



UNIUNEA EUROPEANĂ



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



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL NAȚIONAL
DE CERCETĂRI ECONOMICE
„Costin C. Kirilescu”

„Proiect cofinanțat din Fondul Social European
prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007- 2013”

Investește în oameni!



Universitatea de Vest “Vasile Goldiș” din Arad

TEZĂ DE DOCTORAT

Metodă bio și ecosanogenă de determinare a
capacității de absorbție a organelor plantulelor prin
intermediul colorantului vital roșu neutru, ca
substituent al radionuclizilor

**Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Aurel Ardelean**

**Doctorand,
Rișcuța Andreea Ioana**

- Arad -

Cuprins

1. CONSIDERAȚII GENERALE

1.1. INTRODUCEREA

1.1.1. Radionuclizii

1.1.2. Coloranții vitali

1.2. GERMINAȚIA SEMINȚELOR

1.2.1. Rădăcina

1.2.1.1. Structura vârfului rădăciniței embrionare

1.2.1.2. Fiziologia rădăciniței embrionare

2. CERCETĂRI PROPRII

2.1. SCOPUL TEZEI

2.2. MATERIAL ȘI METODE DE LUCRU

2.2.1. Materialul vegetal cu care s-a lucrat

2.2.1.1. Încadrarea taxonomică a speciilor vegetale cu care s-a lucrat în cadrul prezentei teze de doctorat

2.2.2. Experimentele organizate

2.2.2.1. Determinarea capacității de absorbție a roșului neutru de către rădăcinița embrionară, respectiv de radicelele secundare formate la nivelul acesteia, în decursul procesului de germinare, precum și a restului organelor plantulei (hipocotil, cotiledoane și epicotil, dacă a fost cazul

2.2.2.1.1. Particularități de metodică

2.2.2.2. Determinarea capacității de absorbție a P de către rădăcinița embrionară, respectiv de către radicelele secundare formate la nivelul acesteia în decursul procesului de germinație, precum și a restului organelor plantelor (hipocotil, cotiledoane și epicotil, dacă a fost cazul)

2.2.2.2.1. Particularități de metodică

2.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

2.3.1. Determinări privind absorbția și acumularea colorantului vital roșu neutru în rădăcinița embrionară și în rădăcinițele secundare ale plantulelor pe parcursul germinației materialului semincer, la 10 specii vegetale, comparativ cu urmărirea evoluției parametrului respectiv analizat în restul organelor acestora.

2.3.1.1. Experiment efectuat cu plantule de *pin negru* (*Pinus nigra*)

2.3.1.2. Experiment efectuat cu plantule de *ricin* (*Ricinus communis*)

2.3.1.3. Experiment efectuat cu plantule de *floarea-soarelui (Helianthus annuus)*

2.3.1.4. Experiment efectuat cu plantule de *lupin (Lupinus albus)*

2.3.1.5. Experiment efectuat cu plantule de *soja (Glycine hispida)*

2.3.1.6. Experiment efectuat cu plantule de *fasole (Phaseolus vulgaris)*

2.3.1.7. Experiment efectuat cu plantule de *mazăre (Pisum sativum)*

2.3.1.8. Experiment efectuat cu plantule de *bob (Vicia faba)*

2.3.1.9. Experiment efectuat cu plantule de *stejar (Quercus robur)*

2.3.1.10. Experiment efectuat cu plantule de *porumb (zea mays)*

3. CONCLUZII FINALE

4. BIBLIOGRAFIE

1. CONSIDERAȚII GENERALE

O mare parte dintre viețuitoarele pământului sunt reprezentate de plante. Ele joacă un rol foarte important din punct de vedere ecologic atât ca sursa de hrană cât și ca “perdea protectoare”.

La plante, mai mult decât la alte organisme, mediul în care acestea trăiesc joacă un rol hotărâtor în ceea ce privește calitatea vieții lor și care, în unele împrejurări, determină și moartea acestora. Din acest punct de vedere, biologia modernă este preocupată de studierea aspectelor **ecologice**, de cunoașterea ecosistemelor și a **biocenozelor**, dar și de conservarea **biodiversității** pe Terra și promovarea unei economii *ecologizate*, protejând mediul natural de denaturare și poluare.

Conceptul de **ecosanogeneză** reunește într-un singur cuvânt termenii de „*ecologic*” și cel de „**sanogeneză**” sintagmă ce a luat naștere plecând de la idea că nu poate exista un om sănătos într-un „mediu bolnav (<http://ro.wikipedia.org/wiki/Ecologie>).

SCOPUL STUDIULUI ȘI OBIECTIVELE URMĂRITE

În trecut în studiul activității vitale a plantelor au fost folosiți așa numiții *izotopi radioactivi sau radioizotopi sau radionuclizi*.

În ultimele decenii, utilizarea radionuclizilor a fost mult redusă, descoperindu-se caracterul poluant al acestora și dificultatea cu care un astfel de „deșeu” radioactiv este dificil de anihilat .

În conformitate cu subiectul tezei de doctorat ales de către subsemnata, ca titlu al prezentei lucrări, care privește *determinarea capacității de absorbție a rădăcinilor plantulelor cu colorantul vital roșu neutru, ca substituent al radionuclizilor*, am considerat că o astfel de procedură ar fi *bio-* și *ecosanogenă* și în alte experimente de citofiziologie, sau de măsurare a capacității de absorbție a diferitelor celule, țesuturi ori organe vegetale, metodă care este eficientă și nepoluantă.

2. CERCETĂRI PROPRII

2.1. Determinarea capacității de absorbție a P de către rădăcina embrionară, respectiv de către radicele secundare formate la nivelul acesteia în decursul procesului de germinație, precum și a restului organelor plantelor (hipocotil, cotiledoane și epicotil, dacă a fost cazul.

Conform procedurii de determinare a conținutului în P impusă de către Consiliul Național pentru Știință și Tehnologie, elaborată de către Institutul Român de Standardizare pentru determinarea fosfaților din ape și din sol, respectiv a ortofosfaților, polifosfaților și a fosfaților legați organic, principiul metodei (vezi Anexa 1) are în vedere faptul că *molibdatul de amoniu* și *tartratul de stibiu și de potasiu* au capacitatea de a forma un *heteropoliacid* care redus cu acidul ascorbic la albastru de molibden poate fi fotometrată, intensitatea colorației fiind direct proporțională cu concentrația ionilor de P.

În cadrul experimentului nostru, rădăcina embrionară sau sistemul radicular al plantulelor de diferite vârste, a fost menținut submersat în soluție nutritivă *Knopp*, timp de 2 ore. Apoi, soluția a fost decantată și a fost utilizată în determinarea conținutului ei în P

2.2. Material și metode de lucru

În prezenta lucrare de doctorat sa lucrat cu colorantul vital *roșu neutru* colorant bazic adică gruparea cromoforă este legată de anion , am urmărit atât acumularea cantitativă a *roșului neutru* în rădăcinile plantulelor a zece specii vegetale, cât și aspecte privind colorația diferitelor celule ale țesuturilor radiculare ale acestora. Pentru determinarea capacității de absorbție a cotiledoanelor am folosit o metodă de dozare cantitativă a roșului neutru

Pentru a dispune de rezultate experimentale cât mai valoroase și pentru a avea posibilitatea de a asigura o repetabilitate a acestor cercetări, ca model experimental am utilizat plantule, respectiv *rădăcinile* acestora, în special a celor embrionare.

2.2.1. Determinarea capacității de absorbție a roșului neutru de către rădăcina embrionară, respectiv de radicele secundare formate la nivelul acesteia, în decursul procesului de germinare, precum și a restului organelor plantulei (hipocotil, cotiledoane și epicotil, dacă a fost cazul).

Pe baza citirilor efectuate am calculat:

absorbția totală, care semnifică cantitatea de colorant vital roșu neutru (în mg) pătrunsă și acumulată în celulele organului analizat, pe unitate de timp (prescurtat mg/2h/organ);

absorbția specifică, care se referă la cantitatea de colorant vital roșu neutru pătrunsă și acumulată în organul analizat, în unitatea de timp și raportată la greutatea uscată a materialului vegetal din care colorantul a fost extras (prescurtat mg/g/2h/organ).

Calcululele au fost efectuate utilizând următoarea formulă:

$$A_s = \frac{C \cdot V}{n \cdot g} \qquad A_t = \frac{C \cdot V}{n} [\text{mg} / \text{organ}]$$

At = absorbția totală

As = absorbția specifică

V = volumul total al soluției colectate de pe o probă

n = numărul organelor analizate

g = greutatea uscată a materialului vegetal

S-a analizat capacitatea de *absorbție totală* și *specifică* a rădăcinii embrionare și a celor secundare ce s-au format la nivelul acesteia și separat s-a determinat absorbția per cotiledoane și hipocotil, împreună.

Datele medii obținute au fost exprimate în valori fotometrice și în valori procentuale, prin raportarea datelor la cantitatea absorbită de întreaga plantulă și considerată ca 100%. Asemenea calcule s-au făcut și pentru exprimarea greutății față de aceea a plantulei întregi.

2.3.Determinări privind absorbția și acumularea colorantului vital roșu neutru în rădăcina embrionară și în rădăcinile secundare ale plantulelor pe parcursul germinției materialului semincer, la 10 specii vegetale, comparativ cu urmărirea evoluției parametrului respectiv analizat în restul organelor acestora.

2.3.1. Experiment efectuat cu plantule de pin (*PINUS NIGRA*)

Pinul negru germinează lent. Astfel în cea de a 5-a zi de germinție rădăcina embrionară și o parte din hipocotil abia au penetrat tegumentul seminal, iar în cea de a 7-a zi de la punerea semințelor la germinat, la plantulă se distinge nu numai rădăcina embrionară, ci și hipocotilul. Cotiledoanele pot fi zărite doar în cea de a 13-a zi de germinare, dar încă nu a căzut de pe ele tegumentul seminal. La 21 de zile de germinare plantula de pin are o rădăcină embrionară lungă (Fig. 1 A poziția „c”), dar pe suprafața acesteia nu se zăresc radicele secundare. În schimb, cotiledoanele sunt numeroase și încep să se înverzească.

În urma submersării plantulelor în soluția de colorant vital, roșu neutru în concentrație de 100 mg/l, rădăcina embrionară absoarbe intens colorantul în vârful acesteia (Fig. 1 B și C); în imaginile microscopice se disting celulele *caliptrale* puternic colorate în roșu închis; deasupra *caliptrei* este situat *meristemul* ce de asemenea, se colorează intens cu roșu neutru.

Determinările cantitative, în ceea ce privește *absorbția totală* în rădăcină, efectuate în primele 17 zile de germinție, cât și în raportarea datelor fotometrice la curba etalon (Fig. 2), evaluări făcute în cea de 5-a, 7-a, 9-a, 11-a, 13-a, 15-a și 17-a zi de germinție, au indicat faptul că, rădăcina embrionară – pe toată durata efectuării investigațiilor – a acumulat cea mai mare cantitate de colorant vital, în valori procentuale (Fig. 4) acest organ depășind substanțial absorbția roșului neutru realizată în cotiledoane plus hipocotil, valorile procentului de participare a absorbției radiculare cifrându-se la circa 60% din absorbția înregistrată la nivelul întregii plantule.

În cazul raportării rezultatelor înregistrate în ceea ce privește absorbția totală la *greutatea uscată* a organului examinat se obține *absorbția specifică*. Este de subliniat faptul că, între ziua a 13-a și în a 17-a de germinție a pinului negru se produce o scădere a absorbției totale și a celei specifice (Fig. 2 și 3), dar și a valorilor acestor parametrii exprimate în procente, în raport cu absorbția roșului neutru realizată la nivelul întregii plantule (Fig. 4 și 5), dar și a greutateii uscate a

organelor analizate (Fig. 6 și 7), fenomen care nu poate fi explicat decât prin trecerea plantulelor de la nutriția heterotrofă la un metabolism fotoautotrof.

Raportarea datelor privind absorbția totală la greutatea uscată a organelor analizate, evidențiază faptul că, deși masa vegetativă, uscată, a rădăcinii embrionare este mică, capacitatea ei de absorbție este foarte mare, în comparație cu greutatea însumată a hipocotilului cu cea a cotiledoanelor care au un nivel scăzut al absorbției, prezintă o greutate ridicată și o capacitate foarte redusă de absorbție

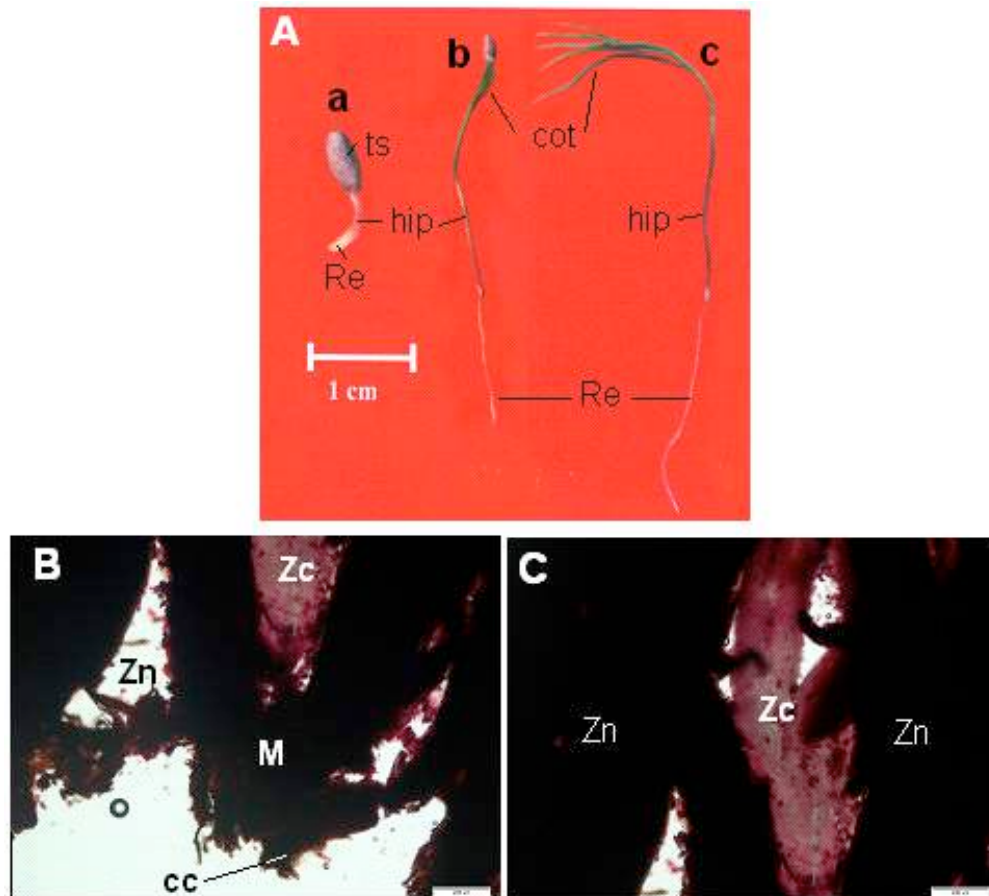


Fig. 1. Aspectul plantulelor de *pin negru* (*Pinus nigra*) rezultate din germinarea în caserole a semințelor ce au fost amplasate pe hârtie de filtru albă, umidificată pe parcursul a 17 de zile de la punerea lor la încolțit (Fig. 1 A: a – plantulă în vârstă de 7 zile; b – plantulă în vârstă de 13 zile și c – plantulă în vârstă de 17 de zile; abrevieri: cot – cotiledoane; hip – hipocotil; Re – rădăciniță embrionară; ts – tegument seminal); B și C – aspectul vârfului de rădăciniță embrionară colorat cu soluție de roșu neutru, văzută la microscop, cu obiectivul 10 unde: cc – celule caliptrale; M – meristem; Zn – zona netedă a rădăcinii; Zc – zona centrală a zonei de creștere prin întindere a vârfului de rădăciniță.

2.3.2. Experiment efectuat cu plantule de ricin (*Ricinus communis*)

În cadrul experimentului efectuat cu plantule de ricin ca material vegetal am utilizat semințe germinate și plantule de ricin de diferite vârste. Exprimarea finală a rezultatelor a constat în calcularea în valori absolute (media aritmetică) a *absorbției totale* și a *absorbției specifice*, în cel de al doilea caz datele obținute în urma calculării absorbției totale fiind raportate la *greutatea uscată* a organelor din care s-a extras colorantul, cu referire la un individ. Datele au fost exprimate și la valori relative, obținute prin calcule matematice de raportare a rezultatelor, în procente per întreaga plantulă, valori considerate ca fiind 100%.

Determinările au fost făcute în cea de a 3-a, 5-a, 7-a, 9-a și a 11-a zi de germinanție. Graficele din figura 10 reprezintă variațiile capacității de absorbție a plantulelor și a organelor acesteia, la diferite vârste de la punerea semințelor la germinat, exprimate în valori absolute, de mg/2h de absorbție, ele reprezentând *absorbția totală* a rădăciniței embrionare, împreună cu cea a celor secundare, sau a restului plantulei, respectiv prin calcul procentual de absorbție realizat pe întreaga plantulă, valori considerate ca fiind 100%, calculându-se totalul absorbției radiculare și, separat, absorbția realizată de hipocotil plus cotiledoane și un început de epicotil, date reprezentate grafic în figurile 10-13.

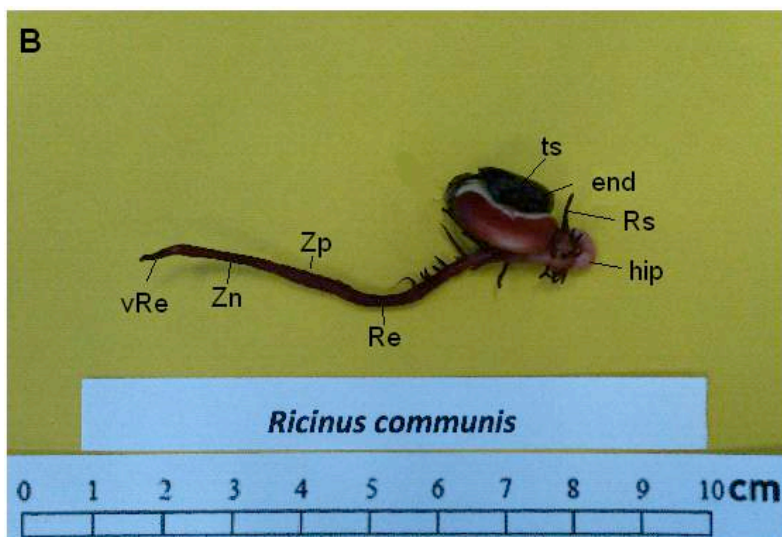


Fig. 8. Aspectul plantulelor de ricin (*Ricinus communis*) în cea de a 3-a zi de germinanție; B – colorarea rădăcinițelor după cufundarea lor timp de 2h în soluția de roșu neutru în concentrație de 100 mg/l apă de robinet (abrevieri: end – endosperm; hip – hipocotil; Re rădăciniță embrionară; Rs – rădăcinițe secundare; vRe – vârf rădăciniță embrionară; Zn – zonă netedă; Zp – zonă perișori absorbantți; ts – tegument seminal;end-endosperm).

2.3.1.3. Experiment efectuat cu plantule de floarea-soarelui (*Helianthus annuus*)

Imaginile vârfului de rădăciniță embrionară de floarea-soarelui studiate la microscopul optic au permis evidențierea faptului că, celulele situate la suprafața vârfului radicular s-au colorat puternic cu roșu neutru absorbit, acumulând o cantitate foarte mare de colorant și devenind extrem de închise la culoare, mai ales atunci preparatul a fost examinat cu obiectiv mic (Fig. 16 B). Dacă preparatul a fost presat – de sus în jos – o parte din celule au fost dislocate, ceea ce a permis să se vadă celulele care au acumulat mult roșu neutru și în zona centrală a plantulelor

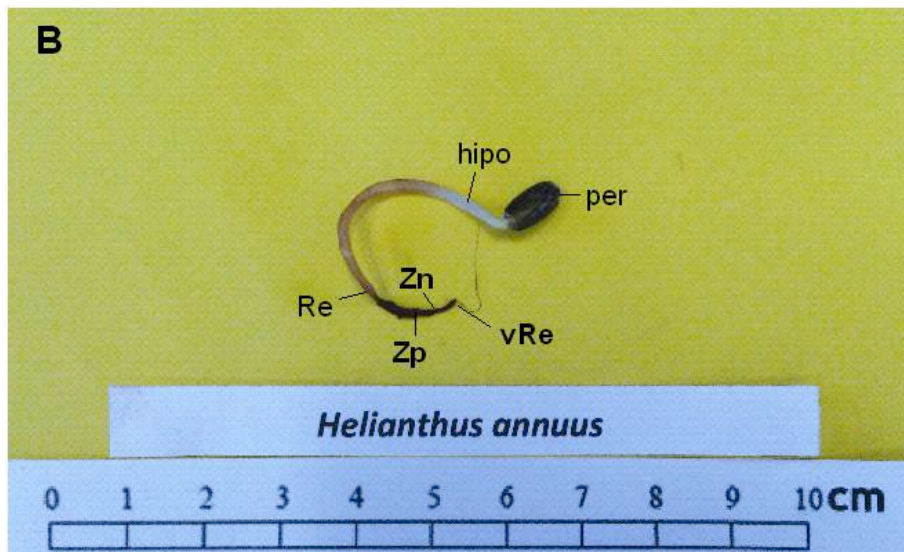


Fig. 16. Aspectul plantulelor de floarea-soarelui (*Helianthus annuus*) în cea de a 3-a zi de germinație ,B – colorarea rădăcinițelor după cufundarea lor timp de 2h în soluția de roșu neutru în concentrație de 100 mg/l apă de robinet (abrevieri: hipo – hipocotil; per – pericarp; Re rădăciniță embrionară; Rs – rădăcinițe secundare; vRe – vârf rădăciniță embrionară; Zn – zonă netedă; Zp – zonă perișori absorbantți).

2.3.1.4. Experiment efectuat cu plantule de lupin (*Lupinus albus*)

Lupinul este o specie de dicotiledonată, cu semințe exalbuminate, care posedă un embrion ce deține două cotiledoane voluminoase și grele. ”. Cu toate că lupinul este o leguminoasă, ce actualmente face parte din familia *Fabaceae*, în cotiledoane se găsește mai puțin amidon, substanțele de rezervă din parenchimul acestora fiind reprezentate, preponderent, de hemiceluloză și de alte glucide. În figura 24 B este ilustrat aspectul plantulei de lupin după menținerea acesteia timp de 2 h în soluție de colorant vital roșu neutru, în concentrație de 100 mg/l apă de robinet.

După cum se vede din graficul din figura 26 *absorbția totală* în rădăcinițele de lupin, la 3 și 4 zile de germinație, se menține la un nivel destul de ridicat de circa 0,4-0,5 mg roșu neutru absorbit în decurs de 2 h de submersie a plantulelor în soluția de colorant; valorile acestui parametru înregistrează un declin în cea de 5-a zi de germinație, etapă în care începe înverzirea ușoară a cotiledoanelor și pregătirea acestora pentru fotosinteză, plantule depășind faza de răsărire și de pregătire a organismului vegetal pentru a trece metabolismul spre starea de fotosinteză, cu toate că încă cotiledoanele sunt destul de încărcate cu substanțe de rezervă.

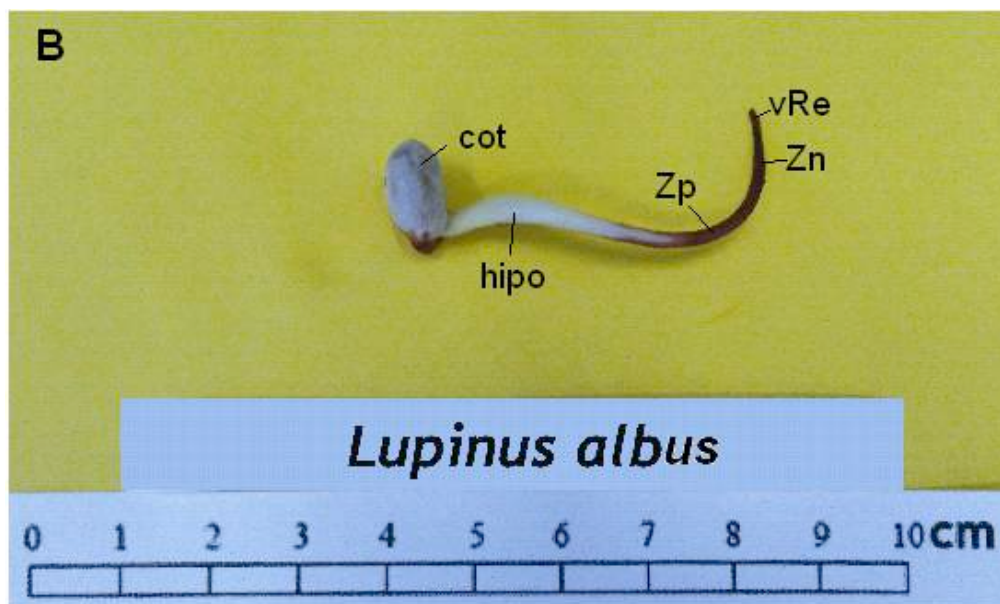


Fig. 24. Aspectul plantulelor de lupin (*Lupinus albus*) în cea de a 3-a zi de germinație; B – colorarea rădăcinițelor după cufundarea lor timp de 2 h în soluția de roșu neutru în concentrație de 100 mg/l apă de robinet (abrevieri: hip – hipocotil; Re – rădăciniță embrionară; Rs – rădăcinițe secundare; vRe – vârf rădăciniță embrionară; Zn – zonă netedă; Zp – zonă perișori absorbantți).

2.3.5. Experiment efectuat cu plantule de soja (*Glycine hispida*)

Soja face parte tot din gruparea taxonomică a leguminoaselor cu cotiledoane epigee, ce devin fotosintetizante. Semințele de soja conțin în parenchimul lor de rezervă un procent foarte ridicat de proteine dar și de lipide nesaturate .

Grație conținutului ridicat în proteine a boabelor de soja, procesul de hidratare a semințelor în cursul fazei de imbibiție a acestora decurge mai rapid decât la alte semințe și rădăcina embrionară penetrează tegumentul seminal la nivelul *micropilului*. După cum rezultă din figura 32 A și B, plantulele de soja nu deține nici un fel de pigmenți naturali, dar la trei zile de germinație cufundarea acestora în soluție de roșu neutru (colorant vital), în concentrație de 100 mg/l, efectuată în apă de robinet, conduce la absorbirea puternică a colorantului în rădăcina și într-o oarecare măsură în hipocotil și în zona bazală, externă, a cotiledoanelor. La 7 zile de germinație imaginile de microscopie optică ilustrează o acumulare a colorantului vital în vârful radicular, atât în zona caliptrală, cât și în zona meristematică, și – într-o oarecare măsură – și în cea de creștere prin întindere.

În ceea ce privește datele referitoare la determinarea cantitativă a *absorbției totale* și a celei *specifice* a rădăcinei embrionare de soja, împreună cu ramificațiile acesteia, sau a celor care privesc concentrația de roșu neutru acumulată în cotiledoane plus în hipocotil (caz în care absorbția colorantului este extrem de redusă) se poate afirma faptul că, în primele cinci zile de germinație absorbția colorantului vital este foarte redusă, fază în care plantulele se nutresc doar cu substanțele de rezervă din cotiledoane.

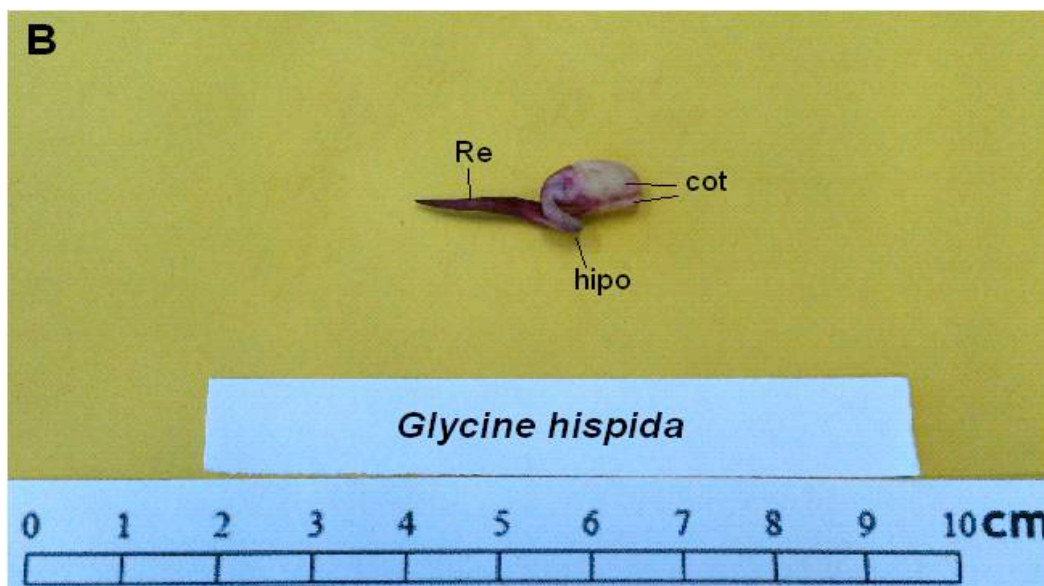


Fig. 32. Aspectul plantulelor de soja (*Glycine hispida*) în cea de a 3-a zi de germinație; B – colorarea rădăcinilor după cufundarea lor timp de 2 h, în soluția de roșu neutru, în concentrație de 100 mg/l efectuată în apă de robinet (abrevieri: hipo – hipocotil; Re – rădăciniță embrionară; Zn – zona netedă; Zp – zona perișori absorbantși; cot – cotiledoane; Za – zona aspră).

2.3.6. Experiment efectuat cu plantule de fasole (*Phaseolus vulgaris*)

Semințele de fasole (sau boabele) au – ca și varietatea tegumentară – dimensiuni foarte diferite, în funcție de soi. În funcție de dimensiunile boabelor variază și mărimea și greutatea embrionară, iar în dependență de structura și luciul tegumentului seminal va varia și viteza cu care se produce imbibiția acestora, dar și trecerea embrionului de la starea de viață latentă, la starea de viață activă.

Embrionul seminței de fasole deține două cotiledoane variabile ca mărime care conțin substanțe de rezervă depozitate în parenchimul lor adică amidon și proteine care servesc prin hidroliza acestora la aprovizionarea cu energie a embrionului.

La *trei zile* de germinație din bobul de fasole are rădăcinița crescută, întrucât ea străpunge deja micropilu (prezent lângă hilul bobului) în jurul vârstei de 30 de ore de germinație și are o creștere relativ rapidă.

În cea de a șaptea zi de germinație, plantula de fasole este deja mare (Fig. 42), sistemul radicular al acesteia este bine reprezentat, hipocotilul este lung și robust, iar dintre cele două cotiledoane se zărește mugurașul.

În figura 42A este prezentat aspectul colorației cu roșu neutru atât a rădăciniței embrionare, cât și a celor secundare, respectiv a întregului sistem radicular.

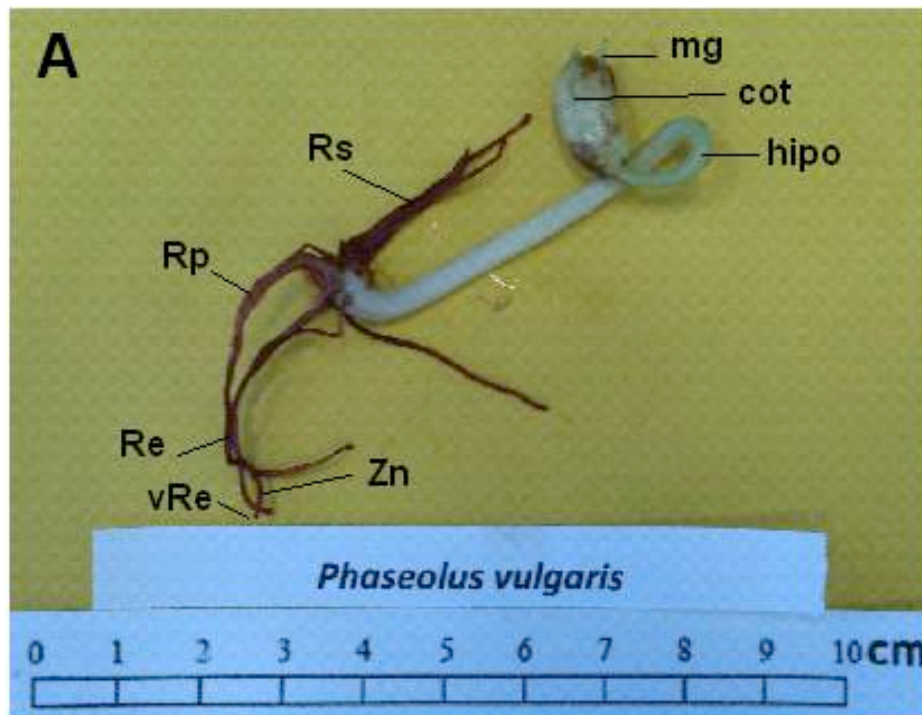


Fig. 42. Aspectul plantulelor de fasole (*Phaseolus vulgaris*) în cea de a 7-a zi de germinație, unde: A – aspectul plantulei înainte de punerea acestora în soluția de colorant soluția de roșu neutru, în concentrație de 100 mg/l, preparată în apă de robinet (abrevieri: cc – celule caliptrale; hipo – hipocotil; Re – rădăciniță embrionară; Rs – rădăcinițe secundare; vRe – vârf rădăciniță embrionară; Zn – zonă netedă; Zp – zonă perișori absorbantți; M – meristem; N – nucleu; Rp – rădăcină principală; mg - muguraș).

2.3.7. Experiment efectuat cu plantule de mazăre (*Pisum sativum*)

După 66-72 de ore de la punerea semințelor de mazăre la germinat începe și mugurașul să se înalțe dintre cotiledoane și să crească odată cu *epicotilul*, plantule având circa trei noduri și două frunzulițe adevărate. Colorantul vital *roșu neutru*, administrat în concentrație de 100mg/l/soluție (preparat proaspăt în apa de robinet) este puternic absorbit în rădăcinița embrionară și în ramificațiile acesteia (Fig. 51 A), imaginile microscopice surprinse la nivelul țesuturilor vârfului de rădăciniță ilustrează pătrunderea și acumularea colorantului atât în caliptră și în straturile de celule din zona netedă a vârfului de rădăcină.

Capacitatea de absorbție a roșului neutru de către rădăcinițele plantulelor de mazăre, respectiv *absorbția totală* crește pe parcursul avansării germinației, altfel spus pe măsură ce se alungește rădăcinița embrionară și se mărește numărul de rădăcinițe secundare și lungimea acestora.

Acest fapt se vede în urma raportării absorbției totale la *greutatea uscată* a rădăcinițelor unei plantule, date care au permis calcularea absorbției specifice. Ca și la absorbția totală și datele de absorbție *specifică* relevă capacitatea de absorbție a rădăciniței ca fiind cea mai reprezentativă, astfel spus cel mai ridicat procent din absorbția întregii plantule este reprezentat de rădăcinițe, ceea ce atestă faptul că roșul neutru se acumulează în organele specializate pentru absorbție și nu în restul plantulei, ce este reprezentat, în calcule de cantitatea de colorant ce s-a absorbit în hipocotil, cotiledoane plus epicotil și cotiledoane, în cazul absorbției specifice intrând în calculul procentual și greutatea acestora.

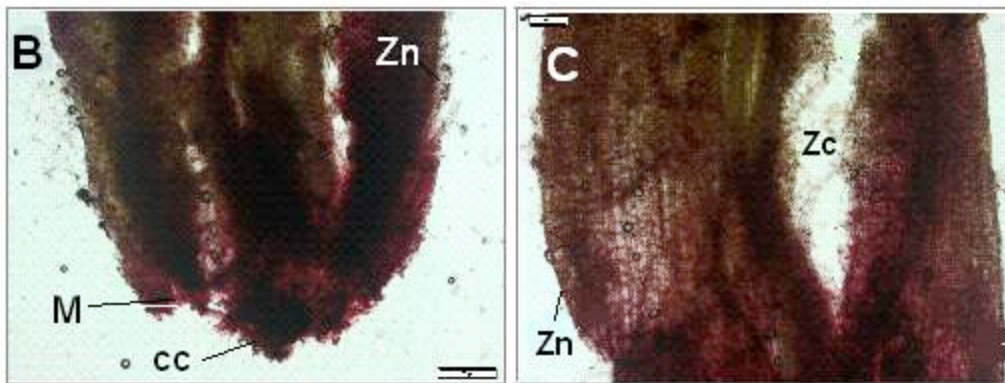
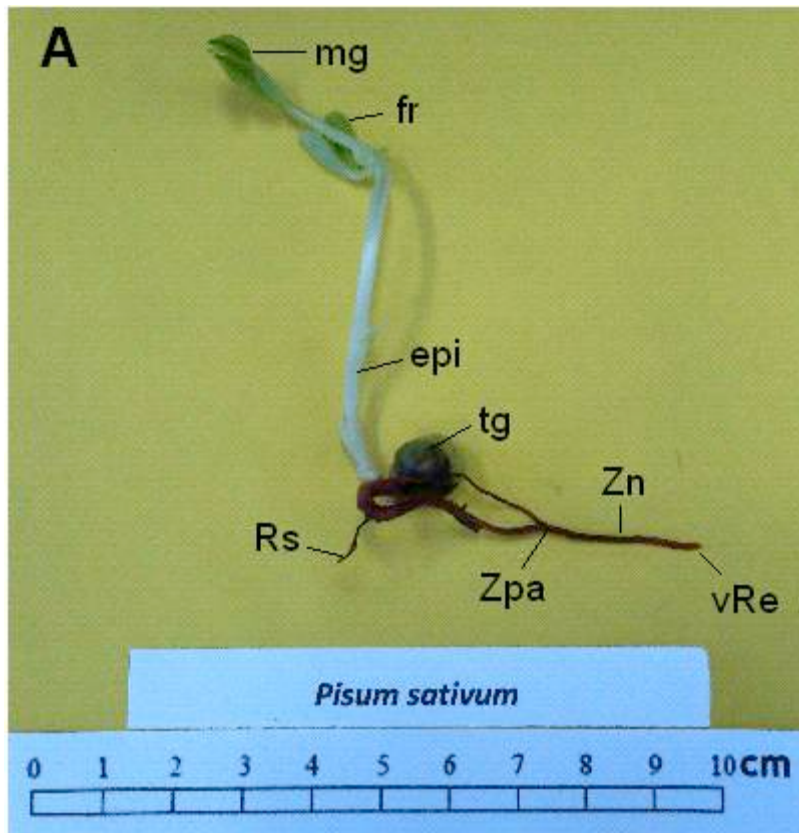


Fig. 51. Aspectul plantulei de mazăre (*Pisum sativum*) rezultate în urma germinării seminței timp de 7 zile pe un strat umidificat cu apă de robinet, constând din hârtie de filtru, așezată într-o caserolă din material plastic, încolor și transparent (A), Fig. B-D aspectul vârfului de rădăciniță, văzut la microscopul optic cu ob. 3 și 10, provenit de la plantule ce au stat 2h în colorantul vital roșu neutru în concentrație de 100 mg/l apă (abrevieri: cot – cotiledoane; hipo – hipocotil; Rs – rădăcini secundare; cc – celule caliptrale; pa – perișori absorbânți; Zc – zonă centrală în zona netedă; Zn – zonă netedă a vârfului de rădăciniță; M – meristem; Zpa – zonă perișori absorbânți; tg – tegument seminal; vRe – vârf rădăciniță embrionară; fr – frunzulițe; mg – muguraș).

2.3.8. Experiment efectuat cu plantule de bob (*Vicia faba*)

Tot dintre leguminoase, respectiv din *familia Fabaceae*, face parte și bobul, o specie de plante care are cotiledoanele plantulelor bogate atât în amidon, cât și în proteine.

Ca și la celelalte specii pe care le-am examinat în prezenta în teza de doctorat, toate țesuturile vârfului rădăcinii embrionare sau secundare se colorează și acumulează colorantul vital roșu neutru (Fig. 60 B și C), ceea ce denotă faptul că aceste tipuri de structuri sunt specializate pentru îndeplinirea funcției de absorbție spre deosebire de hipocotil (Fig 58 B) care nu se colorează în roșu, deci este un organ ce nu îndeplinește o astfel de funcție. Capacitatea de absorbție totală a rădăcinii embrionare în cea de a treia zi de germinație – determinată prin acumularea colorantului vital roșu neutru în celulele țesuturilor acesteia – este scăzută (Fig. 61), ea fiind foarte redusă ca dimensiune (vezi Fig. 58 A și B); la acel moment cotiledoanele plantulelor de bob, ce se aflau descojite, aveau o capacitate de absorbție ce o depășea pe cea a rădăcinii ceea ce este explicabil prin faptul că suprafața lor de absorbție și volumul lor (Fig. 62) este foarte mare în raport cu aceea a rădăcinii, cu atât mai mult cu cât acest organ al embrionului este dotat cu capacitatea de a absorbi apa cu care țesuturile lui de rezervă se îmbibă, dar și aceea de a absorbi și valorifica oxigenul, celulele lui trecând la o respirație din ce în ce mai intensă.

Pe măsură ce germinația avansează și rădăcina plantulei crește procesul de absorbție se intensifică, astfel că la șapte zile de germinație absorbția la nivelul rădăcinii o depășește cu mult pe aceea realizată de celelalte organe care însumează plantula. Creșterea masei radiculare a plantulei rezultă și din calculul procentual privind compararea cotei de participare a rădăcinii la absorbția realizată la nivelul plantulelor (Fig. 63 și 64), mai ales în ceea ce privește absorbția specifică, evaluare prin care s-a putut dovedi că per întreaga plantulă peste 70% (și chiar peste 80%) absorbția este reprezentată de sistemul radicular al plantulei. De altfel, și valorile gravimetrice (Fig. 65 și 66) întăresc observația conform căreia volumul masei radiculare crește pe măsură ce germinația avansează, ceea ce explică odată în plus de ce eficiența rădăcinii sporește, în timp ce cotiledoanele intră în declin fiziologic (ele fiind hipogee viața acestora este în regresie), iar celelalte organe aeriene ale plantulelor nu sunt dotate cu funcția de absorbție, ci colorantul vital – dacă epiderma lor se înroșește – este aderent superficial și nu absorbit.

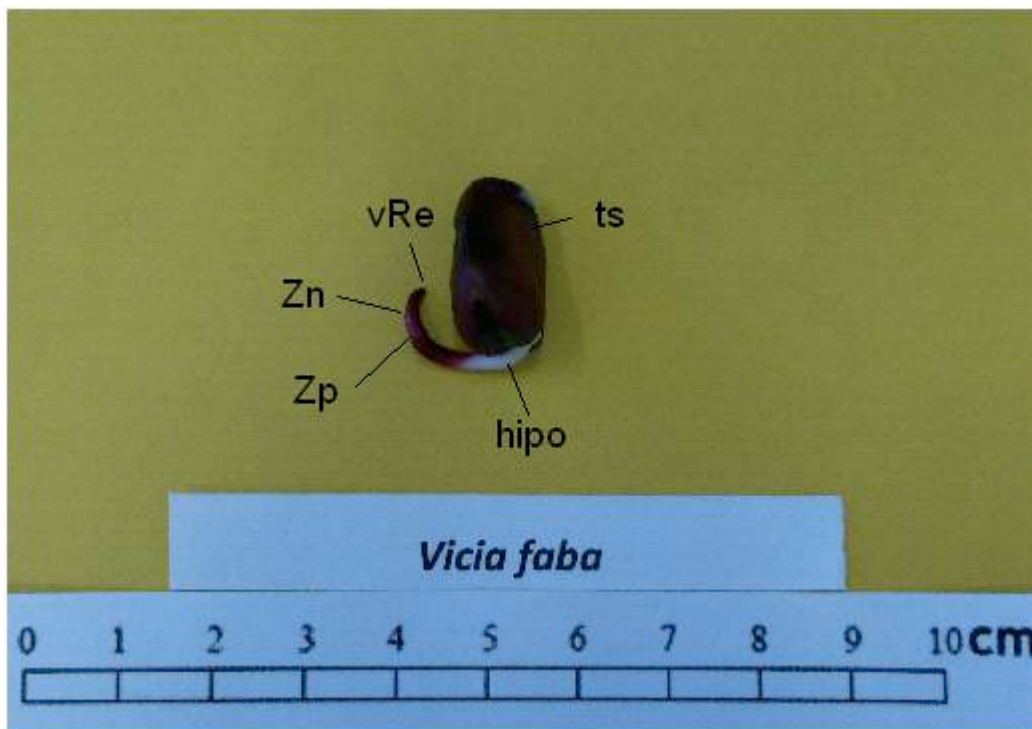


Fig. 58. Aspectul plantulelor de bob (*Vicia faba*) în cea de a 3-a zi de germinație A – aspectul plantulei înainte de punerea acestora în soluția de colorant și B – colorarea rădăcinișelor după cufundarea lor timp de 2h în soluția de roșu neutru în concentrație de 100 mg/l apă de robinet (abrevieri: hipo – hipocotil; Re – rădăcinișă embrionară; vRe – vârf rădăcinișă embrionară; Zn – zonă netedă; Zp – zonă perișori absorbantți; ts – tegument seminal).

2.3.9. Experiment efectuat cu plantule de stejar (*Quercus robur*)

Stejarul are semințe exalbuminate, parenchimul de rezervă al embrionului aflându-se în cotiledoane, ce sunt foarte mari, hipogee, bogate în substanțe de rezervă, de la amidon la compuși proteici, dar și la taninuri și la alți produși secundari de metabolism. Obținerea plantulelor de stejar a necesitat adoptarea unei tehnici experimentale diferită de aceea folosită în cazul speciilor precedente. Pentru germinare, ca și la celelate specii, am descojit fructul sau sămânța, la stejar am îndepărtat pericarpul lignificat, și embrionii „nuzi” au fost însămânțați în lădițe din lemn, umplute cu nisip bine spălat și calcinat, umidificat periodic, după necesitate, cu apă de robinet. În primele 36 de zile de la însămânțare am recoltat plantule ce au fost utilizate în scopul determinării capacității organelor acestora de a absorbi roșu neutru; în cazul stejarului fiind vorba de o plantă lemnoasă a fost necesară prelungirea perioadei de analiză a absorbției colorantului vital la 36 de zile. Înainte de fiecare determinare s-au scos plantulele din nisip și acestea au fost spălate bine cu apă menținută la temperatura laboratorului. Plantulele au fost scufundate în întregime în soluția de roșu neutru, în concentrație de 100 mg/l, preparată în apă de robinet. Durata de absorbție a fost de 2 ore. În continuare, tehnica de lucru a rămas neschimbată. După cum se poate observa în figura 67, care reprezintă *absorbția totală* a colorantului vital roșu neutru în plantulele de stejar, în cotiledoane acumularea acestuia se menține la valori superioare absorbției radiculare, după care în jurul celei de a 26-a zi de germinație valorile reprezentând absorbția roșului neutru în sistemul radicular va depăși absorbția cotiledonară, ascendența absorbției radiculare rămân predominantă până la finele experimentelor. După cum se poate vedea în figura 71 A rădăcinița embrionară a plantulei este garnisită cu o mulțime de rădăcinițe secundare ce sunt dese, dar scurte. Din întreaga cantitate de substanță pătrunsă în plantulă, până în cea de a 26-a zi de germinație, cotiledoanele absorb în jur de 40% din totalul colorantului pătruns la nivelul embrionului. Pe parcursul germinației s-a înregistrat un declin al absorbției în perioada de generare a radicelelor secundare, respectiv la circa 16 zile de la amplasarea semințelor de stejar în substratul nisipos, perioadă în care se înregistrează și demararea creșterii mugurașului.

Întrucât greutatea uscată a plantulelor de stejar în decursul a 36 de zile de la punerea ghinzilor la germinat crește valoric foarte mult în raport cu primele zile de la amplasarea lor în nisip, a fost necesară inserarea datelor gravimetrice rezultate în urma măsurătorilor, într-un tabel, fiind foarte mari diferențele cifrice.

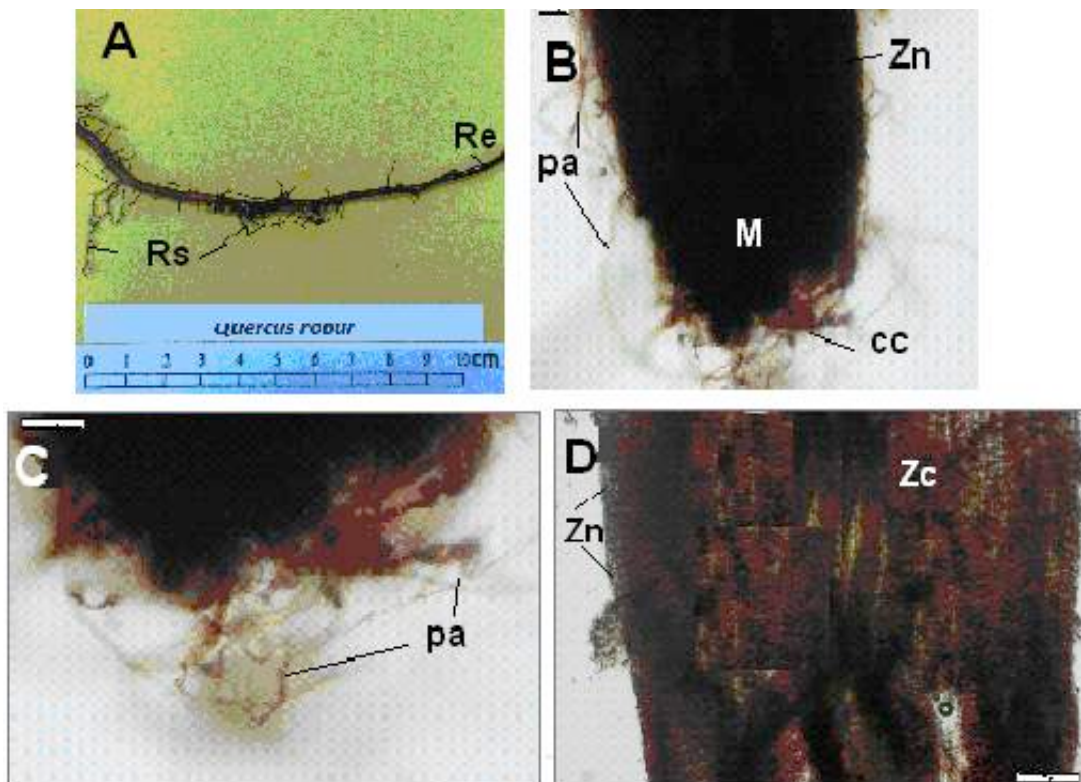


Fig. 71. Aspectul plantulelor de *stejar* (*Quercus robur*) în ce de a 7-a zi de germinație după colorarea acestora timp de 2 h cu soluție de roșu neutru în concentrație de 100 mg/l, preparat în apă de robinet, unde: A – imaginea macroscopică a rădăciniței embrionare (Re) care prezintă numeroase radicele secundare (Rs) și B-C – imagini de microscopie ale vârfului de rădăciniță (abrevieri: cc – celule caliptrale; pa – perișori absorbantți; Zn – zonă netedă; Zc – zonă centrală; M – meristem).

2.3.1.10. Experiment efectuat cu plantule de porumb (*Zea mays*).

În cazul acestui experiment, embrionul – respectiv plantula – aparține unei specii monocotiledonate, din grupul gramineelor, ce au embrionul „încapsulat” într-un fruct indehiscent de tip cariopsă, care în limbaj popular poartă denumirea curentă de bob, sau – în sens incorect din punct de vedere științific – aceea de sămânță.

În cazul plantulelor de porumb, după cum se poate observa din figura 72 A și B, la trei zile de germinație rădăcina embrionară avea o talie de trei centimetri, pe ea aflându-se un număr de 4-5 radicele secundare și la nivelul hipocotilului, în imediata vecinătate a cariopsei se reliefează câte 2 rădăcini adventive, unele penetrând chiar din interiorul bobului de porumb. Comparând imaginile cu porumb încolțit (figura 71 A), cu cel similar dar colorat cu roșu neutru se distinge clar acumularea puternică a colorantului în rădăcinițele nepenetrând în coleoptil. La șapte zile de germinație, pe traectul rădăciniței embrionare se disting numeroase rădăcinițe secundare, care ca și vârful rădăciniței embrionare deține structura caracteristică vârfului radicular, respectiv la nivelul acestora (ca și la vârful rădăcinițelor adventive) se distinge țesutul *caliptral* (Fig. 73 și C), ce ocrotește *meristemul* radicular care are un amplasament apical, dar subterminal, porțiune ce se continuă cu zona de de creștere prin întindere, respectiv netedă sau de diferențiere a celuleor în profunzimea zonei respective, porțiune care se continuă ca zona piliferă și cu zona aspră.

În figura 74 am reprezentat grafic *absorbția totală* a roșului neutru în rădăcinițele de porumb în condițiile cufundării plantulelor de 3, 5, 7, 9 și 11 zile de germinație în soluție de colorant vital preparată în concentrație de 100 mg/l, efectuată în apă de robinet.

Din analiza histogramelor prezentate în figura 74 se poate deduce că pe măsura avansării germinației se înregistrează o creștere gradată a absorbției roșului neutru pe total sistem radicular, dar nicio altă parte a plantulei de porumb nu se colorează, motiv pentru care nu am putut reprezenta valori ale absorbției colorantului în celelalte organite ale plantulelor.

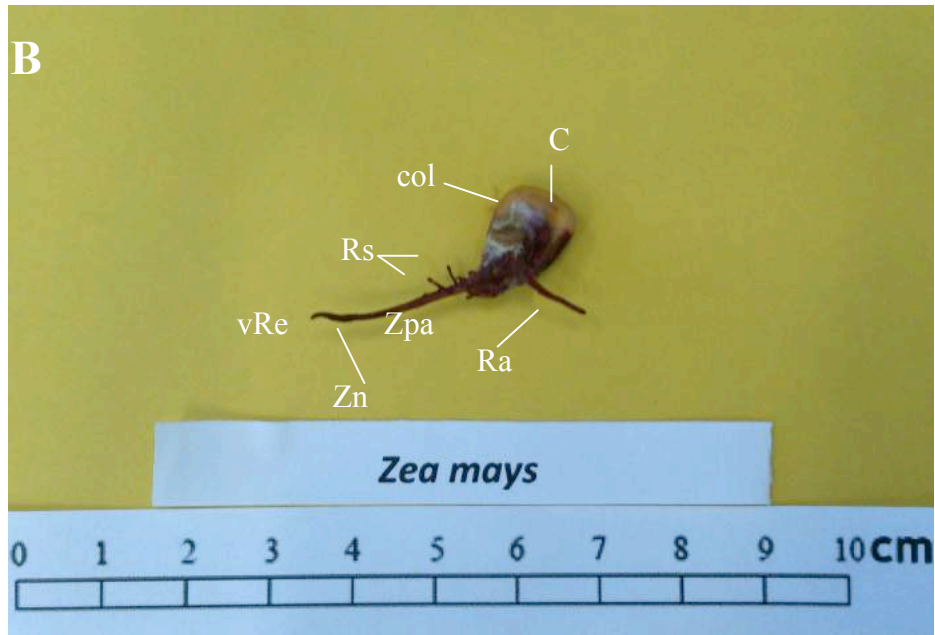


Fig. 72. Aspectul plantulelor de *porumb* (*Zea mays*) aflate în cea de a 3-a zi de germinație: B – aspectul rădăcinițelor după menținerea plantulelor în soluție de colorant vital (abrevieri: C – cariopsa; vRe – vârf rădăciniță embrionară; Rs – radicele secundare; Ra – rădăcinițe adventive; Zn – zonă netedă; Zpa – zonă perișori absorbanți; col - coleoptil).

3. CONCLUZII

Examinarea capacității de absorbție a plantulelor cu ajutorul procedurii de colorație vitală, folosind o soluție apoasă de roșu neutru în concentrație de 100 mg/l, a permis identificarea cantității absorbite și acumulate din acest colorant, în organele absorbante ale acestora. Totodată, această colorație, denumită vitală, permite sesizarea cu ușurință a celulelor vii de cele moarte, în funcție de nuanța sau de tipul de colorație decelându-se celulele vii, respectiv țesuturile viabile de cele moarte.

Din punct de vedere fiziologic, metoda de colorarea a țesuturilor plantulelor, respectiv a organelor acestora, cu o soluție de roșu neutru (preparată în apa de robinet), poate fi considerată ca fiind utilizată ca procedură de evaluare a capacității de absorbție a unui compus și reacția anumitor organe și țesuturi vii, în funcție de condițiile externe mai mult sau mai puțin nocive, prin comparație cu organe sau celule similare aflate într-un mediu optim de viață, luate ca lot martor (control).

În cazul organelor plantulelor a zece genuri, respectiv specii vegetale, selectate din grupe taxonomice variate, și anume: *pin negru* – **gimnospermă**, *ricin*, *floarea-soarelui*, *lupin*, *soja*, *fasole*, *mazăre*, *bob* și *stejar* – **dicotiledonate** (plantule cu embrioni albuminați sau exalbuminați, ce au țesuturi de rezervă deținătoare de variați compuși organici, plantule ce au cotiledoane epigee sau hipogee – permanente sau caduce – cu capacitate fotosintetizantă sau nu), s-a putut valorifica relevanța eficienței procedurii de colorație vitală, pentru a decela cantitativ variația capacității lor de a absorbi și de a acumula acest compus în funcție de vârsta plantulelor cărora ele le aparțin, procedeul fiind testat pe parcursul primelor zile de germinație (durata fiind extinsă în dependență de gen), dar și la *porumbul* – o **monocotiledonată**.

Acest test a scos în evidență că, rădăcina embrionară are o extrem de mare capacitate de absorbție și de acumulare a acestui colorant vital, în timp ce hipocotilul și epicotilul nu rețin acest compus. Dar, dintre organele plantulelor, în primele zile de germinație, cotiledoanele dețin și ele, capacitatea de a absorbi și a acumula acest colorant vital, dar în raport cu masa acestora (respectiv cu greutatea uscată a lor), cantitatea de roșu neutru ce a fost absorbită a fost mult, mult mai redusă și această capacitate descrește pe măsură ce plantulele înaintază în vârstă și vitalitatea țesuturilor lor se reduce sau funcțiile acestora se schimbă, devenind fotosintetizante.

BIBLIOGRAFIE

1. KEUL, M., SORAN, V., LAZĂR, KEUL, G., 1969, Uber die chemische und photodynamische Wirkung von Neutralrot auf die Rotationsstromung bei *Hordeum vulgare* L., Protoplasma (Austria), p 67, (2-3), 279-293.
2. KEUL, M., 1970, Coloranții vitali și acțiunea lor citofiziologică, Progresele științei (București), p 6, (8), 336-351.
3. KEUL, M., CACHIȚĂ COSMA D., POPOVICI, G.G., 1972, Vitalfarbversuche bei *Cakile maritima* Scop., Rev., Roum. Biol. –Bot. (Bucarest), p 17 (5), 327-334.
4. KEUL, M., 1972, Efectul fotodinamic al eritrozinei B și al luminii vizibile asupra curenților de rotație din perii radicali de orz (*Hordeum vulgare* L.) și rolul protector al ATP-ului față de vătămarea fotodinamică a celulelor, Studia Univ. Babeș-Bolyai, Series Biol. (Cluj-Napoca), p 18, (1), 55-61.
5. POP E., COSMA-CACHIȚĂ D., și SORAN V., 1966, Aufeinanderfolgende Aspekte der vitalfärbung an lupines keimblätter während des keimens., Rev. Roum. Biol. Ser. Bot. București, p 1, 4, 311.
6. POP E., CHACHIȚĂ-COSMA D., HERMAN Gh., SORAN V., ȘTEFĂNESCU F., CONSTANTINESCU O., 1967, Absorbtion and accumulation of p³² in the epigee cotyledons., Rev. Roum. Biol. Ser. Bot., p 1, 4, 281.
7. POP, E., KEUL, M., SORAN, V., 1967, Uber die photodynamische Wirkung von Erzthrosin auf die Rotationsstromung in den Wuryelhaaren der Gerste (*Hordeum vulgare* L.), Protoplasma (Austria), p 64, (4), 426-439.
8. SORAN V., Cercetari privind dezvoltarea regiunilor absorbante ale semințelor în cursul germinației., Stud.și cercet.de Biologie (Cluj) , 1960, 1, 1, 1, 41 cu sistemul radical dezvoltat). Lucrare de dizertație, Univ. Babeș-Bolyai Cluj, fac. St.Naturale.
9. SORAN V., COSMA D., 1962, Efectul transpirației asupra activității absorbante a diferitelor regiuni ale sistemului radical., Univ. Babeș-Bolyai Cluj, p 1, 75.
10. ZAMFIRESCU N., 1937, Influența temperaturii asupra absorbției substanțelor nutritive., Bul. St. Agr. Iași, p 1, 2.

Titlul programului: „Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013”

Titlul proiectului: „*Burse doctorale de pregătire ecoeconomică și bioeconomică complexă pentru siguranța și securitatea alimentelor și furajelor din ecosisteme antropice*”

Editorul Materialului: doctorand Rișcuța Andreea Ioana

Data publicării: 2013