, Alina Stingu, Irina Volf, Valentin I. Popa, în cadrul Sesiunii Științifice cu participare internațională „Diversitate structurală și funcțională în organizarea biologică”, organizată de Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Facultatea de Biologie, la data de 7- 8 octombrie 2011, Iași, România.
4. „THE EFFECT OF SHIVES HEMP AQUEOUS EXTRACT ON *BRASSICA NAPUS L.* DEVELOPMENT PLANT”, sub formă de poster, autori: Corneliu Tanase, Cecilia Sârghie, Valentin I. Popa, la „International Conference of Applied

Sciences, Chemistry and Chemical Engineering”, organizată de Universitatea „Vasile Alecsandri”, la data de 24-27 aprilie 2012, Bacău, România.

5. „INFLUENȚA APEI SĂRACE ÎN DEUTERIU ȘI A EXTRACTULUI POLIFENOLIC OBȚINUT DIN COAJA DE MOLID ASUPRA PLANTELOR DE FLOAREA SOARELUI” in format ppt, autori: Corneliu Tanase, Irina Volf, Valentin I. Popa, în cadrul Sesiunii științifice studențești, Secțiunea *STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANȚE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)*, organizată de Universitatea „Gheorghe Asachi”, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului la data de 24-25 mai 2012, Iași, România.
6. „DEUTERIUM DEPLETED WATER AND SPRUCE BARK EXTRACT – BIOREGULATORS FOR MAIZE AND RAPE PLANTS”, sub formă de poster, autori: Corneliu Tanase, Irina Volf, Valentin I. Popa, în cadrul Zilelor Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, Ediția a VIII-a, „Materiale și Procese Inovative” organizate de Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi”, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, Școala Doctorală a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, la data de 17- 18 noiembrie 2011, Iași, România
7. „DEUTERIUM DEPLETED WATER (DDW) AND SPRUCE BARK POLYPHENOLS EXTRACT IMPLICATE IN *Zea mays* L. PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT”, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Valentin I. Popa, prezentare de poster la Sesiunea Științifică cu participare internațională intitulată: „Impactul antropic asupra diversității structurale și funcționale a sistemelor biologice” 26-27 octombrie 2012, Iași – Romania
8. „POTENTIAL APPLICATIONS OF WASTES FROM FORESTRY AND ENERGY INDUSTRY AS PLANTS BIOREGULATORS”, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Valentin I. Popa, prezentare de poster la Conferința internațională intitulată: “CENTENARY OF EDUCATION IN CHEMICAL ENGINEERING”, 28-30 noiembrie 2012, Iași – Romania
9. „NEW NATURAL AMENDMENTS IN PHYTOREMEDIATION”, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Valentin I. Popa, prezentare de poster la Sesiunea Științifică cu participare internațională intitulată: “Impactul antropic asupra diversității structurale și funcționale a sistemelor biologice” 26-27 octombrie 2012, Iași – Romania
10. „THE INFLUENCE OF DEUTERIUM DEPLETED WATER (DDW) AND SPRUCE BARK POLYPHENOLS ON *ZEAMAYS* L. GROWTH AND DEVELOPMENT”, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Volf, Valentin I. Popa, prezentare de poster la Conferința internațională intitulată: “CENTENARY OF EDUCATION IN CHEMICAL ENGINEERING”, 28-30 noiembrie 2012, Iași – Romania
11. POTENTIAL APPLICATIONS OF WASTES FROM ENERGY AND FORESTRY INDUSTRY IN PLANT TISSUE CULTURE, Corneliu Tanase, Smaranda Vintu , Irina Volf, Valentin I. Popa , COST Action FP0901 “Analytical tools for biorefinery” MC meeting and Workshop “Challenges in lignin analytics: thermal properties and quantitation”, 30 – 31 august 2012, VTT Technical Research Centre of Finland in co-op. with Aalto University Tekniikkatie 2-3, Espoo, FINLAND
12. “EFFECT OF NATURAL PRODUCTS ON SOME PHYSIOLOGICAL PROCESSES OF SOYBEAN PLANTS (*Glycine max* L.)”, autori: **Corneliu Tanase**, Valentin I. Popa, SIMPOZIONUL ȘTIINȚIFIC ANUAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ „HORTICULTURA, ȘTIINȚA, CALITATE, DIVERSITATE ȘI ARMONIE ”, Facultatea de Horticultură, 24-26 Mai 2013, Iași, Romania.
13. NANODISPERSION BASED ON LIGNIN AS A GROWTH REGULATORS autori: **Corneliu Tanase**, Iulian Andrei Gilca, Adrian Catalin Puitel, Valentin I. Popa, SIMPOZIONUL ȘTIINȚIFIC ANUAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ „HORTICULTURA, ȘTIINȚA, CALITATE, DIVERSITATE ȘI ARMONIE ”, Facultatea de Horticultură, 24-26 Mai 2013, Iași, Romania.
14. BIOREFINING AS A POSSIBILITY TO RECOVER BIOACTIVE PRODUCTS USED TO INFLUENCE CYTOGENETICAL AND HISTO – ANATOMICAL ASPECTS OF MAIZE (*Zea mays* L.) PLANT, autori: **Corneliu Tanase**, Irina Boz, Iuliana Csila Băra, Irina Volf, Valentin I. Popa, COST FP0901 final meeting “Biorefinery analytics – Outcomes from COST Action FP0901” in Åbo/Turku, Finland, September 17-18, 2013