

## INFLUENȚA *OROBANCHE CUMANA* WALLR. DE DIVERSĂ ORIGINE ASUPRA CONȚINUTULUI DE ACIZI NUCLEICI LA FLOAREA-SOARELUI

Elena SAVCA, Victoria POPESCU, Maria DUCA

Catedra Biologie Vegetală

The purpose of this work was to estimate the influence of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) with different origin (Moldova, Rostov, Volgograd) on the content of NA (nucleic acids) in hybrids of the Valentino and Xenia varieties and in their parental lines.

Significant decrease of NA content in leaves of the genotypes infected with broomrape from three geographical areas has been obtained.

The degree of resistance of the studied genotypes by the total content of NA has been revealed: more resistant to broomrape was the Xenia variety, the population of local origin showed a greater tolerance in comparison with the populations from Rostov and Volgograd.

Activitatea funcțională a genomului este redată de capacitatea de replicare a ADN-ului, de transcripție a ARN și sinteza proteinelor, care reflectă realizarea potențialului metabolic și morfogenetic al genotipului [9]. Factorii de stres adesea blochează activitatea funcțională a ADN-ului și sporesc stabilitatea cromatinei. Numeroase cercetări au demonstrat modificarea conținutului de acizi nucleici sub acțiunea factorilor de stres [3-5,7,9,12,15]. Nagl și Capesius [1] indică la variații excesive ale conținutului de ADN nuclear – până la 60%, iar Michaelson [8] și Cavallini [2] au detectat la unele linii de floarea-soarelui variații de 32% și 58%. Șocul termic induce o reducere semnificativă a numărului cistronilor de ARNr. Media copiilor de ADN ribozomal reducându-se cu 37% comparativ cu plantele crescute în condiții normale [11]. Calitatea și cantitatea luminii de asemenea influențează asupra stabilității conținutului de ADN la floarea-soarelui [10].

Abilitatea genomului de a răspunde la factorii de stres ar putea fi un mecanism de adaptare la schimbările din mediu.

Variațiile depistate sunt într-o dependență strânsă atât de natura factorului stresogen, cât și de particularitățile genotipice ale organismelor cercetate [5,13].

În lucrarea de față ne-am propus studiul acțiunii lupoaiei (*Orobanche cumana* Wallr.) din diferite regiuni geografice asupra modificării conținutului de acizi nucleici (AN) în frunzele de floarea-soarelui.

### Material și metode

**Caracteristica obiectului de studiu.** Drept obiect de studiu au servit semințele a doi hibrizi de floarea-soarelui (*Valentino* și *Xenia*) și liniile lor parentale oferite de către AȘP „Magroselect” SRL (or. Soroca).

Familiiile de floarea-soarelui au fost infectate cu trei populații de lupoaie din diferite regiuni geografice: Moldova, Rostov și Volgograd.

**Condițiile de cultivare in vivo.** Plantele au fost crescute în vase de vegetație în care s-a introdus mixtura de sol (nisip : turbă în raport de 1:1) uniform infectată cu semințe de lupoaie (la 1 kg de amestec 0,8 g de semințe). Vasele au fost expuse în camera de cultivare, la temperatura de 23-25°C, fotoperiodicitatea de 14-16 ore, umiditatea de 60% din capacitatea pentru apa solului.

Materialul a fost colectat după o săptămână din momentul apariției lupoaiei la suprafața solului. Plantele au fost sustrate din vase de vegetație, după ce au fost separate rădăcina, tulpina și frunzele pentru analizele biochimice. Proba medie a fost colectată de la 5 plante din fiecare repetiție a variantelor.

**Metodele de cercetare.** Conținutul acizilor nucleici s-a determinat în materialul proaspăt după metoda spectrofotometrică [6].

**Prelucrarea datelor** s-a efectuat prin analiza dispersională, rezultatele au fost comparate în baza criteriului Fisher și estimarea LSD pentru  $P = 0,95$  și  $P = 0,99$  [14]. Calculele s-au realizat cu utilizarea aplicației Microsoft Excel.

### Rezultate și discuții

Investigațiile efectuate asupra genotipurilor studiate au remarcat diferențe vădite în modificarea conținutului de acizi nucleici sumari (ADN și ARN) la plantele infectate cu lupoaia.

Conținutul de AN sumari la familia *Xenia* variază între 0,68 și 1,69 mg/g (Tab.1). În condiții normale de creștere AN sumari au valori în limitele 1,32-1,69 mg/g, cea mai mare valoare atestându-se la forma heterozigotă.

Pe fon de infecție cu lupoai se constată o micșorare semnificativă a AN în majoritatea cazurilor, cea mai vădită observându-se la genotipul homozigot patern la toate trei populații de lupoai utilizate, mai pronunțat fiind la lupoia din regiunea Rostov (0,68 mg/g masă proaspătă).

Tabelul 1

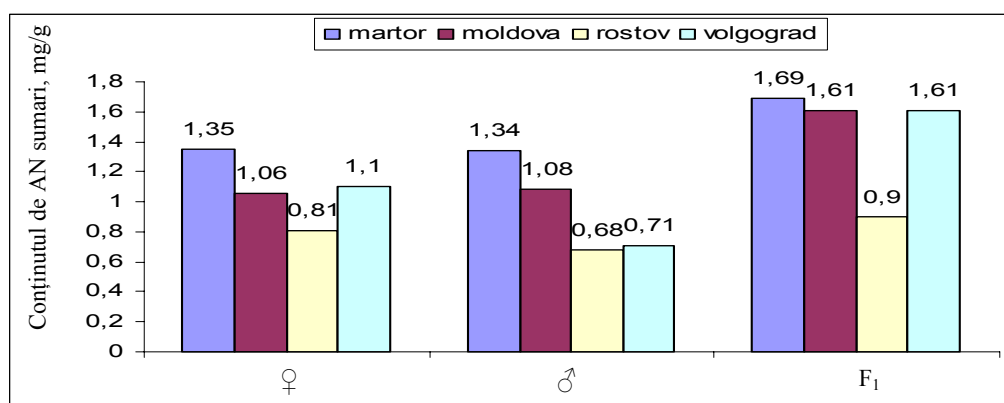
**Influența *O. cumana* Wallr. asupra conținutului de acizi nucleici în frunzele de floarea-soarelui (familia *Xenia*, mg/g masă proaspătă)**

Varianta	Genotip	ARN		ADN		AN	
		M ± m	t <sub>d</sub>	M ± m	t <sub>d</sub>		
Martor	♀	1,03 ± 0,012		0,29 ± 0,019		1,35	
	♂	1,22 ± 0,012		0,12 ± 0,012		1,34	
	F <sub>1</sub>	1,53 ± 0,025		0,16 ± 0,012		1,69	
<i>Orobancha cumana</i> Wallr.	Moldova	♀	0,95 ± 0,015	4,7*	0,11 ± 0,012	8,5*	1,06
		♂	0,94 ± 0,009	18,6*	0,14 ± 0,006	1,3	1,08
		F <sub>1</sub>	1,47 ± 0,012	1,7	0,15 ± 0,015	0,9	1,61
	Rostov	♀	0,70 ± 0,019	15,3**	0,11 ± 0,012	8,6*	0,81
		♂	0,57 ± 0,012	39,2**	0,11 ± 0,006	1,0	0,68
		F <sub>1</sub>	0,73 ± 0,01	29,2**	0,17 ± 0,01	0,4	0,90
	Volgograd	♀	1,03 ± 0,009	0,46	0,07 ± 0,007	11,8**	1,10
		♂	0,63 ± 0,015	30,5**	0,08 ± 0,009	3,1	0,71
		F <sub>1</sub>	1,47 ± 0,015	1,7	0,15 ± 0,012	0,8	1,61

\* - diferența este statistic autentică cu un prag de semnificație 95%

\*\* - diferența este statistic autentică cu un prag de semnificație de 99%

La atacul lupoai genotipul heterozigot depășește genotipurile homozigote ca și în cazul martorului (Fig.1), dar are valori mai mici, cea mai mică atestându-se în varianta cu lupoia de origine Rostov (0,90 mg/g).



**Fig.1.** Conținutul de AN sumari în frunzele de floarea-soarelui la familia *Xenia* la acțiunea *O. cumana* Wallr.

Totodată, au fost depistate unele deosebiri în conținutul ARN-ului și ADN-ului (Tab.1). În acest context se relevă o stabilitate a conținutului ADN-ului la genotipurile homozigote. La nivelul populațiilor de lupoai studiate stabilitatea ADN cel mai bine s-a exprimat la plantele infectate cu lupoai autohtonă.

Menționăm că raportul ARN/ADN variază pe fon de infecție (Tab.2). La genotipul homozigot matern se constată o creștere a raportului ARN/ADN, comparativ cu martorul, demonstrând creșterea activității funcționale a aparatului ereditar prin intensificarea proceselor de transcripție, pe când la forma homozigotă paternă și cea heterozigotă acest raport scade, ceea ce poate fi condiționat de blocarea procesului transcripțional.

Tabelul 2

**Raportul acizilor nucleici (ARN/ADN) în frunzele de floarea-soarelui la acțiunea  
*O. cumana* Wallr. (familia *Xenia*, mg/g masă proaspătă)**

Genotip	Martor	<i>Orobancha cumana</i> Wallr.		
		Moldova	Rostov	Volgograd
♀	5,2	8,6	6,4	14,7
♂	9,9	6,7	5,2	7,9
F <sub>1</sub>	9,6	9,8	4,3	9,2

Generalizând datele obținute, constatăm că în cadrul familiei *Xenia* genotipul heterozigot în toate cele trei variante studiate după conținutul sumar de AN și, în special, de ARN prevalează genotipurile homozigote parentale, iar linia homozigotă maternă are valori apropiate de varianta martor.

În cadrul familiei *Valentino* conținutul sumar de AN variază în limitele 0,53-2,08 mg/g masă proaspătă. În condiții normale, ca și în cazul familiei *Xenia*, forma heterozigotă are valori cele mai mari – 2,08 mg/g comparativ cu formele homozigote parentale – 1,49 mg/g (Fig.2).

Datele prezentate în Tabelul 3 și Figura 2 confirmă micșorarea conținutului sumar de AN în frunzele plantelor infectate cu lupoaia din diferite regiuni geografice.

Tabelul 3

**Influența *O. cumana* Wallr. asupra conținutului de acizi nucleici în frunzele  
de floarea-soarelui (familia *Valentino*, mg/g masă proaspătă)**

Varianta	Genotip	ARN		ADN		AN	
		M ± m	t <sub>d</sub>	M ± m	t <sub>d</sub>		
Martor	♀	1,22 ± 0,015		0,27 ± 0,012		1,49	
	♂	1,01 ± 0,012		0,48 ± 0,012		1,49	
	F <sub>1</sub>	1,77 ± 0,015		0,31 ± 0,012		2,08	
<i>Orobancha cumana</i> Wallr.	Moldova	♀	0,63 ± 0,024	20,3**	0,053 ± 0,003	17,4**	0,69
		♂	0,69 ± 0,009	21,5**	0,11 ± 0,009	25,3**	0,80
		F <sub>1</sub>	1,02 ± 0,024	26,7**	0,13 ± 0,009	12,5**	1,16
	Rostov	♀	0,82 ± 0,012	20,4**	0,09 ± 0,012	10,6**	0,91
		♂	0,50 ± 0,015	27,1**	0,09 ± 0,012	22,7**	0,59
		F <sub>1</sub>	1,10 ± 0,027	21,8**	0,16 ± 0,009	10,1**	1,26
	Volgograd	♀	0,40 ± 0,012	42,8**	0,13 ± 0,006	10,8**	0,53
		♂	1,03 ± 0,035	0,36	0,11 ± 0,012	21,8**	1,14
		F <sub>1</sub>	1,67 ± 0,025	3,67	0,17 ± 0,012	8,6*	1,87

\* - diferența este statistic autentică cu un prag de semnificație 95%

\*\* - diferența este statistic autentică cu un prag de semnificație de 99%

Genotipul heterozigot infectat, după conținutul AN, de asemenea depășește genotipurile homozigote parentale. La această familie toate cele trei populații utilizate au avut în medie aceeași acțiune, în comparație cu familia *Xenia*, unde se observă o diferență clară în acțiunea fiecărei populații de lupoaie.

Conținutul ARN-lui și al ADN-lui în cazul familiei *Valentino* variază în cadrul genotipurilor, precum și sub acțiunea populațiilor de lupoaie. Raportul ARN/ADN la plantele infectate crește, comparativ cu martorul, la majoritatea genotipurilor, excepție făcând doar genotipul homozigot matern pe fonul lupoaie din Volgograd (Tab.4).

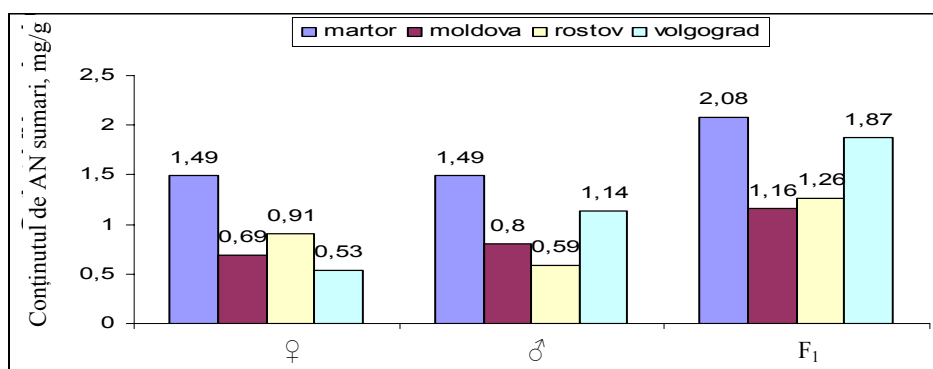


Fig.2. Conținutul de AN sumari în frunzele de floarea-soarelui la familia Valentino la acțiunea *O. cumana* Wallr.

Tabelul 4

**Raportul acizilor nucleici (ARN/ADN) în frunzele de floarea-soarelui la acțiunea *O. cumana* Wallr. ( familia Valentino, mg/g masă proaspătă)**

Genotip	Martor	<i>Orobanche cumana</i> Wallr		
		Moldova	Rostov	Volgograd
♀	4,5	10,5	9,11	3,1
♂	2,1	6,3	5,6	9,4
F <sub>1</sub>	5,7	7,9	6,87	9,8

Creșterea raportului respectiv indică la intensificarea transcripției anumitor gene implicate în răspunsul defensiv al plantei-gazde la atacul lupoaiei.

Studiul mai detaliat al influenței lupoaiei de origine autohtonă asupra metabolismului nucleic la plantele diferitelor genotipuri de floarea-soarelui a permis să constatăm că conținutul AN la nivelul părții aeriene a genotipurilor studiate este, în medie, mai mic decât în frunze și variază de la 0,43 până la 0,96 mg/g masă proaspătă. Genotipurile heterozigote ale familiilor studiate atât în condiții normale, cât și la atacul lupoaiei atestă valori mai mari la genotipurile parentale. Pe fon de infecție are loc diminuarea conținutului AN la majoritatea genotipurilor, cu excepția genotipului homozigot patern *Xenia* și genotipului homozigot matern *Valentino*, însă această creștere este nesemnificativă (Fig.3).

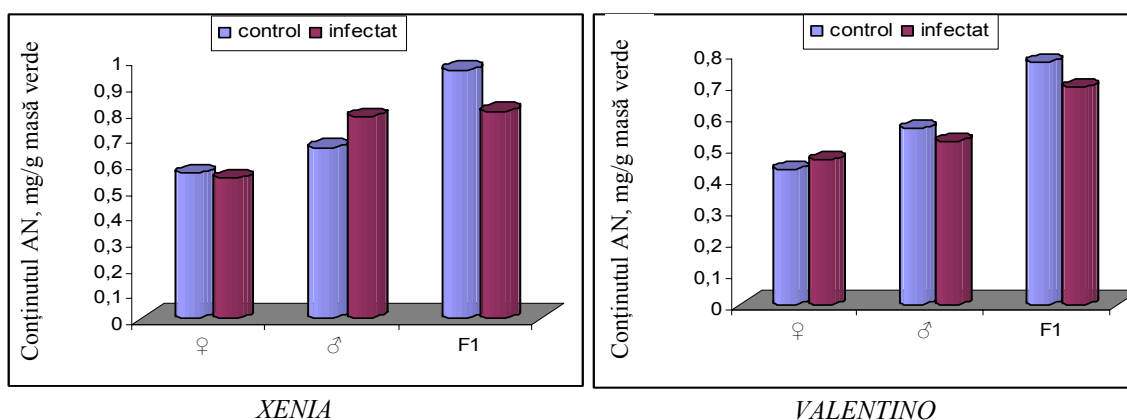


Fig. 3. Conținutul de AN sumari la nivelul părții aeriene de floarea-soarelui la familiile *Xenia* și *Valentino* la acțiunea *O. cumana* Wallr.

Rezultatele obținute relevă o diminuare atât a conținutului de ARN, cât și a conținutului de ADN (Tab.5).

Tabelul 5

**Conținutul de acizi nucleici la nivelul părții aeriene la familiile *Xenia* și *Valentino* sub influența *O.cumana* din Moldova (mg/g masă proaspătă)**

Familia	Genotip	Varianta	AN	ARN		ADN		ARN/ADN
				M ± m	td	M ± m	td	
<i>Valentino</i>	♀	Control	0,43	0,51 ± 0,02	1,18	0,051 ± 0,006	0,58	10,0
		Infectat	0,46	0,42 ± 0,08		0,047 ± 0,004		8,94
	♂	Control	0,56	0,63 ± 0,02	4,44**	0,060 ± 0,002	0,73	10,5
		Infectat	0,52	0,39 ± 0,05		0,054 ± 0,008		7,22
	F <sub>1</sub>	Control	0,77	0,69 ± 0,03	3,81*	0,076 ± 0,018	1,75	9,08
		Infectat	0,69	0,48 ± 0,04		0,043 ± 0,006		11,16
<i>Xenia</i>	♀	Control	0,56	0,61 ± 0,05	1,64	0,052 ± 0,002	0,68	11,73
		Infectat	0,54	0,50 ± 0,04		0,044 ± 0,012		11,36
	♂	Control	0,66	0,74 ± 0,03	0,80	0,058 ± 0,002	6,00**	12,76
		Infectat	0,78	0,51 ± 0,01		0,046 ± 0,001		11,09
	F <sub>1</sub>	Control	0,96	0,90 ± 0,01	10,59**	0,064 ± 0,002	1,25	14,06
		Infectat	0,8	0,72 ± 0,01		0,055 ± 0,007		13,09

\* - diferența este statistic autentică cu un prag de semnificație 95%

\*\* - diferența este statistic autentică cu un prag de semnificație de 99%

Raportul ARN/ADN la plantele infectate comparativ cu martorul scade la majoritatea genotipurilor, excepție făcând doar genotipul heterozigot al familiei *Valentino* (Tab.5).

Astfel, rezultatele obținute denotă o legitate similară a datelor obținute anterior în studiul modificării AN în frunzele diferitelor genotipuri de floarea-soarelui.

### Concluzii

1. S-a constatat o diminuare vădită față de varianta martor a conținutului de AN în frunzele genotipurilor studiate cultivate pe fon infectat cu lupoia din toate cele trei regiuni de răspândire.

2. S-a atestat că conținutul de AN sumari în frunzele genotipurilor heterozigote *Xenia* și *Valentino* cultivate pe fon infectat este mai sporit față de genotipurile homozigote parentale. Aceasta majorare fiind exprimată pe contul creșterii ARN-lui.

3. Studiul comparativ al acestor două familii atestă o variație a raportului ARN/ADN sub acțiunea parazitului, determinată de intensificarea sau blocarea proceselor de transcripție.

4. Cercetările efectuate au pus în evidență că populația de origine autohtonă manifestă o acțiune mai tolerantă comparativ cu populația din Rostov și Volgograd asupra conținutului sumar de AN, în special la reprezentanții familiei *Xenia*.

### Referințe:

- Capesius I., Bierweiler B., Bachmann K., Rücker W., Nagl W. An A + T-rich satellite DNA in a monocotyledonous plant // *Cymbidium. Biochim. Biophys. Acta.* - 1975. - Vol.395(1). - P.67-73.
- Cavallini A., Zolfino C., Natali L., Cionini G., Cionini P.G. Nuclear DNA changes within *Helianthus annuus* L.: origin and control mechanism // *Theor. Appl. Genet.* - 1989. - Vol.77. - P.12-16.
- Duca M., Savca E. Acțiunea giberelinelor exogene asupra conținutului de acizi nucleici la diferite genotipuri de floarea-soarelui // *Anale Științifice ale USM.* - 1998. - P.132-136.
- Duca M., Savca E., Birsan A. Modificarea conținutului de acizi nucleici la diferite genotipuri de *Helianthus annuus* L. pe fon de stres // *Simpozion Aniversar „90 ani de învățământ agrochimic universitar”* (Iași, România). CD, 2002.
- Duca M., Savca E. Diminuarea ontogenetică a acizilor nucleici la diferite genotipuri de floarea-soarelui // *Genetica și ameliorarea plantelor în Republica Moldova.* - 1998. - P.60-63.

6. Duca M., Savca E., Port A. Fiziologia vegetală. Tehnici speciale de laborator. - Chișinău: USM, 2001, p.173.
7. Jui X.C., Jones K., Dickinson H.G. DNA syntesis and cytoplasmic differentiation in vegetal cells of normal and cytoplasmically male sterile lines of *Petunia hybrida* // *Teor. Appl. Genet.* - 1987. - No74. - P.846-851.
8. Michaelson M.J., Price H.J., Johnston, J.S. and Ellison, J.R.. Variation of nuclear DNA content in *Helianthus annuus* (Asteraceae) // *Am. J. Bot.* - 1991. - Vol.78. - P.1238-1243.
9. Nagl W. Nuclear organization // *Ann. Rev. Plant Physiol.* - 1976. - Vol.27. - P.39-63.
10. Pirce J.H., Johnson J.S, 1996. Influence of light on DNA content of *Helianthus annuus* L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - Vol.93. - P.11264-11267.
11. Waters, E.R. and B. A. Schaal. Heat shock induces a loss of rDNA repeats in *Brassica nigra*. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1996. - Vol.93. - P.1449-1452.
12. Барановский А.Т., Вареникова Т.В. Изменение содержания нуклеиновых кислот в онтогенезе подсолнечника в связи с фосфорным питанием // *Физиология и биохимия культурных растений.* - 1973. - Т.5. - №3. - С.298-301.
13. Гилязтдинов Ш.Я., Каталетдинова М.А. и др. Синтез нуклеиновых кислот у гетерозистых гибридов и их родительских форм при действии температур и биохимические аспекты гетерозиса и гомеостаза у растений // *Уфа.* - 1976. - С.239.
14. Доспехов А. Методы полевого опыта. - Москва: Агропромиздат, 1985.
15. Удовенко Г.В., Кожушко Н.Н. Характер метаболизма белка и нуклеиновых кислот при адаптации к различным типам засух // *Физиология Растений.* - 1975. - Т.22. - Вып.6. - С.1239-1243.

**Notă:** *Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului instituțional 06.407.026F finanțat de CSSDT al AȘM.*

*Prezentat la 18.07.2007*